



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Domaine : S.N.V
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Production et Biotechnologie
Animales



THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT 3^{ème} CYCLE LMD

Par

M^{elle} MEGHOUFEL Naïma Leïla

THEME

Etude de la diversité taxinomique et technologique des bactéries lactiques isolées au cours de la production de Jben et approche moléculaire de leurs interactions au microcosme fromager.

Soutenue publiquement le : 17 Mars 2019

Membres du jury :

DALACHE Fatiha	Professeur	Université de Mostaganem	Présidente
BEKADA Ahmed	Professeur	C.U. Tissemsilet	Examineur
BELAHCENE Miloud	Professeur	C.U. Ain Temouchent	Examineur
NEMMICHE Saïd	Professeur	Université de Mostaganem	Examineur
HOMRANI Abdelkader	Professeur	Université de Mostaganem	Directeur de thèse

À mes parents

REMERCIEMENTS

Avant tout propos Je souhaiterai adresser mes remerciements :

En premier lieu à Mon directeur de thèse le **Pr. HOMRANI AEK.**, qui est aussi le directeur du laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale à l'université de Mostaganem, où ce travail a été effectué, je le remercie de m'avoir fait confiance en me proposant ce sujet de thèse, je le remercie également pour ces précieux conseils, ses indications, ses encouragements, son soutien et sa gentillesse.

Au **Pr. DALACHE Fatiha**, de l'université de Mostaganem, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Aux membres du jury : Le **Pr. BEKADA A.** du centre universitaire de Tissemsilet, le **Pr. BELAHCENE M.** du centre universitaire d'Ain Temouchent ainsi qu'au **Pr. NEMMICHE S.**, de l'université de Mostaganem d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à toute personne ayant contribué à ce travail :

En particulier à Mr. **BENMILOUD DJ.**, pour sa présence, son aide, ses conseils, ses contacts, son soutien permanent et sa chaleur humaine.

A M^{elle} **GRINIK Atika**, qui m'a accueilli dans sa laiterie et m'a aidé pendant mon séjour à Ain Sefra.

Au **Dr. DAHOU A. E.**, pour son aide inestimable et son soutien ainsi que sa disponibilité, je le remercie également pour nos longues réflexions qui m'ont permis d'avancer et de venir à bout de plusieurs obstacles, je tiens aussi à remercier sa chaleureuse famille de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Au **Pr. DESMASURES Nathalie**, à qui je dois le choix de mon sujet de thèse et pour ses conseils aux premiers stades de mon travail.

Je remercie aussi mes compagnons de laboratoires, M^{lle} **BENKRIZI Nawal**, avec laquelle j'ai passé la plupart de mes journées durant ces cinq dernières années, nous avons avancé ensemble, beaucoup appris l'une de l'autre et surmonté beaucoup d'obstacles, je la remercie pour son aide, son soutien permanent et son amitié indéfectible ; Mme **TAHLAITI Hafida** que je respecte et j'apprécie énormément et avec qui j'ai passé d'agréables moments et beaucoup d'heures

de travail acharné. J'ai découvert une personne chaleureuse, courageuse et qui a toujours soif d'apprendre, je la remercie beaucoup.

Je n'oublie pas aussi M^{lles} **HOMRANI Mounia**, **KETROUCI Leyla** et Mme **ZELMAT Nadia**, doctorantes au laboratoire de Sciences et Techniques de Production animale, avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.

Ma gratitude va aussi au **Dr. DAHLOUM L.**, du département de sciences agronomiques de l'université de Mostaganem pour son aide précieuse quant à la réalisation de l'étude statistique des résultats.

Je remercie aussi :

Les éleveurs de la wilaya de Naâma, pour m'avoir aidé gracieusement à obtenir mes échantillons de lait, notamment Mrs **KADDOUR M.** et **BELABED E.H.**

La direction du complexe Laiterie-Fromagerie **SIDI SAADA** (Relizane), ainsi que le responsable du laboratoire Mr. **MOKHTAR J.** de m'avoir accueilli et aidé dans mes manipulations.

Mr. **AIT OUKASSI S.A.** et le **Dr. HAMEDACHI A.E.** du laboratoire de gestion de la Santé et de Productions Animales de l'université des frères Mentouri à Constantine, pour m'avoir aidé à réaliser certains tests.

Ma gratitude va aussi à l'ensemble du personnel des laboratoires de la faculté SNV de l'université de Mostaganem, en particulier, Mrs. **SOUANE AEK**, **BENBOUZIANE DJ.** et **BENHARRAT N.** Je remercie aussi, Mr. **BOUKHATEM N.** vétérinaire au niveau de l'exploitation agricole de Hassi Mamèche pour son aide et sa disponibilité lors de notre second déplacement dans la wilaya de Naâma.

Je remercie grandement mes étudiants de master II (EEML et PTL) : M^{lle} **ZBALAH Romaisa**, Mr. **BENOTMANE K.**, Mme. **MEZARJA Karima** et M^{lle} **TAYEB Cherifa**, pour leur aide.

Je tiens à remercier Mr. **LAARABA R.** directeur technique du Centre de Recherche Scientifique et Techniques en Analyses Physico-Chimiques CRAPC de Bou-Ismaïl pour son accueil, son amabilité et son aide.

Un grand merci au **Dr. POGACIC T.** de l'université de Zagreb (Croatie) pour ses précieuses indications, ses conseils et ses encouragements.

Je remercie aussi Mr. **MEDJAHED M.** de l'université de Mostaganem pour son soutien

permanent et ses conseils avisés.

Un très grand merci à Mme **BETTACHE Zhor**, du laboratoire de police d'Alger, à qui je suis très reconnaissante pour ses efforts et son aide, qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude et mon respect.

Merci aussi au **Dr. BENKRIZI SMF** qui nous a aidé lors de nos déplacements vers certaines wilayas, et qui nous a toujours mené à bon port dans la joie et la bonne humeur.

Je n'oublie pas les habitants des localités visitées dans la wilaya de Naâma qui nous ont accueillis, aidés, nourris et logés lors de nos déplacements, surtout à Méchéria, Tiout et Ain Sefra, et plus particulièrement les familles **BENMILOUD, KADDOUR** et **GRINIK**.

J'exprime ma gratitude au **Dr. MEGHOUFEL Zahira F.**, ma sœur, pour son aide, ses corrections, et son soutien et sans qui je crois que je ne serai pas arrivé jusqu'à là. Ainsi qu'à mon défunt père et ma mère qui m'ont toujours soutenu quoi qu'il arrive.

Et j'adresse mes remerciements à toute personne que j'aurai oublié de mentionner et qui m'aurai aidé de près ou de loin à finir cette thèse, à tous **MERCI**.

ملخص

يهدف عملنا إلى التعريف بالجبن التقليدي لولاية النعامة و دراسة خصائصه. لهذا الغرض قمنا بتحضير عينات باستعمال حليب الماعز و توظيف زهرة مجففة لنبته *Cynara cardunculus* كمخثر للحليب. قمنا في البداية بدراسة الخصائص الفيزيوكيميائية لهذا الجبن، فتحصلنا على نتائج متغيرة فيما يخص إنتاج حمض اللاكتيك و نسبة الدهون و البروتينات، أما حموضة الجبن فهي منخفضة و ثابتة ($\text{pH} = 4.89 \pm 0.1$). قمنا بعد ذلك بتحليل حول الأحياء الدقيقة المتواجدة في هذا المنتج التقليدي، فتبين لنا أن % 54.17 منها هي بكتيريا لبنية، و يسود هذه المجموعة نوع *durans*. *Enterococcus*، كما لاحظنا تواجد نوعي *Lactococcus lactis* و *Leuconostoc mesenteroides* بنفس النسبة. قد تم تكوين نظام بكتيري مصغر بخلط 6 سلالات مشخصة بتقنية : MS /MALDI TOF لدراسة التفاعلات البكتيرية و ذلك بطريقة مباشرة بتقنية Fleming (1975) و غير مباشرة من خلال دراسة القدراتها التكنولوجية ثم مقارنتها مع قدرات السلالات منفردة.

لم يحدث تثبيط لنمو السلالات في النظام البكتيري و لكنها فقدت نشاط تحليل الدهون والقدرة على إنتاج الأستوين (acétoïne)، و حدث تراجع في نشاط التحليل البروتيني. التفاعلات تمثلت بشكل رئيسي في commensalisme للسلالات التي لديها نشاط منخفض فيما يخص تحليل البروتينات و أيضا في تحفيز معتدل لإنتاج حمض اللاكتيك.

من خلال محاولات صنع الجبن الطازج باستعمال سلالات النظام المصغر كخميرة لبنية، تبين أن لها قدرة تمييز للحليب منخفضة وغير ملائمة لصنع هذا النوع من الجبن، و أن مظهر الأجبان المحضرة غير مرض، لكن الذوق اللاكتيني / الحليبي الناعم كان موضع تقدير. للسلالات المدروسة قدرات تكنولوجية و حسية التي يجب الإهتمام بها و استغلالها في صنع أنواع أخرى من الأجبان أو من مشتقات الحليب.

كلمات مفتاحية :

حليب، جبن، بكتيريا لبنية، نظام مصغر، تفاعلات بكتيرية.

ABSTRACT

In our study, which aims to improve our knowledge about traditional Jben from Naâma, different samples of this cheese were hand crafted, with goat's raw milk and *Cynara cardunculus* dried flower as rennet, then were analysed. Jben's pH is low and constant (an average of $4,89 \pm 0,1$), but the other physicochemical studied parameters (titratable acidity, fat and protein contents) are inconstants. The Jben microflora's composition in acid lactic bacteria was studied: 54,17% of the isolated microorganisms are lactic acid bacteria, and this group is dominated by *Enterococcus durans*. Two other species are present: *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*. A microcosm was created by associating in mixed culture, 6 strains characterized by MALDI TOF / MS. Bacterial interactions were directly studied by Fleming method (1975) and indirectly by analysing the technological aptitudes of this community and comparing them to those of the strains in pure cultures. There is no growth inhibition between the strains within the community, but there is a total loss of the production of acetoin and lipolytic activity, and a decrease in proteolytic activity. Positive interactions are mainly observed by the commensalism of low proteolytic strains during proteolysis and a moderate stimulation in lactate production. The fresh cheese manufacturing assays, by using the community's strains as mixed starters, allowed us to observe a low acidification potential, which is not generally suitable for this kind of cheese making, and an unsatisfactory aspect of the product. However, the soft lactic tast of the cheeses was appreciated. The tested strains have a real organoleptic potential that must be exploited, valued and used for other types of cheese or dairy products.

Keywords:

Milk; Jben; Lactic acid bacteria; microcosm; bacterial interactions.

RESUME

Notre étude vise à améliorer nos connaissances sur le Jben traditionnel de la région de Naâma. Pour cela des échantillons de ce fromage ont été préparés de manière artisanale, à base de lait cru de chèvre et avec la fleur séchée de *Cynara cardunculus* (chardon de Marie) comme présure, puis analysés. Le pH de ce Jben est bas et stable (en moyenne : $4,89 \pm 0,1$), mais les autres paramètres physicochimiques étudiés (acidité titrable, taux de matière grasse et taux protéique) sont variables. La composition de sa flore en bactéries lactiques a été étudiée : 54,17% des microorganismes isolés sont des bactéries lactiques, ce groupe est dominé par l'espèce *Enterococcus durans*, avec la présence des deux espèces *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides*. Un microcosme a été créé en associant en culture mixte 6 souches caractérisées par MALDI TOF /MS. Les interactions bactériennes au sein de la communauté ont été étudiées directement par la méthode de Fleming (1975) et indirectement en analysant les aptitudes technologiques de cette communauté puis en les comparant avec celles des souches en cultures pures. Il n'y a pas eu d'inhibition de croissance entre les souches au sein de la communauté, il y a eu par contre une inhibition totale de la production d'acétoïne et de la lipolyse, et un ralentissement de l'activité protéolytique. Les interactions positives sont principalement observées par le commensalisme des souches faiblement protéolytiques lors de la protéolyse et d'une stimulation modérée de la production de l'acide lactique. Les essais de fabrication de fromages frais, en utilisant les souches de la communauté comme ferments mixtes, ont permis de constater un faible potentiel d'acidification, qui ne convient généralement pas à ce type de fromage, et un aspect peu satisfaisant des fromages. Néanmoins le goût lactique doux était apprécié. Les souches utilisées possèdent un réel potentiel organoleptique qui doit être exploité et valorisé pour d'autres fromages ou produits laitiers.

Mots clés :

Le lait, le Jben, bactéries lactiques, microcosme, interactions bactériennes.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABC : ATP-binding Cassette (type de transport)

AOC : Appellation d'origine contrôlée

CRAPC : Centre de Recherche des Analyses Physico-chimiques.

DtpT : Di-tri peptide Transporter

E: Enterococcus

F : ferment

G+C : Guanine + Cytosine

HCCA : acide α -ciano-hydroxycinnamique

L: Lactococcus

Lb: Lactobacillus

Ln: Leuconostoc

MALDI TOF/ MS: Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight / Mass Spectrometry.

MG : Matière grasse

O : Oenococcus

Pep : Peptidase.

PrtP : Protéase Paroi

rpm : Rotation par minute

S : Streptococcus

TP : Taux de protéine

ufc : Unité formant colonie.

W : Weissella.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques biométriques et zootechniques des principales races caprines autochtones en Algérie.	17
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du lait de chèvre.	19
Tableau 3 : Souches lactiques présentes chez la race Arabia.	21
Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques du fromage Bouhezza à dix semaines d'âge.	23
Tableau 5 : Quelques paramètres physico-chimiques du Klila.	24
Tableau 6 : Quelques paramètres physicochimiques du Michouna	25
Tableau 7 : Quelques paramètres physicochimiques du Jben	29
Tableau 8 : Systèmes de transports des acides aminés chez bactéries lactiques.	41
Tableau 9 : Biodiversité spécifique des bactéries lactiques dans des laits crus de vache, chèvre et brebis.	47
Tableau 10 : Inventaire de la diversité des genres de bactéries lactiques dans des laits crus de vache et de chèvre.	48
Tableau 11 : Aliments fermentés et les bactéries lactiques qui leurs sont associées.	49
Tableau 12 : Effets des interactions entre <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> et <i>S. thermophilus</i> en culture mixte.	57
Tableau 13 : Résultats de l'étude physico-chimiques des laits de chèvres prélevés dans la wilaya de Naâma.	73
Tableau 14 : Résultats de l'étude physico-chimiques des Jben de chèvres de la wilaya de Naâma.	74
Tableau 15 : Identification des souches isolées par MALDI-TOF/MS.	79
Tableau 16 : Résultats des interactions entre les 12 souches testées.	81
Tableau 17 : Liste des ferments et leurs compositions en souches lactiques.	82
Tableau 18 : Résultats du test de production d'acétoïne des isolats et des souches identifiées.	84
Tableau 19 : Résultat du test de production d'acétoïne de la communauté, des ferments et des souches qui les composent.	85
Tableau 20 : Résultats du test de lipolyse pour les ferments, la communauté et les souches qui les composent.	87
Tableau 21 : Résultats de diamètres des zones de lyse de tous les isolats et les souches testés sur milieu PCA lait à 2%.	89
Tableau 22 : Moyennes des moindres carrées des diamètres de lyse chez les souches étudiées isolément et en communauté après 24 heures.	90
Tableau 23 : Diamètres des zones de lyse des ferments après 24 h d'incubation	92
Tableau 24 : Variations des mesures de pH et d'acidité titrable des souches au cours du temps.	94

Tableau 25 : Variations des mesures du pH de la communauté et des 6 souches qui la composent au cours du temps.	96
Tableau 26 : Evolution de l'acidité Dornic des souches lactiques testées et de la communauté en fonction du temps d'incubation.	98
Tableau 27 : Variations des mesures de pH et d'acidité titrable des ferments au cours du temps.	99
Tableau 28 : Paramètres physicochimique du lait utilisé pour la préparation du fromage.	101
Tableau 29 : Mesures des pH des 5 caillés avant égouttages et des produits finis, et volumes de lactosérum pour chaque fromage.	101
Tableau 30 : Classement des fromages d'après les résultats du test de dégustation	107
Annexe 4 : Fiche d'analyse sensorielle comparative du fromage	Erreur ! Signet non défini.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Fromage Bouhazza avec son assaisonnement en poudre de piment rouge.	23
Figure 02 : Fromage Klila sous sa forme sèche, en différentes tailles et couleurs.	24
Figure 03 : Fromage Michouna après l'égouttage	26
Figure 04 : Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose.	37
Figure 05 : Métabolisme du citrate conduisant à la formation du diacétyle.	39
Figure 06 : Représentation schématique du système protéolytique de <i>Lactococcus lactis</i> .	40
Figure 07 : Réactions de synthèse des esters par les estérases des bactéries lactiques.	45
Figure 08 : Représentation des sites d'action de différentes classes d'autolysines sur la structure du peptidoglycane de <i>Lactococcus lactis</i> .	46
Figure 09 : Voies de production des composés aromatiques par le métabolisme carboné.	51
Figure 10 : Localisation des points de collecte des laits crus à travers la wilaya de Naâma.	59
Figure 11 : Représentation du principe de l'identification par MALDI TOF.	67
Figure 12 : Composition de chaque poste de dégustation.	72
Figure 13 : Aspect d'un Jben de Naâma préparé par méthode artisanale.	75
Figures 14 : Aspect des colonies à l'isolement sur gélose M17 et MRS.	75
Figure 15 : Aspect macroscopique de deux isolats purifié sur Milieu solide PCA-Lait.	76
Figure 16 : Observation de la coloration de Gram d'un isolat au microscope.	76
Figure 17 : Résultat négatif du test de recherche de la Nitrate réductase pour certains isolats.	76
Figure 18 : Distribution des espèces de bactéries lactiques identifiées par MALDI TOF MS.	77
Figure 19 : Quelques résultats des interactions des 12 souches identifiées : <i>Lactococcus lactis</i> et <i>Leuconostoc mesenteroïdes</i> .	80
Figure 20 : Quelques résultats des interactions communauté - souche.	82
Figure 21 : Observation de quelques résultats du test de production d'acétoïne sur lait 0% pour les isolats et souches identifiées.	85
Figure 22 : Résultat de l'activité protéolytique pour les isolats sur milieu aux triglycérides.	86
Figure 23 : Observation de l'activité lipolytique.	86
Figure 24 : Observations des diamètres de zones de lyse des isolats sur milieu PCA-lait à 2%.	88
Figure 25 : Représentation des diamètres de lyse des souches lactiques après 24 heures d'incubation à 2 % de poudre de lait rajouté.	88
Figure 26 : Observations des diamètres de zones de lyse des souches et de la communauté sur milieu PCA-lait à 2%.	91
Figure 27 : Variation de l'activité protéolytique des souches lactiques et de la communauté après 24 heures d'incubation et en fonction du pourcentage de poudre de lait rajoutée.	91

Figure 28: Observations des diamètres de zones de lyse des ferments sur milieu PCA-lait à 5% et 10%.	92
Figure 29 : Variation des diamètres de lyses des ferments en fonction du pourcentage de poudre de lait ajoutée, après 24 heures d'incubation.	93
Figure 30 : Évolution du pH des 6 souches testées au cours du temps.	95
Figure 31 : Évolution de l'acidité titrable des 6 souches testées au cours du temps.	95
Figure 32 : Évolution du pH des souches et de la communauté au cours du temps.	97
Figure 33 : Évolution de l'acidité titrable des 6 souches et de la communauté au cours du temps.	97
Figure 34 : Évolution du pH des ferments au cours du temps.	100
Figure 36 : Aspects de deux fromages à l'égouttage.	102
Figure 37 : Aspects de deux fromages finis.	102
Figure 38 : Aspect du fromage F5 après lissage.	102
Figure 39 : Résultats de l'évaluation sensorielle du témoin «petit suisse».	104
Figure 40 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F1 nature.	104
Figure 41 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F2 nature.	104
Figure 42 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F3 nature.	105
Figure 43 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F4 nature.	105
Figure 44 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F5 nature.	105
Figure 45 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F3 amélioré.	106
Figure 46 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F5 amélioré.	106
Figure 47 : Représentations des impressions générales des dégustateurs à propos des fromages.	109
Annexe1 : Etapes de préparation d'un Jben traditionnel de Naâma.	132
Annexe 2 : Analyse des paramètres physicochimique des laits de chèvre par lactoscan.	133
Annexe 3: Profils des spectres de MALDI-TOF/MS et les identifications des bactéries, obtenus de souches différentes.	134

Table Des Matières

ملخص	1
Abstract	2
Résumé	3
Liste des Abréviations	4
Liste des Tableaux	5
Liste des Figures	7
<hr/>	
INTRODUCTION	14
<hr/>	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	16
<hr/>	
I. Lait de chèvre	16
I.1. La chèvre	16
a. Arabia	16
b. Mekatia	16
c. Kabyle	17
d. M'zabit	17
I.2. Lait de chèvre	17
1.2.1. Généralités	17
1.2.2. Composition physico-chimique du lait de chèvre	18
1.2.3. Bactéries lactiques dans le lait de chèvre	20
1.2.4. Effet de la saison sur les niveaux de microflores des laits	21
II. Fromages traditionnels Algériens	22
II.1. Bouhezza	22
II.2. Klila	23
II.3. Michouna	25
II.4. Kémaria	26
II.5. Laghaunane	26
II.6. Takammart	26
II.7. Madghissa	27
II.8. Aoules	27
II.9. Ibkhbakhane	27
II.10. Imadhghass	27
II.11. Adhghass	27
II.12. Aghoughlou	27

II.13. Jben	28
III. Bactéries Lactiques	30
III.1. Généralités	30
III.2. Origine et habitat	30
III.3. Genres de bactéries lactiques	31
III.3.1. <i>Lactobacillus</i>	31
III.3.2. <i>Leuconostoc</i>	31
III.3.3. <i>Lactococcus</i>	32
III.3.4. <i>Enterococcus</i>	33
III.3.5. <i>Streptococcus</i>	33
III.3.6. <i>Pediococcus</i>	33
III.3.7. <i>Bifidobacterium</i>	34
III.3.8. <i>Oenococcus</i>	34
III.3.9. <i>Weissella</i>	35
III.4. Physiologie et voies métaboliques	35
III.4.1. Métabolisme des sucres	35
III.4.1.1. Transport du sucre à travers la membrane cellulaire	36
III.4.1.2. Catabolisme intracellulaire du sucre	36
III.4.1.3. Formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux	38
III.4.2. Métabolisme du citrate	38
III.4.3. Métabolisme des protéines	39
III.4.3.1. Protéases de paroi	40
III.4.3.1. Transport des acides aminés et des peptides	41
a. Transport des acides aminés	41
b. Transport des oligopeptides	42
c. Peptidases	42
III.4.4. Métabolisme des lipides	44
III.5. Autolyse des bactéries lactiques :	45
II.6. Distribution des bactéries lactiques dans les différents laits	46
III.7. Intérêt et aptitudes technologiques des bactéries lactiques	48
III.7.1. Pouvoir acidifiant	50
III.7.2. Métabolisme carboné	50
III.7.3. Activité protéolytique	51
III.7.4. Activité lipolytique	51
III.7.5. Activité autolytique	52

III.7.6. Pouvoir inhibiteur	52
III.7.7. Activité probiotique	52
III.8. Ferments lactiques	53
III.8.1. Définition	53
III.8.2. Types de ferments lactiques	53
III.8.2.1. Ferments thermophiles	54
III.8.2.2. Ferments mésophiles	54
IV. Interactions entre bactéries lactiques	55
IV.1. Définition	55
IV.2. Types d'interactions	55
IV.2.1. Interactions positives	55
a. Commensalisme	55
b. Mutualisme	56
IV.2.2. Interactions négatives	56
a. Antagonisme	56
b. Amensalisme	56
c. Compétition	56
IV.2.3. Neutralisme	56
IV.3. Phénomènes d'interaction des bactéries lactiques	57
IV.3.1. Dans le yaourt	57
IV.3.2. Dans les fromages	57
<hr/>	
MATERIEL & METHODES	59
<hr/>	
1. Zone de prélèvement	59
2. Prélèvements	60
3. Etude physico-chimique des laits	60
a. Acidité titrable	60
b. Taux protéique et matière grasse, pH	60
4. Préparation des Jbens	60
5. Etude physico-chimique des Jbens	61
a. pH	61
b. Acidité titrable	61
c. Taux protéique	62
d. Taux de matière grasse	63
6. Milieux de cultures	63

7. Conservation des souches	64
7.1. Conservation de courte durée	64
7.2. Conservation de longue durée	64
8. Isollements des bactéries lactiques	64
8.1. Homogénéisation des échantillons de Jben	64
8.2. Isolement sur milieux sélectifs	64
8.3. Purification et conservation des isolats	64
9. Identification des isolats de Jben de chèvre	65
9.1. Pré-identification des isolats	65
9.2. Identification des isolats	66
9.2.1. Préparation des isolats	66
9.2.2. Identification au MALDI TOF	66
9.2.3. Lecture des résultats	67
10. Etudes des interactions	68
10.1. Interactions entre les souches isolées	68
10.2. Interactions au sein de la communauté	68
11. Choix de la communauté	68
12. Choix des ferments	69
13. Aptitudes technologiques	69
13.1. Production d'acétoïne :	69
13.2. Lipolyse	69
13.3. Protéolyse	70
13.4. Pouvoir acidifiant	70
14. Fabrication de fromage frais	70
14.1. Essais de fabrication	70
a. Préparation du levain	70
b. Préparation du lait	71
c. Préparation du fromage	71
14.2. Evaluation sensorielle des fromages préparés	71
15. Analyse statistique	72
<hr/>	
RESULTATS & DISCUSSION	73
<hr/>	
1. Etude physico-chimique des laits	73
2. Etude des Jbens préparés artisanalement	73
3. Isolement des bactéries lactiques	75

4. Identifications des isolats	75
4.1. Pré-identification des isolats	75
4.2. Identification au MALDI TOF /MS	77
5. Etude des interactions	80
5.1. Formation de la communauté	80
5.2. Étude des inhibitions dans la communauté	81
6. Choix des ferments	82
7. Aptitudes technologiques	82
7.1. Production d'acétoïne	83
7.2. Activité lipolytique	85
7.3. Activité protéolytique	87
7.3.1. Activité protéolytique des isolats	87
7.3.2. Activité protéolytique de la communauté et de ses souches	89
7.3.3. Activité protéolytique des ferments	91
7.4. Le pouvoir acidifiant	93
7.4.1. Pouvoir acidifiant de certaines souches	93
7.4.2. Pouvoir acidifiant de la communauté et de ses souches	96
7.4.3. Pouvoir acidifiant des ferments	98
8. Essais de fabrication de fromages frais	101
- Evaluation sensorielle des fromages	103
<hr/>	
CONCLUSION	110
<hr/>	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	113
<hr/>	
ANNEXES	132
<hr/>	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les microorganismes constituent la majorité de la biomasse vivante sur Terre ; qu'ils soient bénéfiques ou nuisibles, ils privilégient la vie en communauté, car plus de 90% des microorganismes vivent ainsi, et parmi elles les bactéries lactiques ont une longue histoire dans les interactions avec les autres microorganismes qui vont du neutralisme à l'antagonisme (Charlier et *al.*, 2009). Certaines souches de bactéries lactiques sont même capables d'inhiber des biofilms bactériens nuisibles à la santé de l'être humain (He et *al.*, 2011). Lorsqu'elles se retrouvent entre elles, en communautés dans le lait, et grâce à leurs aptitudes acidifiantes, protéolytiques, lipolytiques, aromatisantes, texturantes et antimicrobiennes ainsi qu'aux interactions entre les différentes souches présentes, elles deviennent des agents microbiens jouant un rôle essentiel dans la transformation du lait en une gamme variée de produits laitiers.

Les interactions dans un microbiote ne sont pas toujours bénéfiques et positives, se caractérisant par la stimulation d'un ou de plusieurs microorganismes. Elles sont aussi parfois conflictuelles, et peuvent causer des effets négatifs, comme l'inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Hadeif, 2012). Etudier ces phénomènes permet d'améliorer notre compréhension de certains mécanismes naturels qui se produisent quotidiennement, et notamment dans l'industrie agroalimentaire, afin de produire des aliments mieux adaptés à nos besoins tout en conservant un bon rendement économique. L'un de ces aliments est le fromage.

Actuellement le fromage est fabriqué par des technologies modernes basées sur l'utilisation des ferments, dans des conditions bien définies pour lui offrir plus de sécurité microbiologique, et de qualité organoleptique. Mais dans le passé il était fabriqué artisanalement par des techniques propres à chaque région, ce qui permettait d'avoir des variétés de fromages traditionnels aux goûts typiques et originaux.

En Algérie, les fromages traditionnels sont peu nombreux, et non entièrement recensés. Il y a environ dix types de fromages connus dans différentes régions du pays (Aissaoui Zitoun et *al.*, 2012). Les fromages Bouhezza, Michouna et Madeghissa sont fabriqués dans la région des Chaouia (Nord-est), Takammèrite et Aoules dans le sud, Igounane en Kabylie, quant au Klila et au Jben, ils sont connus dans plus d'une région (Hallal, 2001). Ces fromages restent encore non labellisés, leur fabrication est destinée à l'autoconsommation au niveau familial. Certains d'entre eux sont plus ou moins commercialisés de manière artisanale.

Il est important de nos jours d'étudier les produits du terroir de notre pays qui font partie de notre identité, car ils ont tendance à disparaître sous leurs formes traditionnelles. Les techniques de fabrication ancestrales sont en train d'être abandonnées au profit des méthodes semi-industrielles modernes, plus faciles et rapides qui aboutissent à un résultat uniforme mais non typique et non authentique.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à une variété bien précise de fromage artisanal : c'est le Jben traditionnel de la wilaya de Naâma, préparé exclusivement à partir de lait de chèvre cru ; notre but étant de l'étudier et le caractériser afin de préserver son authenticité et sa singularité. Il convient aussi de connaître sa microflore lactique et l'explorer, afin de la valoriser, car les produits du terroir constituent des niches biologiques truffés de microorganismes autochtones utiles, encore non altérés par l'industrie agroalimentaire.

Pour cela des échantillons préparés traditionnellement ont été étudiés. Certains paramètres physicochimiques de ce Jben ont été mesurés, et sa composition en bactéries lactiques explorée.

Une partie de cette thèse s'est intéressé à la compréhension des phénomènes d'interaction entre les bactéries lactiques issue de la microflore du Jben de chèvre traditionnel de la wilaya de Naâma ; une approche moléculaire à été suivie pour les caractériser, puis on s'est intéressé aux phénomènes d'inhibition et de stimulations pouvant intervenir dans un microcosme modèle, issu des souches lactiques isolées du Jben. Des méthodes directes et indirectes ont été utilisées afin de déterminer ces interactions.

Afin de valoriser ce travail de recherche, les souches étudiées, ont été employé à fabriquer du fromage frais pour tester leur potentiel en tant que levain lactique dans le domaine de la fromagerie.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Lait de chèvre

I.1. La chèvre

Considérée dans le passé comme la « vache du pauvre » (Clark et Mora Garcia, 2017), la chèvre ou « *Capra hircus* » est un animal rustique, domestiqué depuis des millénaires et connu pour sa capacité à supporter la rudesse des zones difficiles, où les ovins et les bovins ne peuvent survivre (Gaddour et *al.*, 2007)

Le cheptel caprin mondial était estimé à 1 005 603 003 têtes en 2013 avec l'Asie à la première place des éleveurs de chèvres ; l'augmentation de cette population était de 33,79 % entre l'an 2000 à 2013 (Skapetas et Bampidis, 2016).

En Algérie, le cheptel caprin était estimé à 2,5 millions de têtes en 2003 est concentré plus dans les zones steppiques, les régions montagneuses et les oasis. L'élevage de chèvre est généralement extensif dans notre pays, comprenant des troupeaux plus importants sur les parcours sylvopastoraux du nord du pays que dans le Sahara et dans les oasis. Dans les hautes plaines et les piémonts de montagnes les chèvres sont associées aux troupeaux ovins, en moyenne au nombre de 5 chèvres par troupeau de moutons pour les guider (Felliachi et *al.*, 2003).

La chèvre est appréciée pour sa viande, son cuir et son lait, la progression de la production mondiale de lait de chèvre a atteint 39,2 % pour la période 2000-2012, et l'Algérie fait partie des 5 premiers pays africains producteurs de lait de chèvre (Skapetas et Bampidis, 2016).

Le cheptel caprin algérien est composé d'une population locale ainsi que de races importées sans oublier les produits de croisements (Tableau 1). Les races caprines algériennes traditionnelles sont :

a. Arabia

Originnaire de la région de Laghouat, cette race dite « Arabe » est la plus répandue, surtout sur les hauts plateaux et les régions septentrionales du Sahara ; on retrouve deux types de cette race de chèvre domestique : le type sédentaire et la transhumante (Kerba, 1995).

b. Mekatia

Répandue dans le nord et les hauts plateaux, cette race est très appréciée pour sa production de viande, de lait et de peaux (Kerba, 1995).

c. Kabyle

De petite taille et massive, cette race est typique des massifs montagneux kabyles, des Aurès et du Dahra, cette race autochtone est appréciée pour sa viande (Felliachi et *al.*, 2003).

d. M'zabit

Appelée aussi «Touggourt », cette race principalement laitière est originaire de la région de Ghardaïa présentant des intérêts économiques et zootechniques appréciables (Felliachi et *al.*, 2003).

Tableau 1 : Caractéristiques biométriques et zootechniques des principales races caprines autochtones en Algérie (Kerba, 1995).

Races	Origine	Hauteur au garrot moyen mâle (cm)	Hauteur au garrot moyen femelle (cm)	Couleur de robe	Caractéristiques	Durée de lactation (en jours)	Production laitière par lactation (Kg)
Arabia	Région de Laghouat	70	67	Noire	Front droit Poils longs Oreilles tombantes	150	220
Mekatia	Les hauts plateaux	72	63	Variée	Grande taille Poils courts Pendeloques et barbe courantes	120	80
Kabyle	Montagnes de Kabylie, des Aurès et Dahra	68	55	Unicolore/multicolore Noire et brune	Petite taille Poils longs Oreilles longues	150	105
M'zabit	Région de Ghardaïa et Metliti	68	65	Unicolore chamoisée dominante	Type Nubien Oreilles longues et tombantes	180	460

I.2. Lait de chèvre

1.2.1. Généralités

Le lait de chèvre est un liquide opaque, homogène qui a une couleur plus blanche que le lait de vache à cause de l'absence de β -carotènes (Chilliard, 1997)

On retrouve une saveur particulière dans le lait caprin avec un goût différent et plus relevé que celui du lait de vache, cela est dû d'une part à la présence de certains acides gras libres (l'acide caprique, caprylique et caproïque) présents dans le lait de chèvre et qui donnent ce goût typique aux fromages de chèvre (Jaubert, 1997).

D'autre part, ce goût, qui reste léger pour le lait frais, est dû aussi à la race caprine qui le produit et qui peut le rendre plus ou moins prononcé dans le lait (Daoudi, 2006).

À cause de certains aliments pour bétail, le goût devient fort et lorsque les conditions d'hygiène ne sont pas respectées lors de la traite, ou que le traitement du lait et son stockage sont mal exécutés ce goût est accentué (Boyaval et *al.*, 1999).

Le lait de chèvre est aussi très apprécié car il présente une meilleure digestibilité que le lait de vache et est moins allergénique, il possède aussi une bonne valeur nutritionnelle. C'est aussi une très bonne source de protéines, de calcium, de riboflavine, de vitamine A et de thiamine.

En contrepartie, ce lait est pauvre en certains éléments essentiels tel la vitamine B12 et l'acide folique qui devront être pris en complément s'il est consommé par des enfants ; l'expression «anémie du lait de chèvre» (goat's milk anemia) est apparue dès 1953 avec l'implication de la consommation exclusive du lait de chèvre dans le ralentissement de la croissance infantile (Clark et Mora Garcia, 2017).

L'élevage de chèvres laitières fait partie de l'économie nationale de beaucoup de pays, surtout ceux de la région méditerranéenne et du moyen orient, il est particulièrement bien organisé en Espagne, en France, en Grèce et en Italie (Park et Haenlein, 2006). Mais il joue aussi un rôle important dans l'économie et la subsistance des populations des régions défavorisées, surtout dans les pays en développement (Avalos de Cruz, 2007).

Le lait de chèvre est utilisé principalement dans la fabrication de fromages traditionnels, mais aussi pour la préparation de laits fermentés, de yaourts et de Kéfir ; il existe plusieurs fromages AOC faits à partir de ce lait comme le Chabichou, le Charolais, le Chevrotin ou le Crottin Chavignol (Foucaud-Scheunemann, 2005).

Les qualités nutritionnelles, organoleptiques et économiques du lait de chèvre découlent directement de ses caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques (Montel, 2003).

I.2.2. Composition physico-chimique du lait de chèvre

La composition du lait de chèvre (Tableau 2), comme celle du lait de vache ou de brebis, varie selon l'alimentation et la gestion de ce régime, de la race, des saisons, des conditions environnementales, de la localisation géographique, du stade de lactation et de l'état sanitaire de l'animal (Park et *al.*, 2007).

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du lait de chèvre : mélange de laits collectés durant une année à partir de plusieurs races incluant la Nubienne, la Sannen la Mancha, l'Alpine et la Toggenburg réparties sur 12 fermes (adapté de Guo *et al.*, 2001 cité dans Clark et Mora Garcia, 2017).

Composants	N	Moyenne ± Ecart type	Intervalle
Matière grasse (%)	50	3,61± 0,47	3,00 - 4,40
Lactose (%)	50	4,47 ±0,15	4,13 - 4,73
Protéines (%)	50	3,47 ± 0,21	3,19 - 3,86
Caséines (%)	0	2,57 ± 0,15	2,34 - 2,86
Azote non protéique (%)	49	5,04 ± 0,34	4,40 - 5,65
Extrait sec (%)	50	12,38 ± 0,71	1,17 - 13,44
Cendres (%)	50	0,82 ± 0,04	0,79 - 0,89
Densité	50	1,0235 ± 0,0007	1,0224 - 1,0262
Ca (%)	50	0,15 ± 0,01	0,12 - 0,17
P (mg/Kg)	50	0,13 ± 0,02	0,10 - 0,16
Na (mg/Kg)	49	672 ± 125	380 - 977
Mg (mg/Kg)	49	160± 24	100 - 217
Zn (mg/Kg)	49	4,59 ± 1,93	1,30 - 9,50

- Le lait de chèvre présente un polymorphisme génétique de ses protéines qui interfère avec ses caractéristiques physico-chimiques (Moualek, 2011), notamment la variabilité du pH qui peut aller de 6,45 à 6,90 (Remeuf *et al.*, 1989). Quant à l'acidité de ce lait elle est généralement comprise entre 0,14 à 0,17 % (Veinoglou *et al.*, 1982) avec parfois des valeurs supérieures (Park *et al.*, 2007).

- La quantité d'eau dans le lait de chèvre peut aller de 87 à 90 % de son poids total, bien qu'en moyenne la matière sèche est d'environ 136g/Kg de lait. L'eau forme une solution vraie avec les glucides et les minéraux (substances polaires) ainsi qu'une solution colloïdale avec les protéines hydrophobes, quand à la matière grasse (hydrophobe) elle se trouve sous forme d'émulsion (Brugère, 2003).

- Les lipides dans le lait caprin sont essentiellement représentés par les triglycérides, et contiennent très peu d'acides gras polyinsaturés, essentiellement à 10 atomes de carbones. Les globules gras

dans le lait de chèvre sont en pourcentage plus élevé que dans le lait de vache (Chilliard et Lamberet, 1984) et de plus petite taille aussi, ce qui rend l'écémage de ce lait difficile (Amiot et al., 2002).

- Les minéraux présents dans le lait de chèvre sont en faible concentration (8 %). On retrouve tous les minéraux essentiels à la nutrition humaine et à la stabilité des micelles de caséines (Gaucheron, 2005). Le calcium, le phosphore, le magnésium et le potassium y sont en concentration plus élevée que dans le lait de vache (Guéguen, 1996)

Il existe 5 groupes protéiniques dans le lait de chèvre : α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, β -CN, β -LG et α -LA ; le manque de protéines du groupe α_{S1} -CN le rend plus digestible et rapidement coagulable (Mora-Gutierrez et al., 1991 cité dans Clark et Mora Garcia, 2017). Selon Martin et Addeo (1996) et Clark et Sherbon (2000), le lait de chèvre peut contenir une faible, moyenne ou forte concentration du groupe α_{S1} -CN dû à une régulation génétique, qui sera liée à la race caprine ainsi qu'à l'état physiologique des chèvres, et influencerait la composition du lait et ses propriétés de coagulation, plus spécialement le temps de coagulation, le taux de formation du caillé et sa fermeté. Cabo et al (2010) ont démontré que le polymorphisme génétique du locus α_{S1} -CN (au moins 16 allèles) affectait aussi la structure et la composition des globules gras du lait de chèvre.

1.2.3. Bactéries lactiques dans le lait de chèvre

Les bactéries lactiques mésophiles constituent l'une des flores sous-dominantes du lait de chèvre. La distribution des espèces lactiques dans le lait de chèvre dépend beaucoup de la tenue d'élevage dans les fermes, elle dépend aussi de la zone géographique, de la méthode de traite et du matériel utilisé ainsi que de la disposition de l'aire de traite par rapport à l'étable, certaines de ces caractéristiques des élevages de chèvres ont conduit à la dominance des genres *Lactococcus* et *Enterococcus* et surtout *Lactococcus lactis* dans le lait caprin (Tormo et al., 2011).

La dominance du genre *Enterococcus* a aussi été signalée de manière générale dans les travaux de Cheriguene et al (2007) à 41,82 % de la flore lactique du lait de chèvre, suivie du genre *Lactobacillus* à 29,40 % (espèces *Lb. rhamnosus* et *Lb. delbrückii*), le genre *Lactococcus* à 19,60 % avec l'espèce *lactis* comme dominante par rapport aux autres espèces présentes dans la flore lactique, puis le genre *Leuconostoc* à 4,57 %, *Streptococcus thermophilus* à 3,26 % et enfin le genre *Pediococcus* 1,30 %.

Cette composition diffère de celle proposée par Badis et al (2004b) où le genre *Lactobacillus* était le plus présent (50,63 %), cette différence est due au fait que contrairement aux autres travaux, cette recherche s'est surtout concentrée sur la composition de la communauté de bactéries lactiques

en tenant compte des races caprine comme variable, il est d'ailleurs à signaler que la proportion du genre *Lactococcus* était très proche de celle du genre *Leuconostoc* dans le lait de chèvre de la race Arabia (Tableau 3).

Tableau 3 : Souches lactiques présentes chez la race Arabia (Badis et al., 2005).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Weissella</i>	<i>Pediococcus</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>S.thermophilus</i>	<i>L. lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	<i>Ln. lactis</i>	<i>W.para-</i> <i>mesenteroïdes</i>	<i>P.damnosus</i>
<i>Lb. plantarum</i>		<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Ln. pseudo-</i> <i>mesenteroïdes</i>		<i>P.acidilatici</i>
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>		<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Ln.mesenteroïdes</i> subsp. <i>dextranicum</i>		<i>P.parvulus</i>
<i>Lb. delbruckii</i> subsp. <i>lactis</i>		<i>L. plantarum</i>	<i>Ln. amylibiosum</i>		
<i>Lb. brevis</i>					
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>					
<i>Lb. acidophilus</i>					
<i>Lb. animalis</i>					
<i>Lb. amylophilus</i>					

Lb : *Lactobacillus* ; subsp : sous espèce ; biovar : biovariant génétique ; *Ln* : *Leuconostoc*
L : *Lactococcus* ; *W* : *Weissella* ; *P* : *Pediococcus*.

I.2.4. Effet de la saison sur les niveaux de microflores des laits

Les fortes variabilités de la flore lactique dans les laits crus (de manière générale) au sein d'une même exploitation sont expliquées en partie par l'effet des saisons (températures, photopériode...) sur les stades de lactation. Leur effet direct reste difficile à distinguer des pratiques d'élevages liées elles aussi dans une certaine mesure aux saisons.

Ainsi, Kalogridou-Vassiliadou et al (1991) ont observé des augmentations de la population des Streptocoques dans le lait de chèvre durant les mois de mai, juin et juillet. Vyletloya et al (2000) ont également montré que la population des bactéries mésophiles atteignait les niveaux les plus hauts en mars, puis en milieu d'été (juillet et août), alors qu'elle baissait vers ses plus faibles niveaux en juin, puis en fin d'automne.

II. Fromages traditionnels Algériens

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de sa préservation sous sa forme fraîche qui a conduit au développement des technologies de production de produits laitiers traditionnels. Cela a abouti à la conservation du lait plus longtemps, sous une forme solide et à température ambiante (Dharam et Narender, 2007).

L'Algérie possède bel et bien un héritage traditionnel de fabrication de produits laitiers, et spécifiquement de fromages artisanaux à partir de lait de chèvre via une fermentation spontanée (Badis et *al.*, 2004a) même si l'activité est limitée à la sphère domestique. Les laits fermentés et fromages fabriqués traditionnellement ont été développés sur une longue période, le plus souvent par les femmes à la maison (Medouni et *al.*, 2004) et servent à l'autoconsommation, le surplus pouvant être vendu localement (Bencharif, 2001).

II.1. Bouhezza

Ce fromage affiné à pâte épicée est préparé à l'origine à partir de lait de chèvre et parfois de brebis (zaïdi et *al.*, 2000) dans une outre (chekoua) avec du Lben, du sel et du lait cru. De nos jours le lait de vache est le plus utilisé car il est plus disponible (Aissaoui Zitoun, 2014).

On le retrouve dans la région des Aurès, principalement dans les villes d'Oum El Bouaghi, Batna et Khenchla et jusqu'à Tebessa vers la frontière tunisienne où il porte parfois le nom « Mlah Dh'ouab » ou « Bou Mellal » (Aissaoui et Zidoune, 2006).

La particularité de ce fromage est que toutes les étapes de fabrication se font en même temps et continuellement pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois (3 à 4 mois) avec un égouttage spontané à travers les pores naturels de la chekoua (Aissaoui Zitoun, 2014). Ses caractères physicochimiques sont présentés dans le tableau 4.

Le lait cru est d'abord transformé en Lben puis salé (25 g/L de NaCl), il est introduit ainsi dans la chekwa qui une fois sellée sera suspendu pour permettre un égouttage spontané et continu, une quantité de Lben salé sera ajoutée tous les 2 jours jusqu'au 42^{ème} jour, puis du lait cru (frais entier) jusqu'au 70^{ème} jour (Aissaoui Zitoun et *al.*, 2012).

Le Bouhazza est ensuite retiré de la chekwa et assaisonné avec une poudre de piment rouge piquant; le fromage sous forme de pâte (Figure 01) sera consommé en tartine ou une fois déshydraté sera utilisé pour préparer des sauces pour des plats traditionnels, et peut rester plusieurs semaines voire plusieurs mois avant d'être consommé, il a un goût acidulé fort caractéristique de ce fromage (zaïdi et *al.*, 2000).

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques du fromage Bouhezza à dix semaines d'âge (Aissaoui et Zidoune, 2006)

Paramètres	pH	Acidité	EST	MG/EST	MAT/EST	NST	NaCl
Bouhezza	4	2,08±0,14	35,86±0,8	30,2	0,08	0,38	2,36±0,06

Les valeurs EST, MG, MAT, NST et NaCl sont exprimés en g pour 100 g de produit frais ; L'acidité : exprimée en pourcentage d'acide lactiques (%) ; MG : Matière grasse; MAT : matière azotée total ; NST : Azote soluble à pH 4,6 ; EST: extrait sec total ;



Figure 01 : Fromage Bouhazza avec son assaisonnement en poudre de piment rouge (Aissaoui Zitoun et al., 2012).

La microflore lactique du Bouhazza est essentiellement composée des genres *Lactobacillus* et *Streptococcus* (10^7 ufc/g), qui sont responsables de la diminution du pH et de l'augmentation de l'acidité, et jouent un rôle majeur dans la dégradation de la matière azotée (Aissaoui Zitoun et al., 2012).

II.2. Klila

Le klila est un fromage fabriqué dans plusieurs régions d'Algérie, surtout rurales. Il ressemble fortement au Jameed du Moyen-Orient et au Chhana de l'Inde (Boubekri et Ohta, 1996). On le retrouve dans les hauts plateaux, aussi bien à l'ouest (Naâma) qu'à l'est du pays (Guelma, Souk-Ahras), sa composition physico-chimique (Tableau 5) peut varier d'une région à l'autre et d'un lait à un autre, il est préparé à partir de lait cru de chèvre, brebis, vache ou de chamelle.

La préparation de ce fromage commence par la coagulation spontanée d'un lait cru à température ambiante (de 24 à 72h selon la saison), le rayeb obtenu est ensuite écrémé dans une chekwa.

L'écémage est réalisé comme suit : la chekwa est remplie à moitié de rayeb puis tendue par gonflement, bien nouée et secouée vigoureusement durant une demi-heure : la formation du beurre est indiquée par le changement de son qui se produit à l'intérieur de la chekwa.

Pour aider l'agglomération des particules du beurre, l'eau froide est ajouté : le beurre obtenu est retiré manuellement en une seule motte appelé zebda bedouia ou beldia ou semnah (Zad, 1998).

Le petit lait/Lben obtenu est ensuite chauffé modérément pendant 10 à 15min (55 à 72 °C) pour exsuder le lactosérum ; après un égouttage spontané, on obtient du Klila sous sa forme fraîche.

Pour le transformer en fromage sec, il suffit juste de mettre le Klila dans un tissu très fin et de pressé à l'aide d'une pierre pour l'égoutter encore plus, de le découper en morceaux et de le laisser sécher au soleil jusqu'à ce qu'il durcisse pendant environ 3 jours (Mennane et *al.*, 2007).

Tableau 5 : Quelques paramètres physico-chimiques du Klila (LeKsir and Chemmam, 2015)

Paramètres	pH	L'acidité (%)	Matière sèche (%)	L'humidité (%)
Klila	4,59 ± 0,18	36,53 ± 10,84	91,5 ± 0,66	8,5 ± 0,66

Le Klila est consommable sous ses deux forme, sec il est incorporé dans la préparation de plats comme le Couscous ou le Berkoukes, et sous sa forme fraîche il est ajouté à la pâte à pain pour faire le M'laoui ou le Kesra (LeKsir et Chemmam, 2015).



Figure 02: Fromage Klila sous sa forme sèche, en différentes tailles et couleurs (LeKsir et Chemmam, 2015).

Ce fromage est conservé sous sa forme déshydratée, il peut être conservé plusieurs années à température ambiante, dans des jarres en poterie ou en verre ou comme à Oum El Boughi dans des sacs en peau de chèvre ou de brebis appelé « Mezwed ».

On le retrouve en granules irréguliers de forme et de tailles différentes (allant de quelques millimètres à plusieurs centimètres : Figure 02), et sa couleur varie selon la région, la durée de conservation et la méthode de préparation (LeKsir et Chemmam, 2015).

II.3. Michouna

Le Michouna est un fromage largement préparé et consommé dans la région de Tébessa, plus dans des zones rurales que urbaines, il est consommé de façon régulière, jusqu'à plusieurs fois par semaine (localités d'El Kouif, Bir D'hab), mais il reste inconnu du grand public.

Ce fromage frais est préparé traditionnellement à partir de lait de chèvre pour une auto-consommation familiale, on le retrouve surtout au niveau des fermes où la matière première est la plus disponible. Le lait de vache est de plus en plus utilisé pour faire le Michouna de nos jours, car il est plus abondant et facilement acquis par les mères de familles.

Pour sa préparation : une quantité de lait cru est utilisée pour faire du Lben traditionnellement (Fermentation suivie d'un barattage dans une chekwa). On ajoute à ce Lben son double en volume d'un lait ayant subi un traitement thermique (jusqu'à ébullition) puis refroidi, après avoir bien mélangé les deux, le tout est salé (légèrement) puis chauffé pour provoquer une coagulation et une séparation du lactosérum.

Le caillé sera d'abord mis à égoutter spontanément dans une passoire pendant quelques minutes puis sera laissé dans un linge (chèche ou mousseline) suspendue durant toute une nuit et enfin pressé pour finir l'opération d'égouttage. Le produit fini (Figure 03) peut être conservé jusqu'à 6 jours (Derouiche et Zidoune, 2015).

Tableau 6 : Quelques paramètres physicochimiques du Michouna (Derouiche et Zidoune, 2015)

Paramètres	pH	L'acidité (%)	Matière sèche (%)	L'humidité (%)
Michouna	5,85 ± 0,15	0,65 ± 0,24	41,0 ± 1,0	59,1

Ce fromage est consommé soit avec du pain et de la galette, soit avec du couscous et des pâtes alimentaires. On peut lui ajouter plusieurs épices pour améliorer le goût. Le Michouna épicé est appelé Chnina (Derouiche et Zidoune, 2015).



Figure 03 : Fromage Michouna après l'égouttage (Derouiche et Zidoune, 2015).

II.4. Kémaria

kémaria /kemariya ou takmmèrit (en Berbère) est un fromage traditionnel très prisé par les habitants à Ghardaïa dans la région du M'zab (Bensaha et *al.*, 2012) et consommé surtout avec du thé.

Il est à traditionnellement fait à partir de lait de chèvre de brebis et de nos jours à partir de lait de vache pour sa fabrication industrielle, parfois le lait de chamelle est mélangé aux autres laits pour sa préparation.

Le lait cru est salé en masse (2g/l de lait) puis chauffé modérément (à 37°C), la présure animale (caillette de chevreau) est ajoutée à raison de 1g/l de lait. Après 30min de coagulation, le fromage est découpé puis mis à égoutter dans un linge propre (un chèche), l'égouttage spontané peut aller de 30min à 24h selon le type de lait utilisé, après cette étape, le fromage est moulé en galette. La présure végétale (Extrait d'artichaut ou chardon de Marie) peut être utilisée à la place de la caillette si cette dernière fait défaut (Nouani et *al.*, 2009).

II.5. Laghaunane

Fromage fabriquée en Kabylie à partir du colostrum mis dans un ustensile en terre cuite enduit d'huile d'olive dans lequel est versée une petite quantité d'eau salée, puis la préparation est chauffée jusqu'à coagulation. Le caillé formé est découpé et consommé tel quel (Hallal, 2001).

II.6. Takammart

Takammart qui veut dire « fromage » en Tamahaq (langue des Touaregs), est consommé dans la région du Hoggar, et préparé à base de lait cru de chèvre ou de chamelle, dans lequel est introduit un morceau de caillette de chevreau.

Après coagulation (quelques heures) le caillé formé est déposé, en petits tas, à la louche sur une natte, puis pétri pour évacuer le lactosérum, puis redéposé sur une autre natte cette fois fabriquée avec des tiges de fenouil sauvage qui lui donnera son arôme. La natte est ensuite exposée au soleil durant deux jours puis placée à l'ombre jusqu'à durcissement de la pâte. Ce fromage peut être laissé à affiner pendant des mois (Gast et *al.*, 1969).

II.7. Madghissa

Ce fromage est connu dans la région Chaouïa, à l'est du pays. Il est préparé avec du klila frais, on y ajoute du sel et du lait frais puis l'ensemble est porté à ébullition sur feu doux jusqu'à séparation du caillé et du lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. On obtient une pâte jaune salée et élastique (Aissaoui Zitoun, 2003).

II.8. Aoules

C'est un fromage à pâte dure, préparé à partir d'un lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, l'égouttage est fait dans de la paille, ensuite, il est reformé sous forme de boules qui sont aplaties et séchées au soleil. Il peut être consommé en mélange avec les dattes (Gast et *al.*, 1969).

II.9. Ibkhbakhane

Originaire des Aurès, l'Ibkhbakhane est fait à partir d'une mixture de Frik d'orge (Marmaz) et de Lben, laissée à fermenter à des températures inférieures à 20 °C par immersion dans un puits pendant une période allant de 2 à 5 jours (Hallal, 2001).

II.10. Imadhghass

D'après Hallal (2001), il est produit exclusivement dans la région des Aurès. L'Imadhghass est préparé en mélangeant du Klila frais à du lait frais. Le produit est consommé comme un dessert.

II.11. Adhghass

Celui-ci aussi originaire des Aurès, l'Adhghass est fabriqué à partir d'un mélange de colostrum et d'œufs qui est ensuite cuit (Hallal, 2001).

II.12. Aghoughlou

L'Aghoughlou fabriqué en Kabylie est obtenu à partir de lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier (Hallal, 2001).

II.13. Jben

Le Jben est un fromage traditionnel frais populaire en Algérie, consommé surtout en milieu rural, et est retrouvé dans des régions qui vont des montagnes de l'est (Souk Ahras, Guelma, Tébessa, Khenchela et Batna) aux steppes de l'ouest algérien (El Bayadh, Naâma), des zones semi-arides à vocation pastorale (Mechai et *al.*, 2014).

Ce fromage est le produit d'une transformation des laits d'un cheptel diversifié et d'une fermentation par une flore lactique indigène. Préparé à l'origine à partir de lait cru de chèvre ou de brebis, et de plus en plus avec du lait de vache, suivant une méthode de fabrication générale commune à plusieurs zones géographiques, mais qui comporte des différences spécifiques à chaque région (Nouani et *al.*, 2009).

Le processus de préparation nécessite trois grandes étapes essentielles : la maturation du lait cru, sa coagulation et l'égouttage du caillé: Le lait cru est laissé à température ambiante, pour s'acidifier spontanément pendant un temps variable (généralement 24h). Cela va favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait (Nouani et *al.*, 2009). Le lait acide sera chauffé modérément avant d'y ajouter une présure artisanale, soit un morceau de caillette d'un jeune ruminant (veau, chevreau, agneau) soit de la fleur séchée de *Cynara cardunculus* (chardon de Marie), cette dernière méthode est spécifique au Jben Algérien (Mouzali et *al.*, 2004).

La coagulation peut aussi être obtenue par une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou par l'artichaut (*Cynara scolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (Nouani et *al.*, 2009) ou même avec le gésier de poulet.

Après la coagulation qui peut durer plusieurs heures, l'égouttage du caillé se fait dans un linge propre (généralement de la mousseline), le drainage du lactosérum peut durer de quelques minutes à 3 jours, dans certaines régions du sel est ajouté à la pâte (Mechai et *al.*, 2014). Le Jben se consomme frais, avec du thé, mélangé à un plat, additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques.

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies (stables) à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation, reposant essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron et *al.*, 2002). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et *al.*, 2004).

Généralement, Le pH et l'acidité titrable sont les paramètres les moins variables du « Jben » (Tableau 7). Cependant, les matières solides totales du Jben sont les facteurs les plus variables car ces derniers dépendent de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime, 2004).

Tableau 7 : Quelques paramètres physicochimiques du Jben (*Benyagoub et al., 2016
**Guetouache et al., 2015).

Type de Jben	pH	Acidité D°	Matière sèche (%)	Humidité (%)
Jben de chèvre*	5,51 ± 0,21	33 ± 0,76	56,12±21,28	43,88±21,28
Jben de vache**	4,42	79,4	55,8	-

La composition microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de l'âge du fromage (Ercolini et al., 2009). Il n'y a pas eu d'étude sur la composition en bactéries lactiques du Jben de chèvre en Algérie, seul le Jben fait à partir de lait de vache a été bien étudié.

D'après Guetouache et al (2015), le Jben de lait de vache est essentiellement composé des 3 genres suivants : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* distribués comme ceci : *Lb. plantarum* (13,72 %), *Lb. fermentum* (9,75 %), *Lb. acidophilus* (11,91 %), *Lb. helveticus* (7,94 %) *Lb. paracasei* subsp *tolerans* (6,14 %), *Lb. casei* subsp *casei* (8,66 %), *L. lactis* subsp *cremoris* (7,22%), *L. lactis* biovar. *dicetylactis* (11,19 %), *L. lactis* subsp *lactis* (10,11 %), *L. raffinolactis* (8,30%), *Leuconostoc lactis* (3,61 %) et *Ln. mesenteroides* subsp *cremoris* (1,44 %) (Guetouache et al., 2015).

III. Bactéries Lactiques

III.1. Généralités

Les bactéries lactiques sont des microorganismes regroupés dans un groupe hétérogène qui rassemble un certain nombre de genres se caractérisant, essentiellement par la production d'acide lactique, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents, comme l'acide acétique, l'éthanol, le CO₂ (Leveau et Bouix, 1993).

Elles sont Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négative, oxydase négative et généralement nitrate réductase négative, elles sont aussi des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et *al.*, 1994 ; Hogg, 2008).

Les bactéries lactiques jouent un rôle significatif dans l'acidification du lait et l'affinage des fromages grâce à leurs aptitudes technologiques. Elles sont aussi impliquées dans la fermentation spontanée de beaucoup de produits alimentaires (Stiles et Holzappel, 1997). Cela leur a permis la reconnaissance de leur statut GRAS "Generally Recognized As Safe" excepté pour le genre *Enterococcus* (Klaenhammer et *al.*, 2005), ainsi que leur utilisation en tant que ferments ou probiotiques.

De forme cocci, coccobacilles ou bacilles, ayant une composition de bases de moins de 50 % en G+C dans leur ADN. Les bactéries lactiques comportent plusieurs genres comme : *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*, les genres *Bifidobacterium* et *Gardnerella* sont aussi inclus dans ce groupe (Corrieu et Luquet, 2008).

III.2. Origine et habitat

Elles sont associées aux habitats riches en nutriments, comme les plantes, ainsi que divers produits alimentaires (lait, viande, boissons et végétaux), mais d'autres sont aussi présents dans la flore normale de la bouche, de l'intestin et du vagin des mammifères (Salminen et *al.*, 2004 ; Carina Audisio et Maria, 2010).

III.3. Genres de bactéries lactiques

III.3.1. *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* constitue le groupe le plus large de la famille *Lactobacteriaceae*, il contient plus de 100 espèces se développant dans des conditions microaérophiles à strictement anaérobies (Coulibaly, 2010).

Décrit dès 1901 par Beijerinck ; les lactobacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets ou coccobacilles, souvent organisées en chaînes, préférant relativement des milieux acides (pH 5,5 à 6,5). Le grand nombre d'espèces appartenant à ce genre révèle des variations phénotypiques et génotypiques considérables trouvées dans ce groupe (Corrieu et Luquet, 2008).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) on peut distinguer:

Groupe I : il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'espèces pour la plupart thermophiles (croissance à 45 °C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces de ce groupe sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

Groupe II : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Parmi les espèces de ce groupe majoritairement mésophiles, on compte *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

Groupe III : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*.

Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (Laurent et al., 1998).

III.3.2. *Leuconostoc*

Le genre *Leuconostoc* est physiologiquement assez similaire aux lactobacilles hétérofermentaire, producteurs de CO₂ ; la classification et l'identification des espèces du genre *Leuconostoc* restent difficiles, une approche génotypique et phénotypique est nécessaire.

Ce genre comprend de nos jours 14 espèces, le plus ancien étant *Leuconostoc mesenteroides* décrit par Tsenkovskii en 1878 (Corrieu et Luquet, 2008).

Le groupe des *Leuconostoc*, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Elles sont disposées en paire ou en courte chaîne, et caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire, convertissant le glucose en D-lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie transcétolase. Elles sont incapables de dégrader l'arginine ce qui les distingue des lactobacilles hétérofermentaires (Gonzalez et al., 2008).

On classe habituellement ces bactéries parmi les anaérobies facultatives, mais certains les considèrent comme des anaérobies aérotolérantes. Elles sont exigeantes et présentent souvent une auxotrophie pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (Dellaglio et al., 1994). Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ses sous espèces *mesenteroides*, *cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis*.

Le genre *Leuconostoc* est fréquemment retrouvé dans de nombreux habitats naturels, tels les végétaux frais comme les choux, les concombres et les olives, ainsi que dans le lait, les levains et les laits fermentés (Sàde, 2001), et sont fréquemment impliqués dans la fabrication d'aliments composés de végétaux fermentés (Tormos, 2010).

III.3.3. *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* comprend 5 espèces mésophiles homofermentaire : *Lactococcus garvieae*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* et *L. lactis* lui-même divisé en 3 sous espèces : *cremoris*, *hordniae* et *lactis* (Corrieu et Luquet, 2008).

Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3 % de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

Les lactocoques sont fréquemment retrouvés dans les laits crus, plus dans celui des chèvres et des brebis que celui des vaches, cette différence peut aller de 10 à 100 ufc/ml (Serna et Rodriguez, 2006). Ces bactéries sont retrouvées sous forme cocci associées par paires ou en chaînettes de longueurs variables.

Elles sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6,5 % de NaCl ou à pH 9,6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35 °C, respectivement pour les souches de *L. cremoris* et *L. lactis*. Les *Lactococcus* sont capables de croître à 10 °C mais pas à une température supérieure à 40 °C (Dellaglio et al., 1994).

III.3.4. *Enterococcus*

Ce genre regroupe des bactéries commensales de l'intestin. L'espèce fréquemment rencontrée dans l'alimentation est essentiellement *Enterococcus faecalis*. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobile, homofermentaire et généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Ho et *al.*, 2008).

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans les eaux usées, dans l'eau douce, dans l'eau de mer, dans le sol et sur les végétaux. La plupart des espèces de ce genre participent à la composition des microflores intestinales (Deveriese et *al.*, 2002).

On les retrouve aussi dans le lait et les produit laitiers, les produit carnés et de la pêche. Dans les produits laitiers ils atteignent au maximum des niveaux de 10^7 ufc/g (Foulquié-Moreno et *al.*, 2006).

Le genre *Enterococcus* comprend des bactéries ayant une température de croissance optimale de 35°C. Elles sont capables de résister à des conditions hostiles et à un chauffage de 60°C durant 30 minutes (Foulquié-Moreno et *al.*, 2006).

III.3.5. *Streptococcus*

Les Streptocoques se présentent sous forme cocci (coque arrondie), formant des chaînes ou des paires (Laurent et *al.*, 1998) et exprimant une résistance à haute température, et la capacité de croitre à 52 °C (Pilet, 2005).

Ce groupe Comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*).

L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (Laurent et *al.*, 1998).

III.3.6. *Pediococcus*

Ce sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrades. Ces bactéries sont mésophiles, le plus souvent incapables d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées (Pilet et *al.*, 2005).

Les pédiocoques sont retrouvés dans la nourriture (comme les produits laitiers, la viande fermentée et la bière) et dans l'intestin de l'homme et d'animaux (Bakhouché, 2006).

III.3.7. *Bifidobacterium*

Les bactéries de ce genre se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V ou Y, mais aussi coccoïdes. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur pourcentage en bases nucléiques G + C élevé, et la présence d'une enzyme : la fructose-6-phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques.

Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37 °C et 41 °C. Elles se développent à pH supérieur à 5 et sont isolées de l'homme et des animaux (Laurent et al., 1998).

III.3.8. *Oenococcus*

Le genre *Oenococcus* est composé de deux espèces, *Oenococcus oeni* et *Oenococcus kitaharae*. *Oenococcus oeni* est l'espèce type du genre et appartenait autrefois au genre *Leuconostoc* sous le nom de *Leuconostoc oenos*, mais a ensuite été recalifié par Dicks et al (1995).

Oenococcus oeni est bien connue pour être un habitant du vin et joue un rôle clé dans la fermentation malo-lactique (FML). Son isolement dans des habitats autres que le vin n'a pas été signalé (Maitre, 2012).

La seconde espèce, *Oenococcus kitaharae*, n'a été décrite que récemment. Elle a été isolée du compost de résidus de Shochu au Japon et décrite par Endo et Okada (2006). Cette espèce a également été isolée des eaux usées d'une usine d'amidon au même pays. Son habitat préféré est incertain, mais le compost, les boues et les eaux usées sont des niches possibles (Maitre, 2012).

Les bactéries du genre *Oenococcus* adoptent une forme ellipsoïdale à cocci, mesurant 0,2-0,4 × 0,5-0,8 µm, généralement en paires ou en chaînettes, et leur morphologie peut être influencée par les conditions de croissance et l'âge de la culture.

Les *Oenococcus* ssp. sont des bactéries acidophiles. À croissance lente, elles produisent très peu de biomasse, ce qui nécessite des milieux de culture riches et complexes en acides aminés et en vitamines. Elles sont mésophiles et leur température de croissance est entre 20 à 30 °C, elles sont aussi anaérobies facultatives (Dimopoulou, 2013).

Pour ce qui est du métabolisme glucidique, *Oenococcus* spp. sont obligatoirement hétérofermentaires et métabolisent le glucose en utilisant la voie pentose-phosphokétolase, ce qui donne 1 mole d'acide lactique, d'éthanol et de CO₂ par mole de glucose consommé. La séparation des deux espèces par le caractère fermentatif du maltose et l'incapacité d'*Oenococcus kitaharae* à fermenter les pentoses sont confirmés par la génomique comparative des deux espèces (Dimopoulou, 2013).

III.3.9. *Weissella*

Les bactéries du genre *Weissella* sont sous forme de courtes tiges avec des extrémités effilées, arrondies ou sous forme ovoïde. Elles se présentent par paires ou en chaînes courtes et certaines espèces ont tendance au pléomorphisme cellulaire. Ce sont des bactéries hétérofermentaires, les hydrates de carbone sont fermentés par les voies de l'hexose-monophosphate et de la phosphokétolase (Corrieu et Luquet, 2008).

Ces bactéries requièrent généralement des acides aminés, des peptides, des hydrates de carbone fermentescibles, des acides gras, des acides nucléiques et des vitamines pour la croissance. La biotine, l'acide nicotinique, la thiamine et l'acide pantothénique ou ses dérivés sont nécessaires. L'arginine n'est pas hydrolysée par toutes les espèces et la croissance se produit à 15 °C (sauf pour certaines espèces dont la température de croissance peut aller jusqu'à 45 °C).

L'habitat du genre *Weissella* est variable et implique le plus souvent des aliments fermentés; mais les sources d'isolement suggèrent une origine environnementale (sol, végétation...).

Les espèces *W. viridescens*, *W. halotolerans* et *W. hellenica* ont été associés à la viande et aux produits à base de viande. Des membres des espèces *W. cibaria*, *W. confusa* et *W. koreensis* ont été détectés dans des aliments fermentés d'origine végétale (Corrieu et Luquet, 2008).

III.4. Physiologie et voies métaboliques

Les différentes voies métaboliques des bactéries lactiques comportent trois étapes :

- L'entrée du substrat dans la cellule à travers la membrane bactérienne ;
- Le catabolisme du substrat par des enzymes spécifiques ;
- La production de métabolites excrétés ou dirigés vers d'autres voies métaboliques.

III.4.1. Métabolisme des sucres

Selon Salminen et al (1998), les bactéries lactiques tirent leur énergie de la fermentation d'un nombre réduit de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les

bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose).

- La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes :

III.4.1.1. Transport du sucre à travers la membrane cellulaire

Il est préférentiellement effectué par des systèmes appelé Phospho Transferase Systems (PTS) qui permettent le transport des sucres par des enzymes de paroi, sans consommation d'ATP, en même temps qu'une phosphorylation du glucide qui se fait au dépend du Phospho-énolpyruvate.

Il se fait aussi grâce à des perméases qui sont énergie-dépendantes et font pénétrer des glucides sous forme libre.

Les systèmes PTS sont sucre-spécifique, leurs activités ont une affinité à un ou plusieurs sucres, ce qui veut dire que pour une seule bactérie on retrouvera plusieurs types de PTS tel que PTS Glucose /Mannose chez *Lactococcus lactis*. Bien qu'ayant des domaines communs, les PTS diffèrent d'un genre bactérien à un autre voire d'une espèce bactérienne à une autre.

Lorsqu'il y a présence simultanée de plusieurs sucres dans le milieu, un mécanisme de régulation de l'entrée des sucres va s'activer afin de hiérarchiser leurs consommations en affectant les enzymes de transports. Cela permet d'un côté une adaptation rapide au milieu, de l'autre une adaptation lente du potentiel enzymatique de la bactérie. Ce mécanisme de hiérarchisation s'effectue aussi par répression catabolique sur des enzymes clés ainsi que par des mécanismes de régulation de l'expression génétique (Raynaud, 2006).

III.4.1.2. Catabolisme intracellulaire du sucre

La capacité à fermenter un sucre par une souche lactique peut être liée soit au chromosome bactérien, soit à un plasmide comme c'est le cas de la fermentiscibilité du lactose par *Lactococcus lactis*. Le catabolisme des hexoses (Figure 04) chez les bactéries lactiques se fait par:

a- La voie de la glycolyse ou voie d'Embden Meyerhof Parnas (EMP) pour les bactéries qui sont homofermentaires (Atlan et *al.*, 2000). Cette voie conduit dans les conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson et Gentry-Week, 1994). Ce groupe comprend les genres *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* et quelques *Lactobacillus* (Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010).

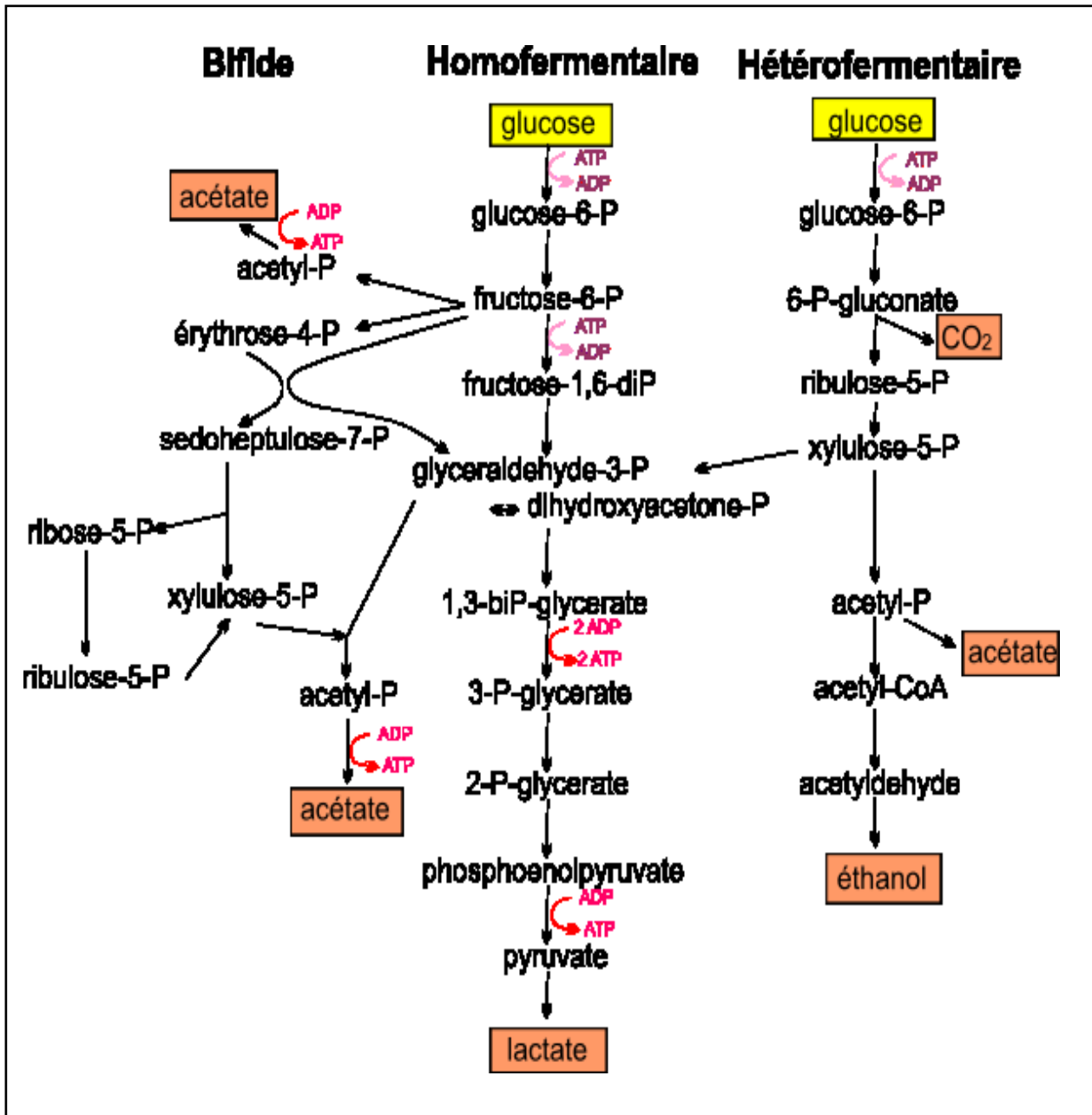


Figure 04 : Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose (Dridet et Prevost, 2009).

b- La voie des pentoses-phosphates lorsque les bactéries sont hétérofermentaires strictes (Atlan et *al.*, 2000) ; lorsqu'il y a production en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ (Thompson et Gentry-Week, 1994). Ce groupe comprend les genres *Weissella*, *Leuconostoc* et quelques *Lactobacillus* (Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010).

Cependant, quelques espèces sont considérées comme hétérofermentaires facultatives ; elles sont homofermentaires pour la fermentation des hexoses, mais dans certaines conditions suivent la fermentation hétérolactique (Axelsson, 2004).

c- La voie bifide ou FPC (Fructose 6-phospho-cétolase) empruntée par les bactéries du genre *Bifidobacterium* permet d'avoir 1,5 molécule d'acétate et 2,5 molécules d'ATP à partir d'une molécule d'hexose consommée (Drider et Prevost, 2009).

III.4.1.3. Formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux

Les bactéries lactiques vont produire et excréter une variété de produits du métabolisme fermentaire qui affecteront à leur tour le milieu et sont à l'origine de divers produits fermentés et de leurs arômes. Les acides organiques vont directement affecter le milieu par l'abaissement du pH, ce qui va permettre une transformation de la matière première (coagulation des protéines du lait et de la viande) mais aussi la conservation des aliments par l'inhibition des bactéries d'altération ou pathogènes par différents mécanismes, sans oublier la qualité et la diversité organoleptique des aliments par l'effet de métabolites comme l'acétoïne (Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010).

III.4.2. Métabolisme du citrate

Dans la fermentation laitière, l'acide citrique est considéré comme le principal précurseur de la formation des composés aromatiques comme le diacétyle, l'acétoïne et l'acide acétique qui sont particulièrement recherchés et appréciés dans certains produits laitiers tels que les laits fermentés, le beurre, la crème fraîche et les fromages frais. Le citrate est aussi un précurseur dans la synthèse de composés cellulaires, il est impliqué indirectement dans la formation d'énergie, il permet aussi la production de CO₂ et la formation d'ouvertures dans les fromages (Bourel et al., 2001).

Le transport du citrate à travers la membrane cellulaire est assuré par une enzyme citrate perméase. Une fois dans la cellule, le citrate est clivé en acétate (Figure 05) et oxaloacétate par le citrate lyase. L'oxaloacétate est décarboxylé en pyruvate qui est transformé en diacétyle par le biais d'une série de réactions intermédiaires (Grattepanche, 2005).

Le mécanisme et la régulation du métabolisme du citrate diffèrent d'une espèce lactique à une autre. Il peut être métabolisé dès le début de la fermentation au cours de l'acidification comme pour l'espèce *Leuconostoc mesenteroides* pour qui le catabolisme du citrate est directement associé à une stimulation de la croissance de la bactérie, ou plus tard au cours de l'affinage, ce qui est le cas pour *Lactobacillus plantarum* (Bourel et al., 2001).

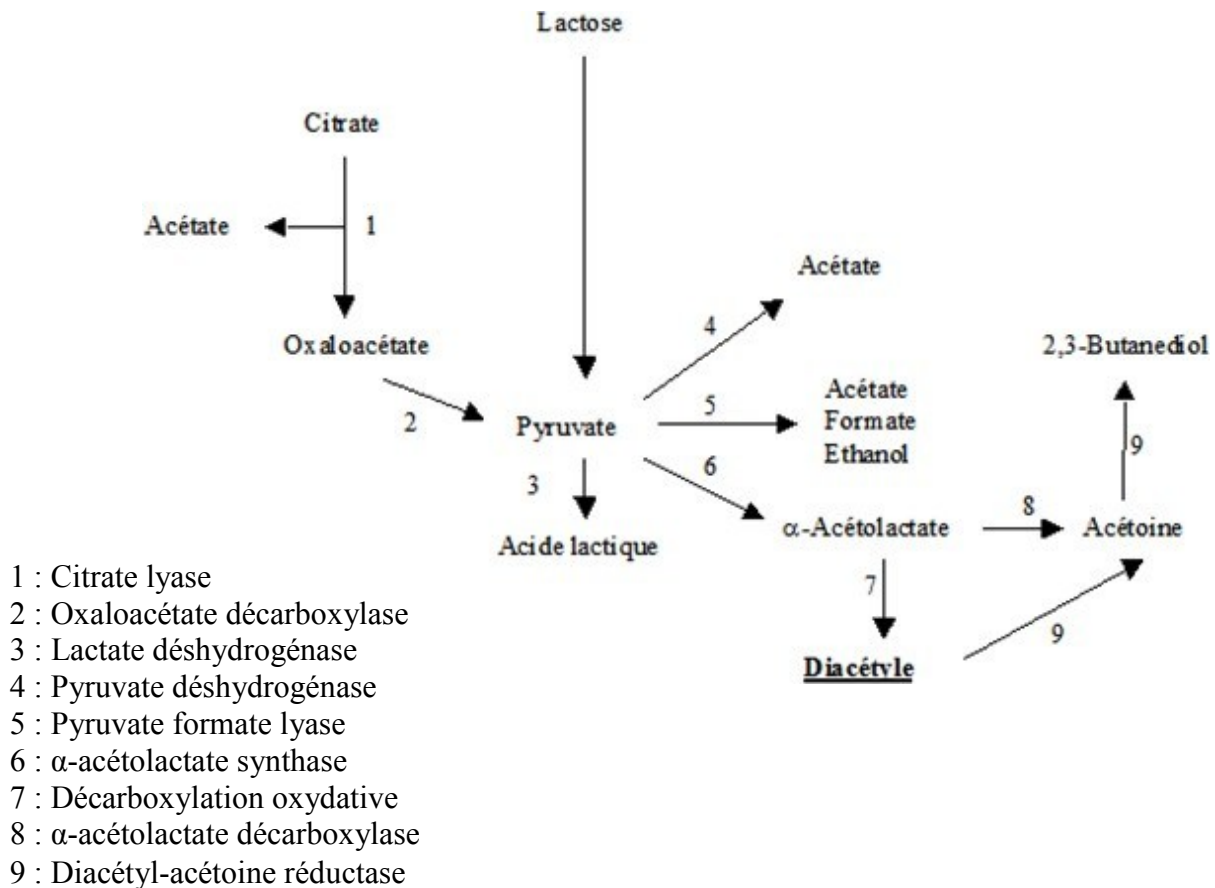


Figure 05 : Métabolisme du citrate conduisant à la formation du diacétyle (Grattepanche, 2005).

III.4.3. Métabolisme des protéines

Les bactéries lactiques sont auxotrophes à certains acides aminés qu'elles ne peuvent synthétiser à partir d'une source d'azote simple, ce besoin varie d'un genre lactique à un autre voire d'une espèce à une autre. Cela est causé par des mutations sur les gènes codants pour la biosynthèse des acides aminés.

Parmi les bactéries lactiques, l'espèce *Streptococcus thermophilus* est la moins exigeante, car elle n'est auxotrophe que pour la leucine et la valine, alors que le genre *Lactobacillus* est le plus exigeant, certaines espèces de ce genre peuvent avoir une auxotrophie allant jusqu'à 17 acides aminés, l'espèce la moins exigeante est *Lb. plantarum* qui a une auxotrophie à 7 acides aminés (Corrieu et Luquet, 2008).

Bolotin et al (2001) ont démontré que *Lactococcus lactis* possédait les gènes impliqués dans la biosynthèse des 20 acides aminés. Certains de ces gènes mutés ne s'expriment pas lorsque des souches de cette espèce lactique se trouvent dans le lait alors que d'autres souches issues des plantes sont prototrophes pour les acides aminés.

Pour couvrir leurs besoins en matière azotée, les bactéries lactiques disposent d'un système protéolytique qui permet d'hydrolyser les caséines du lait ainsi que le lactosérum. Ce système est composé de protéases de paroi, d'un système de transport des acides aminés et d'oligopeptides ainsi que des peptidases intracellulaires qui permettent de dégrader les peptides internalisés (Monnet, 2006) mais qui peuvent aussi être libérées dans le milieu grâce à l'autolyse de la bactérie qui se produit sous certaines conditions (Roudj et *al.*, 2009).

III.4.3.1. Protéases de paroi

Ces enzymes encrées dans la paroi bactérienne par leurs extrémités C-terminale hydrolysent les protéines et libèrent des acides aminés et des oligopeptides, et peuvent intervenir à plusieurs reprises sur une même protéine (Corrieu et Luquet, 2008). Cependant, certaines souches de bactéries lactiques n'en possèdent pas, cela freine leurs croissances et les oblige à établir des interactions de type protocoopération (symbiose) avec des souches protéolytiques, afin de ce développer dans le lait (Savijokie et *al.*, 2006).

À partir d'études menées sur les lactocoques (Figure 06), il a été établi que les protéases de paroi (PrtPs) sont synthétisées dans le cytoplasme bactérien (Atlan et *al.*, 2000) sous forme de pré-protéines inactives de grandes tailles (environ 2000 résidus), constituées de 8 domaines à fonctions bien distinctes.

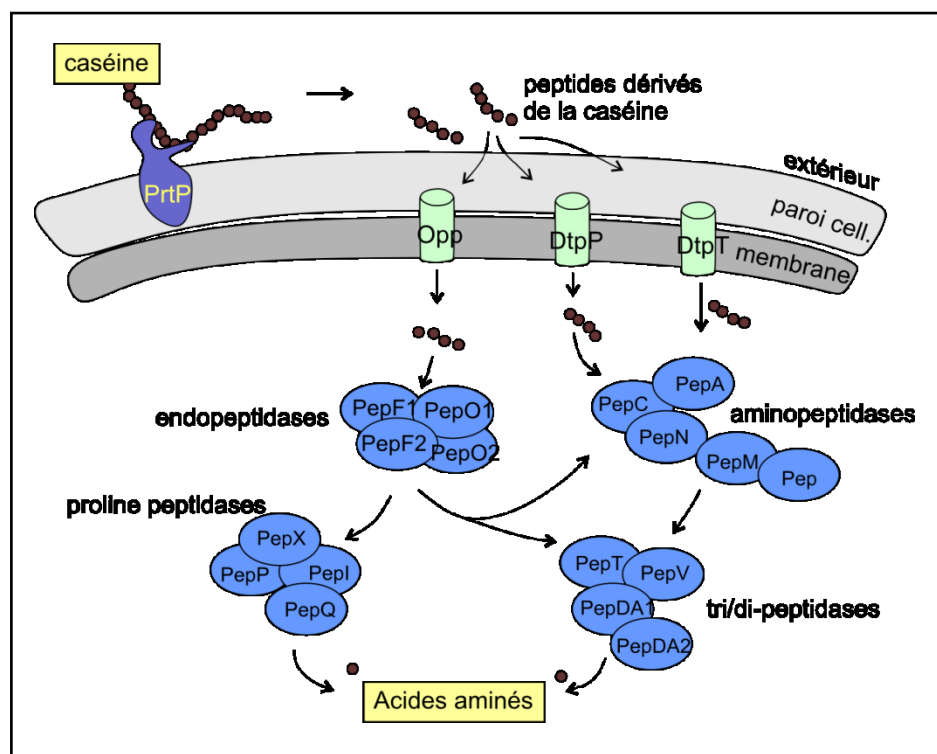


Figure 06 : Représentation schématique du système protéolytique de *Lactococcus lactis* (Atlan et *al.*, 2000).

Cette organisation est retrouvée chez les PrtPs à la surface des souches de *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus paracasei*. Néanmoins chez les autres espèces lactiques, les PrtPs subissent des modifications de leurs structures, liées à leur maturation et leur spécificité d'hydrolyse à un substrat. Ces grandes variabilités de structures ont donné 5 modèles de PrtPs (Roudj, 2010 ; Galia, 2011).

Selon la spécificité catalytique des protéases, on distingue 2 classes principales de protéases :

- PI : Des PrtPs hydrolysant principalement la caséine β , et très faiblement les caséines α 1 et κ
- PIII : Des PrtPs hydrolysant les 3 types de caséines.

Il existe des souches de lactocoques ayant une activité protéasique intermédiaire entre PI et PIII (Corrieu et Luquet, 2008).

III.4.3.1. Transport des acides aminés et des peptides

a. Transport des acides aminés

Il y a au moins 12 systèmes spécifiques de transport des acides aminés (tableau 8) chez les bactéries lactiques qui sont coûteux en énergie (Tableau 8) et l'activité de chaque système présente une forte affinité un nombre réduit d'acides aminés. Leur rôle est de permettre un apport en un acide aminé particulier lorsque la bactérie en a besoin.

Tableau 8 : Systèmes de transports des acides aminés chez bactéries lactiques, classés selon la force énergétique dépensée (Corrieu et Luquet, 2008).

Transporteur (moteur énergétique)	Acides aminés transportés
Perméase (force proton-motrice)	Alanine, Glycine
	Thréonine, Sérine
	Isoleucine, Leucine, Valine
	Tyrosine, Phénylalanine
	Méthionine
	Histidine
ABC-transporteur (hydrolyse d'ATP)	Lysine
	Glutamine, Glutamate
	Asparagine
Antiport (gradient de concentration)	Proline, Glycine-bétaïne
	Arginine/Ornithine
	Glutamate/ γ -aminobutyrate

Ces transporteurs peuvent aussi évacuer vers le milieu extérieur les acides aminés se trouvant en excès dans le cytoplasme bactérien avant que leurs concentrations ne deviennent toxiques (Raynaud, 2006).

b. Transport des oligopeptides

Chez une même bactérie il y a plusieurs systèmes de transport des peptides et qui diffèrent les uns des autres par leur spécificité au substrat, leur dépendance énergétique, leur structure et les gènes codants pour leur synthèse. De plus, un système de transport peut être présent en plusieurs copies chez une même bactérie (Corrieu et Luquet, 2008).

Ces transporteurs peuvent être classés en 2 familles :

- Peptide Transporter (transporteurs de peptides) : ce type de transporteurs (DtpT), généralement composé d'une protéine de 12 fragments transmembranaires, dont les deux extrémités N- et C-terminales sont situés dans le cytoplasme, est notamment retrouvé chez *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus* et *Streptococcus thermophilus* (Hagting et al., 1994 ; Nakajima et al., 1997 ; Bolotin et al., 2004). Ces transporteurs ont une forte affinité surtout aux peptides hydrophobes et dipeptides, mais aussi et à moindre degré les tripeptides.
- Transporteurs type ABC : ce sont des systèmes de transport pour des peptides comprenant de 4 à 38 résidus. ATP- dépendants, ces transporteurs sont composés de différentes unités et codés par des gènes organisés en opérons. Parmi ces système : le système Dpp qui transporte sans discrimination les dipeptides et les tripeptides hydrophobes (Kunji et al., 1993), le système Opp retrouvé chez *Lactococcus lactis* qui transporte exclusivement des oligopeptides quant au transporteur Ami de *Streptococcus thermophilus*, il transporte les 3 catégories de peptides (di- tri et oligopeptides) (Garault et al., 2002).

c. Peptidases

Les peptidases qui se trouvent dans le cytoplasme sont en charge du clivage des peptides transportés à l'intérieur de la bactérie pour libérer les acides aminés, et sont classés selon la position de la liaison peptidique qu'elles hydrolysent en : endopeptidases dont la liaison à hydrolyser se trouve à l'intérieur du peptide, et en exopeptidases qui hydrolysent les liaisons soit à partir de l'extrémité C-terminale du peptide et sont dits carboxypeptidase, ou à partir de l'extrémité N-terminale et sont dits aminopeptidases (Galia, 2011). Les peptidases (tous groupe confondu) peuvent être classées selon le substrat qu'elles clivent.

Il y a des peptidases communes à plusieurs espèces de bactéries lactiques, et qui sont essentiellement des aminopeptidases générales à large spécificité de substrat, ou au contraire à spécificité restreinte comme les peptidases spécialisées dans les peptides à liaison impliquant la proline, ainsi que deux endopeptidases : PepO et PepF.

On trouve aussi des peptidases spécifiques à une espèce, comme celles trouvées chez certaines espèces de Lactobacilles (PepL, PepG et PepI) qu'on ne retrouve pas chez les lactocoques (Roudj, 2010).

Parmi les peptidases contribuant aux besoins azotés des bactéries lactiques :

- Aminopeptidases

- PepA : Glutamyl amino peptidase, qui libère les résidus Aspartate et Glutamate N-terminaux à partir de peptides contenant jusqu'à 10 acides aminés (Corrieu et Luquet, 2008) ;

- PepC : c'est une Cystéine aminopeptidase qui n'hydrolyse pas les peptides contenant la Proline (Chapot-Chartier et al., 1993 ; Keller et al., 2017) ;

- PepI : Proline iminopeptidase qui libère la Proline ;

- PepN : à large spécificité de substrat, elle hydrolyse les di, tri et oligopeptides avec une préférence pour l'Arginine, la Lysine ou la Leucine comme résidu N-terminale;

- PepP : retrouvée chez *Lactococcus lactis*, elle a une spécificité pour les petits peptides de 5 résidus contenant la Proline (Keller et al., 2017);

PepS : retrouvée chez *Streptococcus thermophilus*, elle a une spécificité à l'Arginine et aux acides aminés aromatiques ;

PepT : c'est une tripeptidase dont la spécificité au substrat est large ;

PepV : elle fait partie des aminopeptidases à large spécificité ;

PepX : X prolyl dipeptidyl aminopeptidase, elle a une spécificité pour les peptides riches en Proline obtenus à partir des caséines β . Elle libère des dipeptides (Keller et al., 2017) ;

- PCP : Pyrrolidone carboxyl peptidase, le résidu N-terminale libéré par cette enzyme est l'acide pyroglutamique (Exterkate, 1977).

- Autre peptidase

- PepO : c'est une endopeptidase qui hydrolyse des peptides très différents contenant de 5 à 35 résidus ;
- PepF : c'est une endopeptidase qui cible les oligopeptides et qui est commune à plusieurs espèces de bactéries lactiques (Corrieu et Luquet, 2008).

III.4.4. Métabolisme des lipides

Comparées à d'autres microorganismes, les bactéries lactiques ne sont pas très lipolytiques, surtout dans le lait où elles n'hydrolysent pas ou peu la matière grasse composée à 96 % de triglycérides, par contre elles peuvent l'hydrolyser après qu'elle ait été pré-hydrolysée par des lipases ou estérases autres que les leurs (Holland et *al.*, 2005).

Cette activité lipolytique diffère d'intensité d'un genre lactique à un autre ; pour exemple elle est plus forte chez *Streptococcus thermophiles* et les lactobacilles que chez le genre *Lactococcus* (Crow et *al.*, 1994) qui ne possède qu'une seule enzyme codée par un seul gène.

La baisse ou la perte de cette activité n'influe pas sur la croissance des bactéries lactiques, ni dans un milieu synthétique, ni dans un lait écrémé ou entier.

Les lipases des bactéries lactiques qui sont en nombre limité, sont de type estérases qui hydrolysent des esters de moins de 8 carbones. Leur site actif contient de la Sérine et elles sont localisées en majorité à l'intérieur de la bactérie, bien que selon Gobbeti et al (1997) une estérase a été localisée à la surface d'une souche de *Lactobacillus plantarum*.

Les estérases des bactéries lactiques ont une préférence pour les monoglycérides ensuite les diglycérides et enfin une très faible activité d'hydrolyse pour les triglycérides. Ces estérases préfèrent aussi les dérivés ρ -nitrophenyl ou β -naphtyl d'acides gras ayant des chaînes C4 à C6.

L'activité estérasique est fortement réduite en présence de 5 % d NaCl et à pH 5.5, d'ailleurs la lipolyse se produit en début de fabrication fromagère et non vers la fin. La faible activité des estérases est surtout due au manque de substrats pour lesquels ces enzymes ont une affinité.

Les estérases ont à la fois une activité d'hydrolyse et une activité de synthèse des esters. Cette synthèse se fait de deux façons (Figure 07) :

- Soit une estérification à partir d'alcool et d'acide gras, cette voie est d'ailleurs la réaction inverse de l'hydrolyse, elle est ralentie par la quantité d'eau présente dans le milieu et aboutie surtout à la

formation de butanoate d'éthyle, du pentanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle, selon la spécificité de l'enzyme présente (Corrieu et Luquet, 2008).

- Soit une synthèse d'esters par transestérification, qui est une réaction de transfert d'acyle. Cette voie permet à beaucoup de souches de bactéries lactiques la synthèse d'une quantité élevée de butanoate d'éthyle à partir de tributyrine et d'éthanol en milieu aqueux (Liu et al, 2003).

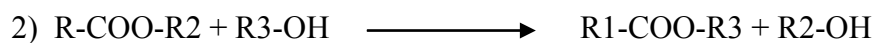
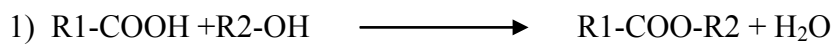


Figure 07: Réactions de synthèse des esters par les estérases des bactéries lactiques ; 1) estérification ; 2) transestérification.

III.5. Autolyse des bactéries lactiques :

Sous certaines conditions, les bactéries lactiques se désagrègent spontanément et cela sous l'effet d'enzymes spécifiques localisées sur la paroi bactérienne : les autolysines. Ces dernières s'attaquent exclusivement à la couche de peptidoglycane de la paroi (Lotral, 1995 ; Vucotik et al., 2015).

Les autolysines sont à l'origine des hydrolases synthétisées naturellement par la bactérie car elles sont impliquées dans différentes fonctions cellulaires nécessitant le remaniement et le remodelage de la paroi lors de la croissance telles que l'expansion de la paroi, le recyclage du peptidoglycane ou la séparation de bactéries filles lors de la division cellulaire

Il y a lyse bactérienne lorsqu'il y a l'hydrolyse d'un nombre suffisant de liaisons au sein du peptidoglycane (Figure 08) accompagnée de l'arrêt de la synthèse de cette couche de la paroi. Cela conduit au déversement du contenu cellulaire dans le milieu.

Les facteurs déclenchant l'autolyse sont essentiellement des facteurs environnementaux, qui sont défavorables à la physiologie de la bactérie et qui provoquent l'arrêt de la synthèse de la paroi :

- Lorsque le milieu est épuisé en source de carbone, cela provoque massivement ce phénomène.
- À l'occasion d'un choc brutal (thermique ou osmotique).
- Après addition de NaCl ou d'éthanol dans le milieu, même en faible concentration, cela conduit à l'autolyse de certaines souches de *Streptococcus thermophilus* (Corrieu et Luquet, 2008).

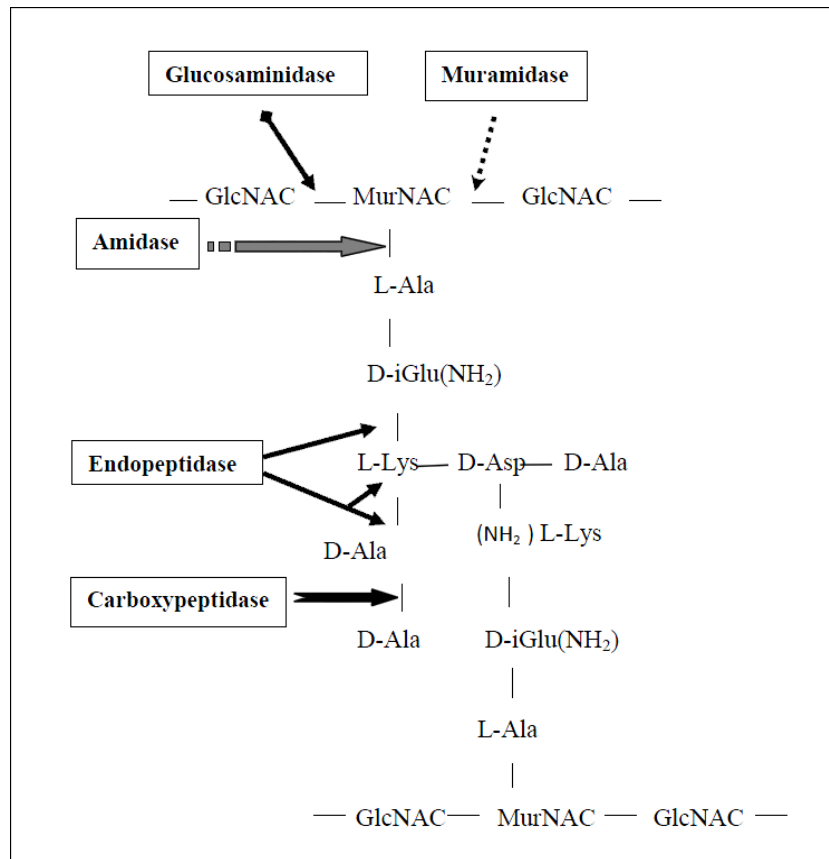


Figure 08 : Représentation des sites d'action de différentes classes d'autolysines sur la structure du peptidoglycane de *Lactococcus lactis* (Lotral et Chapot-Chartier, 2005).

II.6. Distribution des bactéries lactiques dans les différents laits

Il y a une grande diversité dans la microflore du lait et notamment dans la composition en bactéries lactiques qui varie dans les différents laits (Tableau 9) selon la localisation géographique et les saisons (Bouton et *al.*, 2005).

Des travaux ont montré qu'une quarantaine de genres et 150 espèces différentes étaient présents dans les laits de bovins normands (Maillet et *al.*, 2010), alors qu'en Italie, une quinzaine d'espèces microbiennes présentes pour 6 genres seulement ont été détectées (Tableau 10) dans des laits de vaches (Ercolini et *al.*, 2009 ; Giannino et *al.*, 2009a, 2009b).

Selon Callon et *al.* (2007), près de 40 espèces microbiennes sont présentes dans les laits de chèvre de Rhône Alpes. Une étude portant sur le lait cru de brebis, Salmeron et *al.* (2002) ont montré l'existence de variations saisonnières dans dix groupes de microorganismes, avec des niveaux globalement plus élevés au printemps.

D'après Bouton et *al.* (2005), dans une étude sur les laits utilisés pour la fabrication du Comté les niveaux de bactéries lactiques sont deux fois plus élevés en été qu'en hiver.

Au sein du groupe des bactéries lactiques, 22 espèces ont été détectées dans les laits de manière récurrente (Tableau 9).

Tableau 9: Biodiversité spécifique des bactéries lactiques dans des laits crus de vache, chèvre et brebis d'après (1) : Bouton et al (2006), Dalmasso et al (2008), Rasolofo et al (2010) et (2) : Badis et al (2004b) et Callon et al (2007), et (3) : Caridi et al (2003) et Feutry et al (2010).

Espèces	Lait de vache (1)	Lait de chèvre (2)	Lait de brebis (3)
<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i>	+	+	+
<i>L. garviae</i>	+	+	
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+
<i>E. durans</i>	+	+	
<i>E. faecium</i>	+	+	
<i>E. hirae</i>			+
<i>E. saccharominimus</i>	+		
<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	+	+
<i>Lb. paraplantarum</i>	+	+	+
<i>Lb. ramnosus</i>	+		
<i>Lb. helveticus</i>	+	+	
<i>Lb. delbrueckii</i> ssp <i>lactis</i>	+		
<i>Lb. delbrueckii</i> ssp <i>bulgaricus</i>		+	
<i>Lb. brevis</i>		+	+
<i>Lb. casei</i>		+	
<i>Lb. paracasei</i> ssp <i>paracasei</i>			+
<i>Lb. animalis</i>	+		
<i>Lb. curvatus</i>			+
<i>Leuconoctoc mesenteroïdes</i>	+	+	+
<i>Ln. pseudomesenteroïdes</i>	+		+
<i>Ln. lactis</i>	+		
<i>Ln. citreum</i>	+		

+ : présence de l'espèce dans le lait.

Tableau 10: Inventaire de la diversité des genres de bactéries lactiques dans des laits crus de vache et de chèvre d'après(1) : Ercolini et al (2009), Giannino et al (2009a,b), Mallet et al (2010), Saubusse et al (2007) et (2) : Callon et al (2007) et Cheriguene et al (2007).

Lait de vache ¹	Lait de chèvre ²
<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Pediococcus</i>

III.7. Intérêt et aptitudes technologiques des bactéries lactiques

Grace à leurs activités métaboliques, les bactéries lactiques présentent un intérêt certain dans l'industrie agroalimentaire pour la fabrication des aliments fermentés mais aussi dans l'agriculture dans l'alimentation animale (l'ensilage), le domaine de la santé et bien d'autres.

Le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (Pfeiler et Klaenhammer, 2007). Le tableau 11 rassemble les bactéries lactiques utilisées dans la fermentation des aliments

Dans la fabrication fromagère, elles jouent un rôle primordial dans les premières étapes de la transformation du lait, mais elles interviennent aussi, directement et indirectement, dans la phase d'affinage et dans la qualité sanitaire des produits finis. Leur action est liée principalement à deux aspects de leur métabolisme : la production d'acides lactiques et l'activité protéolytique (Desmazeaud, 1998).

Elles peuvent aussi développer et déterminer les qualités organoleptiques des produits fermentés (Yaoa et al., 2009) et sont également utilisées dans la fabrication des salaisons, du vin et des ensilages (Drouault et Corthier, 2001).

Les principales aptitudes recherchées sont l'aptitude texturante qui repose sur l'acidification, la production d'exopolysaccharides et la protéolyse, ainsi que l'aptitude aromatisante qui se base sur la production de métabolites grâce au métabolisme carboné, à la protéolyse et à la lipolyse.

Tableau 11: Aliments fermentés et les bactéries lactiques qui leurs sont associées (Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010).

Produits fermentés :	Bactéries Lactiques :
Produits laitiers :	
Fromage à pate pressée	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
Fromage avec ouvertures	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>
Fromage Suisse et Italien	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Beurre	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>
Yoghourt	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> <i>Lb.</i>
Lait fermenté	<i>casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i>
Kefir	<i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. kefiranofacies</i> , <i>Lb. brevis</i>
Viande fermentée :	
Saucisson (Europe)	<i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. Curvatus</i>
Saucisson (USA)	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
Légumes fermentés :	
Choucroutes	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i>
Cornichons	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>P. cerevisiae</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. plantarum</i>
Olives fermentés	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb.</i>
Autres légumes fermentés.	<i>Fermentum</i>
Céréales fermentés : Levain	<i>Lb. sanfransicensis</i> , <i>Lb. farciminis</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. amylovorus</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Lb. panis</i> , <i>Lb. alimentarius</i> , <i>W. cibaria</i>
Poissons fermentés :	<i>Lb. alimentarius</i> , <i>C. piscicola</i>

B: *Bifidobacteriu* ; *C:* *Carnobacterium* ; *L:* *Lactococcus* ; *Lb:* *Lactobacillus* ; *Ln:* *Leuconostoc* ; *O:* *Oenococcus* ; *P:* *Pediococcus* ; *S:* *Streptococcus* ; *T:* *Tetragenococcus* ; *W:* *Weissella*

III.7.1. Pouvoir acidifiant

Cette activité se manifeste par la production de l'acide lactique issu de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne. Cette propriété a pour conséquence l'abaissement du pH qui conduit à la fois à la coagulation des protéines -caséines- du lait ainsi qu'à l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes et de la flore d'altération (Tabak et *al.*, 2012).

Du point de vue technologique, l'acidification participe aux propriétés rhéologiques (texture et saveur) du produit final, et elle joue un rôle important dans la conservation des aliments. L'activité acidifiante est très variable chez les bactéries lactiques, elle varie au sein d'une même espèce (Raynaud, 2006).

III.7.2. Métabolisme carboné

Cette activité est en partie responsable des aptitudes aromatisante (Figure 09) et texturante des bactéries lactiques (Roncal et *al.*, 2016).

Certaines souches lactiques qualifiées d'aromatiques, sont capables de produire un certain nombre de composés, en particulier le diacétyl qui donne un goût typique à certains produits laitiers, mais aussi l'acétoïne, l'acétaldéhyde, des polyols et de l'éthanol (Cogan et *al.*, 1981).

La production des exopolysaccharides par certaines souches lactiques permet d'améliorer les qualités rhéologiques et gustatives des produits laitiers, cette activité influence directement la viscosité du produit fermenté. Le meilleur exemple reste celui du yoghourt dont la texture est liée à la quantité et au type d'exopolysaccharides produits par les souches lactiques utilisées pour la fermentation, et surtout le yoghourt brassé qui soumis à des contraintes mécaniques doit contenir de bonnes souches productrices d'exopolysaccharides pour maintenir une texture homogène et stable du gel (Desmazeaud et Cogan, 1996).

Il a été aussi rapporté que des souches de *Streptococcus thermophilus* ayant une production élevée d'exopolysaccharides utilisées pour le fromage type Mozzarella (à faible concentration en matière grasse) permettait d'avoir une bonne rétention d'eau par le gel et d'améliorer par conséquence la texture du produit et le rendre de meilleure qualité (Corrieu et Luquet, 2008).

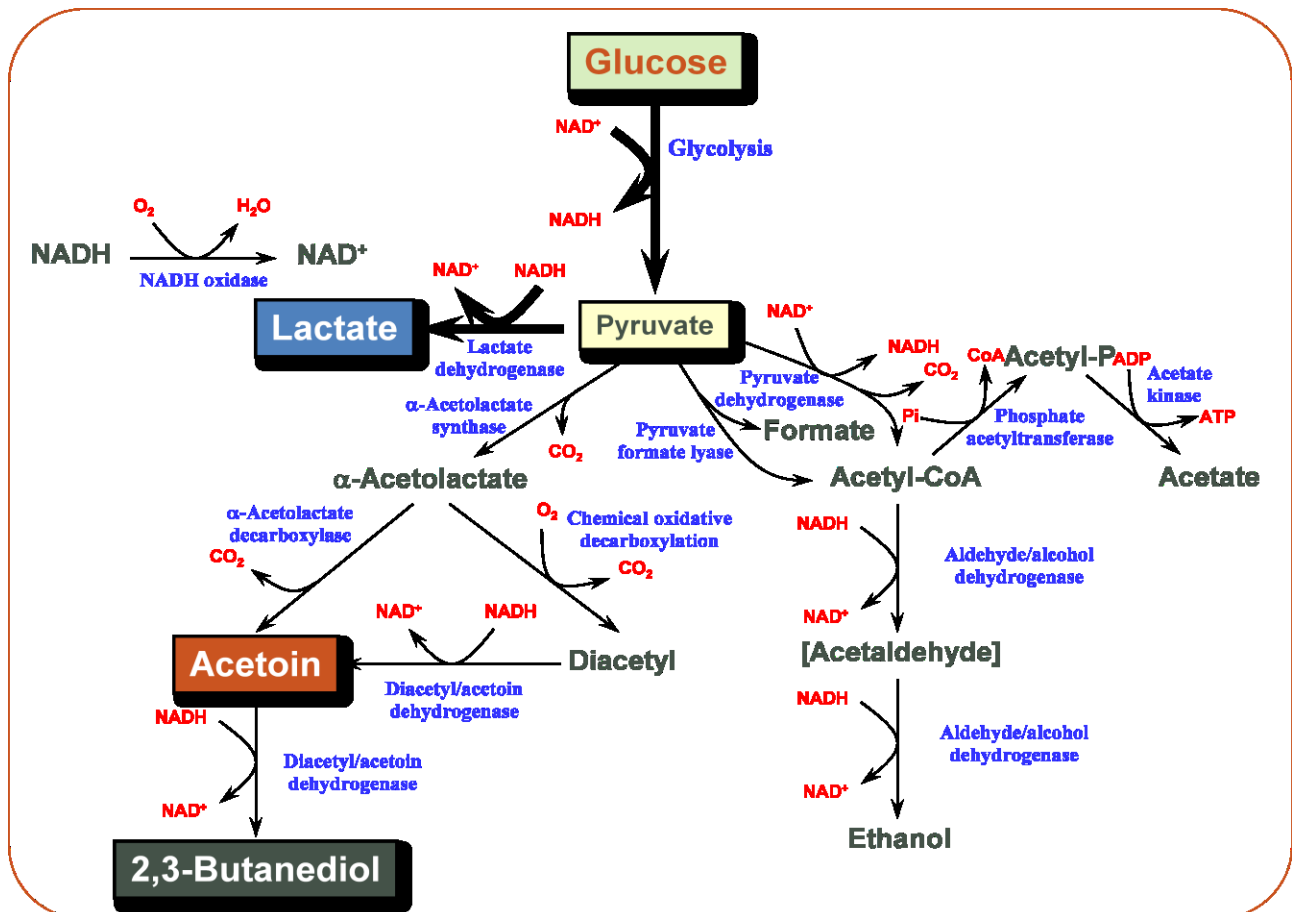


Figure 09 : Voies de production des composés aromatiques par le métabolisme carboné (Roncal et al., 2016)

III.7.3. Activité protéolytique

Le catabolisme azoté chez bactéries lactiques est une voie majeure de la formation des arômes dans les produits laitiers et joue un rôle important lors de l'opération d'affinage des différents types de fromages. Elle est à l'origine du goût typique, de la flaveur désirée et de la texture caractéristique du produit fini (Ngassam Tchamba, 2007).

Cette activité est responsable de la libération de peptides et d'acides aminés dont une partie est dirigée vers la formation de composés aromatiques notamment par transamination. Cela conduit à la production d'aldéhydes, d'acétoaldéhydes, d'alcools, d'acides (comme l'acide acétique ou l'acide propionique) mais aussi d'acétoïne et de diacétyle (Corrieu et Luquet, 2008) et elle est à l'origine des saveurs de fruits, d'amertume et de noisettes dans les fromages (Forquin, 2010).

III.7.4. Activité lipolytique

L'activité lipolytique des bactéries lactiques, contribue généralement à développer les qualités organoleptiques des fromages dès le début de leur fabrication. Ceci est dû à la présence de lipases qui génèrent des acides gras libres et des esters, qui sont des composés volatiles fortement

aromatiques avec des notes fruitées, florales ou soufrées assez agréables responsables des saveurs de certains fromages (Dellali, 2012).

Bien que cette activité puisse être responsable de la détérioration du goût si elle n'était pas employée de manière contrôlée dans la fabrication de certains fromages comme le Brie et le Saint Paulin (Chilliard, 1982), elle est généralement modérée lors de la production des produits laitiers car les estérases n'ont pas accès aux substrats adéquats dans le lait, et l'activité protéolytique reste assez faible chez les bactéries lactiques (Corrieu et Luquet, 2008).

III.7.5. Activité autolytique

Du point de vue technologique cette caractéristique est intéressante chez les bactéries lactiques, car elle conduit à la libération des enzymes intracellulaires dans la matrice. Cela accélère l'affinage des fromages et contribue au développement des saveurs (Collins et al., 2003). Il a été rapporté que l'activité protéolytique est fortement augmentée chez *Lactococcus lactis* grâce à son activité autolytique (Corrieu et Luquet, 2008).

III.7.6. Pouvoir inhibiteur

Le pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques par rapport à d'autres microorganismes est dû à la production de plusieurs métabolites tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le dioxyde de carbone (CO₂), le diacétyle et les bactériocines (Labioui et al., 2005). Cette propriété permettrait d'inhiber le développement des microorganismes indésirables et/ou pathogènes sans pour autant modifier les propriétés organoleptiques du produit.

L'utilisation de souches lactiques inhibitrices comme cultures *starters* pour la bio-préservation des aliments a fait l'objet de nombreuses études : en effet certaines souches de *Lactobacillus* ssp ou encore de *Leuconostoc mesenteroides* sont capables d'inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* (Ratti et al., 2010 ; Retureau et al., 2010 ; Pérez Ibarreche et al., 2014) et il a été démontré aussi que les croissances de *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* sont inhibées grâce à la production de bactériocines par une culture mixte de bactéries lactiques (Càlix-Lara et al., 2014).

III.7.7. Activité probiotique

Les effets bénéfiques des bactéries lactiques sur la santé ont été discutés dès 1907 par Metchnikoff et ses études sur le yoghourt. De nos jours les recherches visent à exploiter les propriétés probiotiques des bactéries lactiques par rapport à leur potentiel dans le traitement des diarrhées ou encore la réduction de la formation de tumeurs (Drouault et Corthier, 2001).

Sans oublier la réduction du cholestérol sérique (Shah, 2007), la stimulation du système immunitaire et la réduction d'allergies chez des sujets à risques (Savilahti et *al.*, 2008 ; Gourbeyre et *al.*, 2011), ainsi que l'amélioration de la digestion du lactose au niveau de la paroi intestinale par les lactases de souches de *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus*.

III.8. Ferments lactiques

III.8.1. Définition

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de microorganismes (une ou plusieurs espèces de bactéries lactiques) qui est ajoutée au lait (ou autre produit) pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yildiz, 2010 ; Leroy et De Vuyst, 2004).

Le rôle principal des ferments est d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini pour palier à l'insuffisance et l'imprévisibilité de la flore originale ainsi que de contribuer aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté (Yildiz, 2010). L'impact sur la qualité du produit fermenté est fortement dépendant des souches utilisées et varie selon leurs activités et voies métaboliques.

III.8.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur fonction, leur température de croissance, ou leurs compositions (Carminati et *al.*, 2010).

- **Selon la composition** : selon la Fédération Internationale de Laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en 3 catégories:

- Les ferments purs : constitués d'une souche d'une espèce bien caractérisée.

- Les ferments mixtes : ils sont formés d'un mélange de souches en nombres et en proportions indéfinis. Ils ont en général, une bonne activité acidifiante.

- Les ferments mixtes sélectionnés : contiennent plusieurs souches bien définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.

- **Selon le type de croissance** : les ferments lactiques sont, selon les productions industrielles réaliser, des ferments mésophiles et des ferments thermophiles (Wouters et *al.*, 2002).

III.8.2.1. Ferments thermophiles

Ils comprennent certains Lactobacilles, les Bifidobacterium et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40 °C et 50 °C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tel que l'Emmental et le Gruyère (Mayra-Makinen et Bigret, 2004 ; Carminati et *al.*, 2010).

III.8.2.2. Ferments mésophiles

Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*) et des espèces aromatisantes (*L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*). Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25 °C et 30 °C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38 °C à 40 °C. Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (Carminati et *al.*, 2010).

IV. Interactions entre bactéries lactiques

Dans les produits laitiers, on retrouve des communautés microbiennes complexes qui expriment les différentes fonctions métaboliques des microorganismes présents dans ce microbiote. La dynamique créée par ce mélange et sous des conditions précises conduit à la formation de produits fermentés (Imran et *al.*, 2013). Le développement des microorganismes dans cet écosystème implique des interactions microbiennes qui détermineront les caractéristiques organoleptiques du produit final (Bonaiti et *al.*, 2005).

IV.1. Définition

Selon Fredrickson (1977) les interactions sont un ensemble complexe de phénomènes biologiques hétérogènes dont les effets ont été observés bien avant de trouver une explication à leurs mécanismes. Lorsqu'il y a interaction entre deux ou plusieurs souches bactériennes, leur cinétique de croissance et leur métabolisme s'en retrouvent modifiés.

IV.2. Types d'interactions

Les interactions sont classées soit selon l'aspect phénoménologique en interactions positives (si leurs effets sont favorables ou stimulants aux microorganismes impliqués) et en interactions négatives (si leurs effets sont défavorables ou inhibiteurs), soit selon l'aspect mécanistique, en interactions directes (besoin d'un contact physique entre les microorganismes) et indirectes (lorsqu'elles nécessitent seulement l'implication d'une substance intermédiaire produite ou consommée par l'un des microorganismes). Chez les bactéries lactiques, les interactions observées sont principalement : indirectes, positives ou négatives (Corrieu et Luquet, 2008) et peuvent être définies comme suit :

IV.2.1. Interactions positives

a. Commensalisme

Cette interaction indirecte présente un bénéfice non réciproque, où l'une des bactéries n'a aucun effet sur l'autre mais profite de sa présence (Guennoc, 2017) tandis que l'autre ne retire ni avantage ni véritable inconvénient de cette association. Ce qui veut dire que la bactérie non affectée par l'interaction dégrade une substance inhibitrice pour l'autre ou produit une substance nécessaire à sa croissance (Van de Meer, 1993).

b. Mutualisme

Dans ce type d'interaction positive, chaque bactérie est stimulée par la présence de l'autre. On parle alors d'une relation à bénéfice réciproque, simultanée ou successive. Ce cas d'association indispensable voire obligatoire entre deux populations (la symbiose) est différent de la proto-coopération qui est facultative (Guennoc, 2017).

IV.2.2. Interactions négatives**a. Antagonisme**

Interaction indirecte qui se traduit par une lutte réciproque de deux populations de microorganismes, cela implique la production de molécules inhibitrices spécifiques, dans le cas des bactéries lactiques : les bactériocines (Al Atya, 2016).

b. Amensalisme

Cette interaction implique que l'une des populations bactériennes produit des substances inhibitrices non spécifiques contre la croissance de l'autre sans être affectée elle-même par les bactéries inhibées (Corrieu et Luquet, 2008).

c. Compétition

C'est une interaction au cours de laquelle les populations bactériennes ont une influence négative réciproque, concerne l'utilisation commune d'une ressource limitée dans le milieu et qui peut mener à l'élimination de l'espèce la moins compétitive pour cette ressource. Bien que l'espèce la plus compétitive se maintienne dans le milieu, ses performances s'en trouveront également diminuées (Flacher, 2016).

IV.2.3. Neutralisme

Dans ce cas précis, les espèces cohabitent dans le même milieu sans interagir entre elles. Cependant, ce genre d'interaction n'est possible que si aucun des substrats n'est limitant ou si les espèces ont des besoins nutritionnels totalement différents.

Il est important de noter que toutes ces interactions ne sont ni exclusives, ni statiques, elles peuvent varier selon les conditions du milieu ou l'état physiologique des populations impliquées (Guennoc, 2017).

IV.3. Phénomènes d'interaction des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques interagissent entre elles mais aussi avec les bactéries propioniques ainsi qu'avec les levures et les moisissures, dans les produits laitiers, les vins, les légumes fermentés et la pâte à pain.

IV.3.1. Dans le yaourt

C'est l'exemple le plus connu et le plus étudié. Il y a protocoopération entre les deux souches thermophiles (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) qui permet (Tableau 12) d'augmenter : les vitesses de croissances des deux souches ainsi que leurs vitesses d'acidification sans oublier l'activité protéolytiques et la production d'exopolysaccharides, par rapport à celles des cultures pures ; d'avoir un pH final en culture mixte plus bas que celui des cultures pures, de stimuler la production de composés aromatiques et d'améliorer la stabilité physique du produit (Corrieu et Luquet, 2008). Une interaction négative de type amensalisme qui se produit dans les deux sens est observée en même temps que la protocoopération (Benthin et Villadsen, 1995)

Tableau 12 : Effets des interactions entre *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *S. thermophilus* en culture mixte (Corrieu et Luquet, 2008)

	<i>Lb. delbrueckii</i> ↕ <i>S thermophilus</i>	<i>Lb. delbrueckii</i> ↓ <i>S thermophilus</i>	<i>Lb. delbrueckii</i> ↑ <i>S thermophilus</i>		
Mécanisme et facteur d'interaction	Synthèse de l'acide lactique	Production de peptides et d'acides aminés	Production de CO ₂ par activité uréase	Acide formique	Acide Pyruvique et acide folique
Rôle de l'interaction	Inhibition de la croissance	Activation de la croissance	Synthèse de l'acide aspartique	Synthèse des bases puriques	NC

NC : non caractérisée.

IV.3.2. Dans les fromages

Les interactions des bactéries lactiques sont difficiles à étudier car les écosystèmes fromagers sont complexes, et la matrice est hétérogène de composition très diversifiée. Néanmoins certains effets ont été bien étudiés, surtout en ce qui concerne les bactéries mésophiles :

Des interactions de type commensalisme et compétition ont été identifiées dans les écosystèmes fromagers où il y a présence simultanée de souches fortement protéolytiques et

acidifiantes et d'autres présentant une faible protéolyse et une acidification lente, il y aura donc stimulation de la croissance des souches faiblement protéolytiques car elles vont profiter des autres souches compétentes qui se retrouveront en compétition avec elles pour le substrat azoté, et après épuisement des peptides et acides aminés du lait la croissance des souches protéolytiques va ralentir à ce moment car elles vont subvenir à leurs propres besoins mais aussi à ceux des souches faiblement protéolytiques (Flambart et *al.*, 1997).

Des interactions positives de coopération entre des souches de bactéries lactiques mésophiles dans les fromages permettent la stimulation de la formation d'arômes, sans affecter la croissance des souches. Cette coopération est possible entre souches de la même espèce comme c'est le cas entre une souche *Lactococcus lactis* très protéolytique avec une autre souche faiblement protéolytique mais qui possède une forte activité décarboxylase, la première souche va synthétiser de grandes quantités d'acides aminés ramifiés que la seconde va transformer en aldéhyde et donner un arôme malté fort (Ayad et *al.*, 2001) ; mais aussi entre des souches d'espèces ou de genres différents, comme observé dans une culture mixte contenant une souche d'un lactobacille mésophile qui possède une activité glutamate déshydrogénase et qui va donner de l' α -cétoacide par transamination des acides aminés, avec une souche de *Lactococcus lactis* qui ne possède pas les enzymes pour effectuer les étapes précédentes et qui va utiliser l' α -cétoacide et le convertir en composés aromatiques (Kieronczyk et *al.*, 2003).

***MATÉRIEL
& MÉTHODES***

MATERIEL ET METHODES

Cette thèse a été réalisée au sein du laboratoire de recherche de Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA) de l'université Abdel hamid Ben Badis de Mostaganem.

1. Zone de prélèvement

Pour préparer Le Jben traditionnel, 6 échantillons de lait cru de chèvre ont été collectés dans la wilaya de Naâma (Figure 10), à partir de plusieurs localités : Naâma, Ain Sefra, Mecheria, Assla, Tiout et ElBiodh.

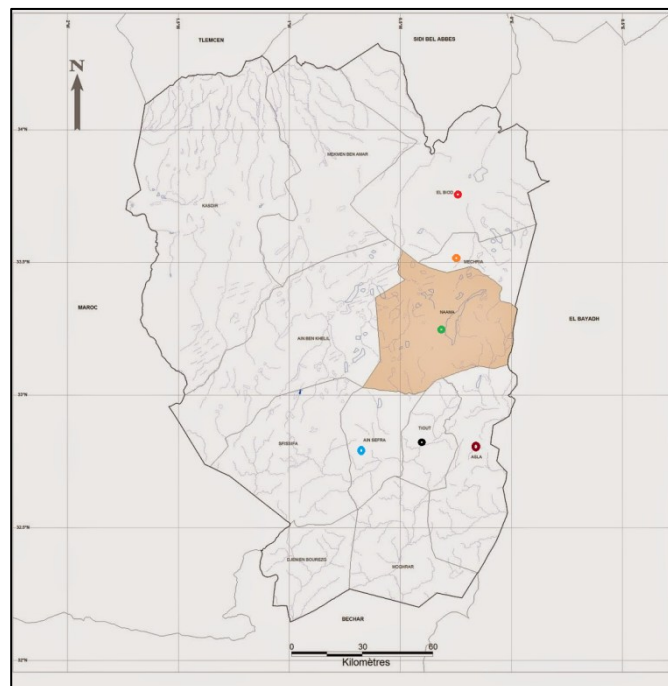


Figure 10: Localisation des points de collecte des laits crus à travers la wilaya de Naâma.

El biodh • Mecheria • Naâma • Ain sefra • Tiout • Assla

- Elevages

Les chèvres choisies pour cette étude sont élevées en élevage extensif, basé sur la libre circulation et le parcage des animaux dans les pâtures durant la journée, de 6h du matin à 17h le soir.

L'alimentation de ces chèvres en milieu pastoral est basée sur la végétation des pâturages (plantes pérennes : alfa et armoise), complétée par de la paille de céréales et du concentré (mélange d'orge et de maïs) au niveau de la chèvrerie.

2. Prélèvements

Les prélèvements des échantillons ont été effectués de Mai 2015 à Mai 2016 ; il s'agit de mélanges de laits crus de plusieurs chèvres (de 5 à 20 chèvres) de la race Arabia. Pour chaque échantillon un volume de 1,5 à 2 L de lait a été prélevé en fin de traite après brassage du lait dans le bidon/tank (seau) de traite et conservés dans des bouteilles stériles.

Les laits ont été conservés à 4°C, une partie du lait prélevé destinée aux analyses physicochimiques a été ramenée au laboratoire par glacière à 4 °C. La partie restante étant destinée à la préparation du Jben.

3. Etude physico-chimique des laits

Les paramètres mesurés des laits sont le pH l'acidité titrable, le taux protéique et le taux de matière grasse.

a. Acidité titrable

Mesurée par la neutralisation de l'acide lactique présent dans un volume de 10ml de lait par une base (NaOH N/9) en présence d'un indicateur coloré qui est une solution de Phénolphtaléine à 1%. L'arrêt de la titration se fait lorsque la coloration rose persiste plus de 10 secondes.

L'acidité titrable : $A (^{\circ}D) = 10 * V$ (1ml de soude correspond à 10°D)

V : étant le volume de soude (NaOH N/9) nécessaire à la neutralisation de l'acide lactique (Taylor, 2010).

b. Taux protéique et matière grasse, pH

Ils sont mesurés à l'aide d'un appareil : « LACTOSCAN » (Lactoscan[®] Ultrasonic Portable Milk Analyser, MILKOTRONIC LTD ; Bulgaria) calibré et étalonné pour le lait cru de chaque femelle laitière dont le lait de chèvre cru.

4. Préparation des Jbens

A partir des différents laits crus, des Jbens ont été préparés artisanalement à la laiterie GRINIK de Ain Sefra (wilaya de Naâma) en suivant méticuleusement la méthode traditionnelle locale :

1ère étape : Maturation / fermentation des laits

Les laits ont mûri dans des récipients fermés à température ambiante (moyenne des températures pendant la période de prélèvements : $18,57^{\circ}C \pm 6,33$) pendant 16 à 24 h. Le but étant

d'augmenter la charge microbienne originelle du lait cru de chèvre et plus particulièrement les bactéries lactiques qui nous intéressent.

2ème étape : Chauffage

Les laits fermentés mais pas encore coagulés ont été chauffés avec une légère agitation. La préparation étant artisanale, la température de chauffage varie de 40 à 50 °C.

3ème étape : Emprésurage

Une fois la température voulu atteinte, une petite quantité de chardon de Marie séché «HAKKA» enroulée dans une gaze stérile a été ajoutée aux laits maturés (la quantité peut varier selon le degré de maturation des laits : ± 4 g); le chauffage et l'agitation ont encore duré 15 min.

4ème étape : Coagulation

Après retrait de la présure, les laits étaient laissés à température ambiante afin de coaguler. Le temps de coagulation change d'un lait à un autre et dépend de la nature du lait lui-même. Cela peut varier de 20~30 min à 14~16 h.

5ème étape : Egouttage

Après l'obtention d'un coagulum ferme et l'exsudation d'une quantité importante de lactosérum, on a procédé à l'étape de l'égouttage en versant le tout à travers une passoire surmonté d'un tissu propre (gaze, chèche ou tissu très fin).

Après un égouttage passif et rapide (5-10 minutes), le coagulum enroulé dans le tissu était pressé pendant 20 min. Les Jbens une fois préparés ont directement été conservés à 4 °C puis transportés au laboratoire pour être analysés.

5. Etude physico-chimique des Jbens

a. pH

C'est la mesure de l'activité H^+ , sa valeur est mesurée grâce à un pH-mètre Princeton Instruments® avec une sonde solide FC200 (Sonde pour fromage) qui est plongée directement au cœur du fromage (Ardö et Polychroniadou, 1999).

b. Acidité titrable

Selon la méthode de référencé : AOAC (2005, standard 920.123) pour la mesure de l'acidité dornic du fromage :

- 10 g de chaque Jben a été homogénéisé avec 90 ml d'eau distillée par Stomacher® 80 Biomaster pendant 10 min à vitesse maximale -300 rpm- (Owusu-Kwarteng et *al.*, 2012).

Après filtration de la solution homogénéisée, 10 ml du filtrat obtenu pour chaque Jben a été utilisée pour mesurer l'acidité titrable comme cité dans le paragraphe 3.a.

L'acidité titrable : $A (^{\circ}D) = 10 * V * 9$ (l'acidité a été diluée 1/10).

c. Taux protéique

Les taux des protéines a été mesuré selon la norme AOAC 991.20-23 (2005) pour fromage frais par la méthode Kjeldahl (Subramanian et Rodriguez Saona, 2010) qui permet de mesurer l'azote totale présent dans l'échantillon, la valeur obtenue est multipliée par 6,38 (facteur propre aux produits laitiers) pour avoir la valeur du taux protéique du fromage:

- Minéralisation/Digestion (durée 2~2,5 h): C'est la digestion de l'azote lié aux composés organiques et sa transformation en sulfate d'ammonium (composé inorganique) :

1. Mélanger avec précaution 3 g de Jben ($\pm 0,1\text{mg}$) avec 20 ml d'acide sulfurique (à 98 %), 1 ml d'une solution de sulfate de cuivre (à 5 %, rôle de catalyseur) et 12 g de sulfate de potassium (avec un taux d'azote bas).
2. Préchauffer le bloc thermique pendant 10 min à 200 °C.
3. Chauffer le mélange à 200 °C pendant environ 30 min.
4. Continuer à 420 °C pendant environ 90 min.

Retirer les échantillons du bloc thermique dès que la digestion est finie, et les laisser refroidir à température ambiante pendant 25 min.

- Distillation : Cela se passe dans un dispositif spécial qui permet d'obtenir des sels de borates d'ammonium :

1. L'addition de 70 ml d'une solution de NaOH concentré en excès (à 30 %)
2. La distillation avec débit vapeur à 90 %
3. L'adjonction de 50 ml d'une solution d'acide borique (40 g/l) mélangée à 3 ml d'une solution d'indicateur (solution de rouge de méthyl + solution de vert de bromocrésol 1:5 v/v).

- Titration : la solution obtenue précédemment est titrée directement avec du HCl 0,1M (ou du H₂SO₄) jusqu'à apparition d'une coloration rose.

Le taux protéique est exprimé ainsi :
$$P\% = \frac{1,4007 * (V_e - V_b) * C_s}{M_e} * 6,38$$

P % : taux /pourcentage des protéines dans l'échantillon

V_e : volume de HCl obtenu pour le Jben

V_b : volume de HCl obtenu pour un essai blanc

Cs : Molarité de l'HCl

M : Masse exacte de l'échantillon.

d. Taux de matière grasse

Pour effectuer ce dosage au laboratoire de la Laiterie-Fromagerie Sidi Saada (wilaya de Relizane), la méthode Van Gulik a été appliquée, cette technique est une variante de la méthode Gerber et elle a été exécutée comme suit :

- Introduire 3 g de Jben dans un bécher de butyromètre à fromage.
- Ajouter de l'acide sulfurique (70 %, densité: 1525) jusqu'à ce qu'il recouvre le Jben dans le butyromètre.
- Mettre le butyromètre dans un bain Marie à 80 °C jusqu'à ce que le Jben soit dissout.
- Ajouter 1ml d'alcool isoamylique et 1ml d'acide sulfurique.
- Mélanger en inversant le butyromètre fermé deux ou trois fois.
- Chauffer à 65 °C pendant 5min au bain Marie.
- Centrifuger à 1200 rpm pendant 5 min.
- Les graduations présentes sur le butyromètre permettent une lecture directe du taux de matière grasse, qui est exprimé en g/100 g (% w/w) de fromage (Ardö et Polychroniadou, 1999).

6. Milieux de cultures

- Les bactéries ont été isolées sur deux milieux gélosés : M17 à 1 % de lactose (pH 6,8 ~ 6,9) et MRS acidifié (pH 5,5).
- Les purifications ont été effectuées sur milieu solide PCA additionné de 0,1 % de poudre de lait écrémé.
- Pour les conservations et cultures fraîches, les bouillons M17 et MRS ont été utilisés.
- Le bouillon nitraté a été utilisé lors de la pré-identification des bactéries isolées.
- Le milieu PCA-lait gélosé à différents pourcentages de lait écrémé, a été utilisé pour effectuer l'étude de la protéolyse ;
- le milieu triglycérides et MRS additionné de beurre ont été utilisés pour tester la lipolyse de quelques souches bactériennes identifiées.
- Le milieu Clarck et Lubs et lait écrémé a été utilisé pour la recherche de la formation d'acétoïne.
- Le lait écrémé a été aussi utilisé pour la recherche d'acétoïne et le test d'acidification.

7. Conservation des souches

Tous les isolats suspects des bactéries lactiques (gram positif et catalase négatif) sont conservés :

7.1. Conservation de courte durée

Cette méthode est utilisée pour une conservation des souches à courte durée. Les souches pures sont ensemencées sur bouillons MRS / M17 à pH 6.8, après une incubation de 16~18h ces cultures pures sont conservées à 4°C, et le renouvellement des souches se fait toutes les 04 semaines (Champagne et *al.*, 2000).

7.2. Conservation de longue durée

Elle est employée pour une conservation des souches de 1 à 6 mois à -20°C et -86°C. Elle s'effectue en congelant des cultures jeunes, ensemencées massivement sur milieux MRS / M17 à pH 6.8 ou dans du lait écrémé. L'ajout de 30% d'un cryoprotecteur est nécessaire (le glycérol) pour une bonne conservation (Champagne et *al.*, 2000).

8. Isolements des bactéries lactiques

8.1. Homogénéisation des échantillons de Jben

À partir de chaque échantillon de Jben, 25 g ont été pesés et homogénéisés avec 225 ml d'une solution d'hydrogenphosphate dipotassique (solution de K_2HPO_4 à 2 %) dans un Stomacher® 80 Biomaster pendant 10 min à vitesse maximale.

8.2. Isolement sur milieux sélectifs

Après des dilutions décimales de la solution homogénéisée de chaque Jben avec une solution de Ringer $\frac{1}{4}$, l'isolement microbien a été effectué sur milieu Man Rogosa & Sharpe (MRS) gélosé (De Man et *al.*, 1960) à pH= 5,5 et incubé en anaérobiose à 37°C pendant 48 h, ainsi que sur un milieu M17 gélosé (Terzaghi et Sandine, 1975) à pH= 7 et incubé à 25 °C et 42 °C pendant 24 h (Tsakalidou et *al.*, 1998).

8.3. Purification et conservation des isolats

La purification des souches a été effectuée par des repiquages successifs (ensemencement par épuisement) sur une gélose PCA additionnée de 0,1 % de poudre de lait écrémé de matière grasse et incubations à 30 °C pendant 24h jusqu'à obtention de colonies de même forme, taille et couleur.

9. Identification des isolats de Jben de chèvre

9.1. Pré-identification des isolats

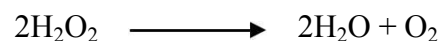
La pré-identification s'est basée sur les caractéristiques générales (physiologiques et biochimiques) des bactéries lactiques qui sont l'examen microscopique à l'état frais, la coloration de Gram, la recherche de la catalase, de l'oxydase et de la nitrate réductase (Dellaglio et *al.*, 1994).

- Examen microscopique

Observation à l'état frais d'un frottis bactérien étalé entre une lame et une lamelle dans une goutte d'eau distillée stérile au grossissement x40. Cela nous permet d'apprécier la mobilité ou l'immobilité des isolats.

- Recherche de la catalase

La catalase enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Une colonie est mise en suspension avec une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame. La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O_2) (Marchal et *al.*, 1991).

- Coloration de Gram

Les isolats ont été soumis à la coloration de Gram. Ce test permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif ainsi que le mode de regroupement des bactéries et leur forme (Singleton, 1999).

- Recherche de l'oxydase

Les oxydases, sont des enzymes qui interviennent à la fin des étapes de déshydrogénation des chaînes de cytochromes. Il en existe plusieurs types. Elles sont mises en évidence par leur propriété à catalyser la réaction d'oxydation d'un substrat organique par l'oxygène de l'air.

Un disque « OX » (contenant du tetramethyl-p-phenylenediamine) est placé sur une lame et imbibé d'une goutte d'eau distillée puis une colonie est déposée à la surface. Une coloration rose se manifeste en quelques minutes en cas de réaction positive.

- Recherche de nitrate réductase

L'enzyme nitrate réductase, transforme les nitrates en nitrites, elle est mise en évidence en deux étapes, d'abord par la recherche du produit, puis par la confirmation de la disparition du substrat, car un résultat négatif à la première étape peut aussi signifier qu'il y a bien eu réduction du nitrate, et que les nitrites ont été transformés par dénitrification en Diazote.

- Pour cela on ajoute à une culture fraîche (ensemencée à 1%) de la bactérie sur bouillon nitraté (à 30 °C pendant 24 à 48 h) 3 gouttes des réactifs de Griess NR1 et NR2 (l'acide sulfanilique et du naphthylamine) et après 15 min à l'air libre on observe le 1er résultat.

Le résultat est positif s'il y a la présence de nitrite dans le milieu et qui se traduit par l'apparition d'une coloration rouge/rose. Si le résultat est négatif (pas de changement de couleur) on procède comme suit :

- On ajoute de poudre de Zinc et l'observation se fait après 5 à 10 min à l'air libre.

Le résultat est positif s'il n'y a plus de nitrates dans le milieu, et donc pas de changement de la couleur du bouillon (qui reste jaune). Le résultat est négatif s'il y a apparition d'une coloration rouge au niveau du milieu (due à la présence de nitrate non réduit en nitrite).

Les bactéries Cat-, Ox-, Nit- et G+ sont retenues pour la suite des tests car elles sont présumées êtres des bactéries lactiques.

9.2. Identification des isolats

9.2.1. Préparation des isolats

À partir des cultures pures de chaque isolat à identifier, une colonie est repiquée par stries sur un milieu gélosé PCA-lait et incubé à 30 °C pendant 72 h, puis conservés moins d'une semaine à 4 °C. Les boîtes de Petri contenant ces isolats purifiés sont ensuite transportées à 4 °C au Centre de Recherche « CRAPC » de Bou-Ismaïl (wilaya de Tipaza) pour l'identification au MALDI TOF.

9.2.2. Identification au MALDI TOF

Cette méthode se base sur la comparaison de l'empreinte du protéome de chaque isolat à celles se trouvant dans une banque de données, par un logiciel spécifique. L'empreinte est générée après une ionisation des colonies (des protéines) par un bombardement laser discontinu, les protéines vont rester séparées grâce à une matrice HCCA et vont être dissociées par leurs poids et détectées grâce à leurs temps de vol.

Pour cela quelques colonies, de chaque isolat, ont été récupérées avec le bout d'un cure-dent stérile, puis ont été étalées en fine couche sur un spot d'une plaque cible. Chaque film bactérien a été mélangé à 1 µl d'acide formique 70 %.

Puis 1µl d'une solution de matrice HCCA (HCCA Matrix, BrukerDaltonics) a été ajouté à chaque spot. La plaque (la cible) a été laissée à température ambiante afin que les mélanges se cristallisent.

Le premier spot de la plaque ne contenait que la matrice HCCA seule (le blanc) et dans le second spot, une souche *Escherichia coli* DH5α a été utilisée comme standard pour le calibrage de l'appareil.

Une fois la cible séchée, elle a été introduite dans l'appareil, l'analyse commence après récupération du vide dans la chambre de la cible (Figure 11). L'analyse a été faite selon les instructions d'utilisation de Bruker Microflex MALDI-TOF MS instrument (Bruker Daltonics, Germany), opérant en mode linéaire d'ion positif, dans un intervalle de masse compris entre 2000-20000 Da (Nacef et al., 2016).

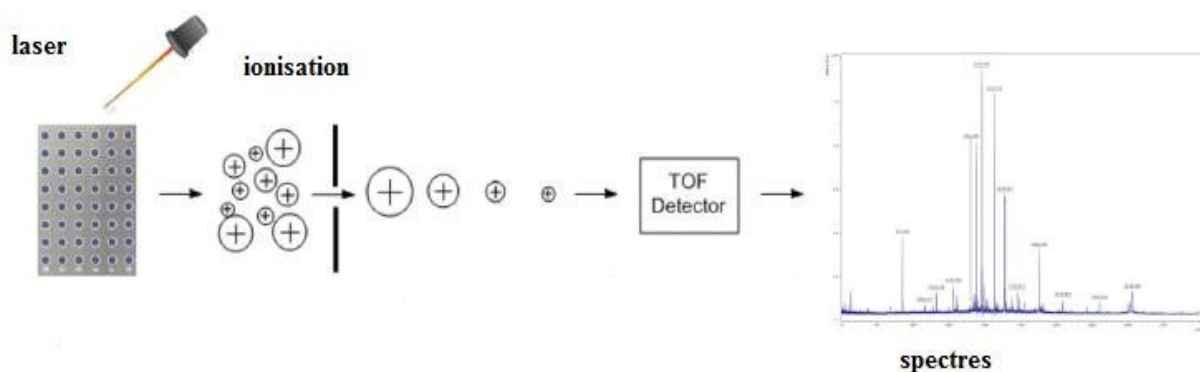


Figure 11 : Représentation du principe de l'identification par MALDI TOF

9.2.3. Lecture des résultats

Les spectres de masse enregistrés lors de la manipulation ont été analysés par le logiciel MALDI Biotyper 4.0 software database (Bruker Daltonics, Germany) et comparés avec les profils fournis par sa base de données. Les similarités ont été exprimées par une valeur score (log score) ; il n'y a que les scores au-dessus de 1,7 qui ont été pris en compte comme étant des identifications, les scores en dessous de 1,7 ont été refusés.

Le logiciel a classé les scores obtenus comme suit :

- Les scores entre 1,7 et 2,0 impliquent une probable identification au niveau du genre.
- Entre 2,0 et 2,3 ces scores représentent une identification probable au niveau de l'espèce avec un genre sécurisé.
- Au-delà de 2,3 les identifications ont une haute probabilité d'identification de l'espèce.
- Le score 3,0 est considéré comme un score parfait d'identification (Nacef et *al.*, 2016)

10. Etudes des interactions

10.1. Interactions entre les souches isolées

Les inhibitions des souches entre elles ont été étudiées par la méthode de culture séquentielle décrite par Fleming et al (1975). Parmi les souches isolées et identifiées au MALDI TOF MS, 12 souches appartenant aux genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* ont été testées en supposant que chaque souche peut être inhibitrice ou indicatrice :

- À partir de cultures fraîches, 11 souches (parmi les 12 à tester), sont ensemencées chacune en spot sur un milieu M17 solide (lactose à 1 %, pH 6,8) puis incubées à 30 °C pendant 24 h. Ces souches sont considérées comme « inhibitrices ».
- À partir d'une culture overnight sur bouillon M17 de la souche considérée comme « indicatrice » (la 12^{ème} souche), 0,5 ml est ensemencé dans 7 ml de gélose molle de M17 (lactose à 1 %, pH 6,8) maintenue à l'état liquide à 35 °C.
- Après avoir observé une croissance pour toutes les souches, la gélose molle est coulé à la surface de la boîte directement sur les spots puis incubée de 24 à 48 h à 30 °C.

L'inhibition apparaît sous forme de zone claire autour de la souche « inhibitrice », le diamètre de cette zone est mesuré en millimètre.

Les résultats de cette étude vont permettre de choisir des souches pour former une communauté microbienne.

10.2. Interactions au sein de la communauté

Suivant la méthode décrite dans la partie **10.1**, les inhibitions au sein de la communauté ont été étudiées, considérant à chaque fois une des 6 souches sélectionnées comme indicatrice et les autres souches en communauté de 5 comme inhibitrices.

11. Choix de la communauté

Le choix de la communauté s'est fait selon les résultats des interactions entre les 12 souches de bactéries lactiques (partie **10.1**) et des scores d'identification au MALDI TOF/MS, les souches

sélectionnées n'exprime aucune inhibition les unes envers les autres. De plus le score de l'identification doit être au-dessus de 1,9.

Pour chaque teste mené sur la communauté un volume égal d'une culture pure fraiche de chacune des souches a été prélevé (1:1:1:1:1).

12. Choix des ferments

Plusieurs ferments ont été sélectionnés à partir des souches de la communauté et des résultats de certaines aptitudes testées. Chaque ferment est composé d'une souche *Lactococcus lactis* et une autre de *Leuconostoc mesenteroides*.

Pour les tests d'aptitudes technologiques ; les inocula ont étéensemencés à partir de cultures pures avec un rapport de 2:1 v/v pour respectivement 1 souche *L. lactis* et 1 souche *Ln. mesenteroides*.

13. Aptitudes technologiques

Une partie des souches isolées, la communauté constituée ainsi que les différents ferments sélectionnés ont subi des tests pour déterminer leurs aptitudes technologiques, les concentrations à partir desquelles les souches ont étéensemencées à partir de cultures overnights dans un bouillon M17, et la concentration des inocula étaient de l'ordre de 10^6 ufc/ml.

13.1. Production d'acétoïne :

La capacité à produire de l'acétoïne a été recherchée de la manière suivante :

- Inoculation à 1 % dans 10 ml de lait écrémé (reconstitué à 10 %) stérile ;
- Inoculation à 2 % dans 4 ml de bouillon Clark & Lubs ;
- Incubation des tubes à 30 °C pendant 24 h ;
- Ajout de 4 gouttes de VPI (α -naphthol) et VPII (Hydroxyde de potassium/sodium) ;
- Agitation des tubes de bouillons Clark & Lubs ;
- Observation du résultat après quelques minutes à l'air libre.

La réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface des milieux.

13.2. Lipolyse

La lipolyse a été mise en évidence sur gélose aux triglycérides pour les isolats et sur Milieu MRS gélosé, additionné de d'un substrat lipidique qui est le Tween 80 à raison de 10 ml/L (adapté de Helist et Korpela., 1998) pour la communauté, les ferments et quelques souches.

Pour cela 5µl de chaque inoculum ont été déposés à la surface de disques stériles disposés sur le milieu de culture. L'observation se fait après une incubation à 30 °C pendant 24 à 48 h.

La lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des disques accompagné d'un dépôt (Guiraud, 2003), il s'agit de cristaux de sels de calcium (Plou et *al.*, 1998); la précipitation des cristaux de savon calcique est visible à l'œil nu.

13.3. Protéolyse

L'activité protéolytique a été mise en évidence sur des milieux PCA-Lait à différentes concentrations de lait écrémé : 1% - 2% - 4% - 5% - 8% - 10% (ce dernier pour les ferments). La méthode suivi est la même décrite dans le paragraphe **13.2**.

Le résultat positif se traduit par une zone de lyse (claire) de plus de 0.5mm autour de la biomasse qui sera mesurée (en mm)

13.4. Pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité d'acidification consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acide lactique par la soude Dornic.

Les souches, la communauté et les ferments ont étéensemencée à 1% dans du lait écrémé stérile chacun à partir de cultures overnights puis incubés à 30 °C (Maciejewski et *al.*, 1998).

Les mesures du pH (méthode décrite dans le paragraphe **3.b.**) et de l'acidité titrable (paragraphe **3.a.**) ont été prises toutes les 2 h à partir de l'heure 0 jusqu'à 20 h d'incubation.

14. Fabrication de fromage frais

Les ferments sélectionnés ont servi à préparer des fromages frais qui ont par la suite été soumis à l'appréciation d'un jury pour réaliser une évaluation sensorielle pour chacun d'eux.

14.1. Essais de fabrication

Les ferments sélectionnés ont été préparé de la manière suivante :

a. Préparation du levain

- Une culture overnight dans un bouillon M17 incubé à 30 °C est réalisée pour chaque souche.
- Dans 100 ml de lait écrémé stérile (pour chaque souche) la souche estensemencée à 3 % avec une concentration de 10^8 ufc/ml.
- Les laits inoculés sont incubés à 28 °C pendant 24 h.

b. Préparation du lait

- Du lait entier enrichi en protéines est reconstitué puis chauffé à 95 °C pendant 20 secs.
- Le lait stérile est laissé à « maturer » quelques heures avant son utilisation afin de permettre une meilleure dissolution des grains de poudre et une meilleure homogénéisation avec l'eau ajoutée.

c. Préparation du fromage

- Le lait est chauffé au bain Marie à 30 °C, avec une légère agitation.
- Le levain est incorporé dans le lait à raison de 5 % (80 % de souches *Lactococcus lactis* et 20 % de *Leuconostoc mesenteroides*) en deux étapes :
 - D'abord la souche *Lactococcus lactis* est ajoutée au lait qui est ensuite incubé à 25 °C pendant 5 h ;
 - Puis la souche *Leuconostoc mesenteroides* est ajoutée avec une légère agitation ;
 - Le lait est incubé ainsi à 25 °C pendant 9 h (soit en tout 14 h d'incubation).
- Après la coagulation, le caillé lactique formé est chauffé à 42 °C pour faire remonter le lactosérum
- L'étape d'égouttage est réalisée de manière spontanée à l'aide de passoire et ne dure que quelques minutes afin de garder une haute teneur en humidité dans le fromage frais.
- Les fromages sont mis dans des moules puis conservés à 4 °C.

14.2. Evaluation sensorielle des fromages préparés

Le test d'évaluation sensoriel des fromages fabriqués a été organisé avec un panel naïf au laboratoire de recherche LSTPA, afin de définir les impressions générales du jury.

La dégustation des fromages frais préparés s'est déroulée en 2 fois, dans des conditions normalisées visant surtout à réaliser un test hédonique et voire l'acceptation ou le rejet des fromages par les participants qui sont des étudiants non entraînés mais aussi des enseignants universitaires.

Les échantillons de fromages à tester ont été présentés aux dégustateurs, anonymement, dans des assiettes en plastique blanches (Figure 12) avec des couverts blancs, du pain pour effacer le goût de chaque échantillon après sa dégustation et de l'eau pour réchauffer leurs palais (Norme ISO 13302).

Les fromages ont été dégustés par groupe de 4 afin de ne pas créer une confusion chez les dégustateurs. Les fiches de dégustation sont produites en annexe.



Figure 12: Composition de chaque poste de dégustation.

Un fromage frais industriel « type petit-suisse » a été utilisé lors d'une séance afin de permettre au panel de le comparer aux fromages frais préparés.

Il a été demandé au panel de classer les fromages du plus aimé au moins apprécié (de 1 à 4) et donner leur impression générale au choix (Guyot-Declerck et *al.*, 2001) qui sera noté comme suit :

J'aime beaucoup ce produit : 4

J'aime bien ce produit : 3

Je n'ai pas d'impression sur ce produit (indifférent): 2

Je n'aime pas ce produit : 1

Je déteste ce produit : 0

- Ainsi que de justifier si possible cette impression et ce classement.

A l'issue de la dégustation des 4 fromages en leur état (nature) après fabrication, deux fromages ont été sélectionnés pour subir un lissage et une légère aromatisation (sel et ail) puis reproposé au panel afin de les rejuger sous cet aspect plus proche de celui du témoin.

15. Analyse statistique

Les statistiques descriptives (Moyenne \pm écart type) pour chaque paramètre ont été fournies. Le modèle linéaire généralisé (GLM) a été appliqué pour mettre en évidence l'effet de la souche, de la concentration et leur interaction.

Le test de Duncan de comparaison multiple a été appliqué pour séparer les moyennes. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (version 20).

***RÉSULTATS
& DISCUSSION***

1. Etude physico-chimique des laits

Les moyennes des mesures des paramètres physico-chimiques sont présentées dans le tableau 13. Les laits E1, 3, 4, 5 et 6 ont un pH et une acidité dans la norme sauf le lait E2 qui a un pH plus bas, leur transport vers le laboratoire a été fait dans de bonnes conditions, quant au lait n°2, il est devenu plus acide sans doute à cause de mauvaises conditions de conservation et de transport.

Les 6 laits présentent des taux protéiques plus bas que la norme, sauf le E1 qui a un taux acceptable, le cas est le même pour le taux de matière grasse (taux bas), sauf pour l'échantillon n°1 qui pourrait être dû à une erreur de manipulation, la composition des laits et ses paramètres physico-chimiques dépendent fortement de plusieurs facteurs pouvant les influencer, la zone géographique et l'environnement ainsi que les différences entre les élevages ont ici une très grande importance qui pourrait expliquer ces taux bas. Les caractéristiques physicochimiques des laits crus dépendent aussi de la race des animaux et de leur alimentation (Poznanski et al., 2004). L'hypothèse du mouillage du lait lors de la collecte est aussi à prendre en considération.

Tableau 13 : Résultats de l'étude physico-chimiques des laits de chèvres prélevés dans la wilaya de Naâma.

Echantillon	Origine	pH	Acidité titrable %	Taux protéique %	Taux de matière grasse %
Valeurs standards	-	6,45 – 6,90*	0,14 – 0,17**	3,47***	3,61***
E1	Ain Sefra	6,47±0,005	0,17±0,1	3,5	5,06
E2	Mecheria	6,17±0,05	0,23±0,1	2,68	1,8
E3	El Biodh	6,52	0,14±0,01	1,89±0,006	0,97
E4	Naama	6,39±0,01	0,16±0,02	2,18	2,05±0,03
E5	Tiout	6,56	0,14	2,93	2,63
E6	Assla	6,48±0,011	0,16±0,01	3,24	3,38

(* Remeuf et al., 1989 ; **Veinglou et al., 1982 ; *** Guo et al., 2001)

2. Etude des Jbens préparés artisanalement

Les Jbens (Figure 13) ont été préparés à partir des laits précédents, et les résultats des analyses physicochimiques sont présentés dans le tableau 14.

Il n'y a pas beaucoup d'études ayant porté sur l'étude du Jben de chèvre, il est donc difficile de comparer nos résultats à d'autres. Le pH et l'acidité titrable sont les deux paramètres les moins variables du Jben de manière général (Benkerroum et Tamime., 2004) et on remarque que les valeurs du pH des Jben se rapprochent les unes des autres mais sont inférieures à celle trouvée par Benyagoub et al (2016), quant à l'acidité titrable qui est la quantité d'acide lactique produite, elle varie beaucoup et 5 des 6 Jbens sont plus acides que les valeurs proposées par le même auteur.

Les moyennes de l'acidité titrable sont exprimées en degré Dornic, quant aux taux de protéines et de matière grasse, ils sont présentés en g/100g de fromage.

Tableau 14 : Résultats de l'étude physico-chimiques des Jben de chèvres de la wilaya de Naâma.

Echantillon	Lait d'origine	Origine	pH	Acidité titrable (D°)	Taux protéique (g/100g)	Taux de matière grasse (g/100g)
Valeurs* standards	-	-	5,51 ±0,1*	25,4 ± 40,6*	-	56,12 ± 12,28*
Jben1	E1	Ain Sefra	4,98±0,04	22	18,62±0,39	13
Jben2	E2	Mecheria	4,94±0,17	44	17,81±0,18	10,25
Jben3	E3	El Biodh	4,76±0,017	67.5±6.36	13,25±0,25	8,5
Jben4	E4	Naama	4,87	54	18,63±0,115	11,5
Jben5	E5	Tiout	4,81±0.006	44	17,38±0,06	11,25
Jben6	E6	Assla	5,02±0.07	31.5±4.5	18,97±0.24	12,5

(* Benyagoub et al., 2016)

La teneur en matière grasse et en protéines sont les principaux paramètres de la matière solide du fromage qui varient (Ouadghiri et al., 2005). Le taux de matière grasse varie entre 8,5g/100g de fromage à 13g/100g, ce qui est une grande marge, avec des valeurs plutôt basses par rapport à celle de Benyagoub et al (2016), de même pour le taux protéique qui va de 13,25g/100g de fromage à 18,97g/100g. Ces variations peuvent être dues à la durée de l'égouttage du Jben.

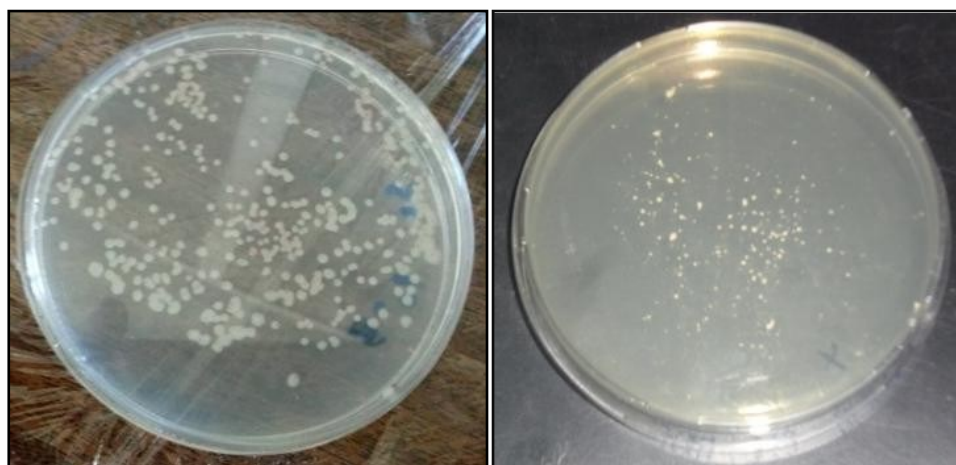
Les variations trouvées dans les paramètres physicochimiques de cette étude reflètent bien le fait que le Jben reste un fromage frais traditionnel aux caractéristiques indéfinies et inconstantes, cela est dû aux méthodes artisanales utilisées pour sa préparation (Salmeron et al., 2002), les caractéristiques physicochimiques des fromages dépendent de celles du lait cru qui dépendent à leur tour de l'espèce et la race des animaux et de l'alimentation (Poznanski et al., 2004).



Figure 13 : Aspect d'un Jben de Naâma préparé par méthode artisanale.

3. Isolement des bactéries lactiques

À l'issue des isolements à partir des 6 échantillons de Jbens de chèvre, 120 isolats ont été purifiés et testés afin de définir la flore lactique du Jben. L'isolement sur gélose MRS acidifié et en condition d'anaérobiose a été plus difficile que sur gélose M17 (Figure 14), très peu de colonies exploitables ont été isolées sur MRS et certaines boîtes de Petri ne contenaient aucun isolat.



Figures 14: Aspect des colonies à l'isolement sur gélose M17 (à gauche) et MRS (à droite)

4. Identifications des isolats

4.1. Pré-identification des isolats

L'examen macroscopique des 120 isolats purifiés a permis de sélectionner ceux présentant des colonies blanchâtres, lisses, à contour régulier et de même taille avec un diamètre de 0,1 à 0,5mm (Figure 15).

À l'issue des observations macroscopiques et microscopique (l'observation à l'état frais et la coloration de Gram) des 120 isolats testés ainsi que des résultats des différents tests effectués, 65 isolats se sont révélés immobiles, Gram positif (Figure 16), catalase, oxydase et nitrate réductase

(Figure 17) négatives, ils ont donc été retenus pour la suite des travaux et présumés être des souches lactiques.

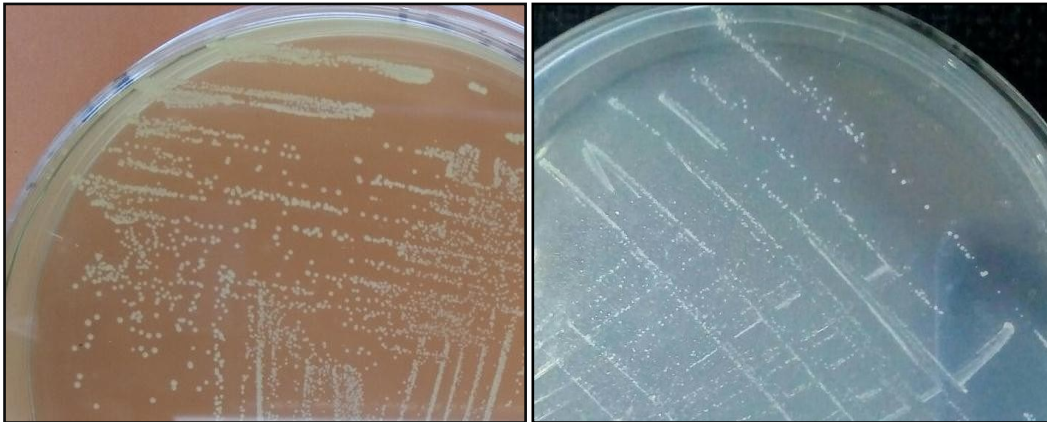


Figure 15 : Aspect macroscopique de deux isolats purifiés sur Milieu solide PCA-Lait
Par ailleurs l'observation microscopique lors de la coloration de Gram des isolats a révélé une dominance de la forme cocci en paire ou en agrégats.

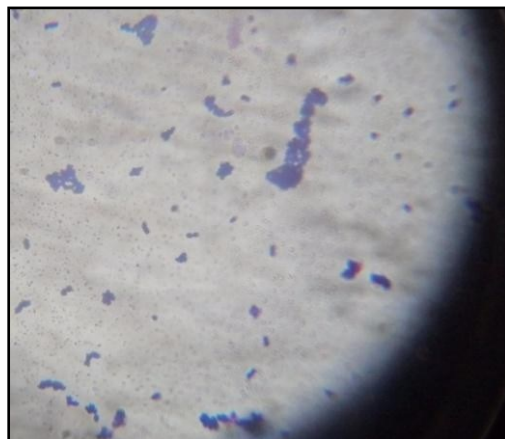


Figure 16 : Observation de la coloration de Gram d'un isolat (résultat positif) au microscope (x100)



Figure 17 : Résultat négatif du test de recherche de la Nitrate réductase pour certains isolats.

Ces premiers résultats montrent que les bactéries lactiques sont dominantes dans la microflore des Jbens de chèvre de la wilaya de Naâma et qu'ils représentent 57,17% des microorganismes isolés des Jbens.

4.2. Identification au MALDI TOF /MS

Une partie des 65 isolats présumés lactiques ont été identifiés au MALDI TOF / MS, les résultats (Tableau 15) ont confirmé leur appartenance aux bactéries lactiques et nous ont permis de connaître la distribution des genres pour les souches identifiées. L'analyse des spectres de masse au MALDI TOF nous a permis d'identifier 36 isolats sur les 46 testées, et nous a montré la présence de 3 genres : *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus*.

La dominance du genre *Enterococcus* a été observée (24 souches) avec un pourcentage de 66.66% partagé sur 4 espèces : *E. durans* (20 souches), *E. faecalis* (2 souches), *E. faecium* (1 souche) et *E. hirae* (1 souche). Il y a une absence totale des genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Pediococcus* parmi les isolats identifiés. On note aussi une présence presque équivalente des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* (6 souches pour chaque genre).

Les genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont représentés uniquement par une espèce chacun avec des proportions équivalentes : *L. lactis* (6 souches) et *Ln. mesenteroïdes* (6 souches) avec un pourcentage de 16.67% chacun.

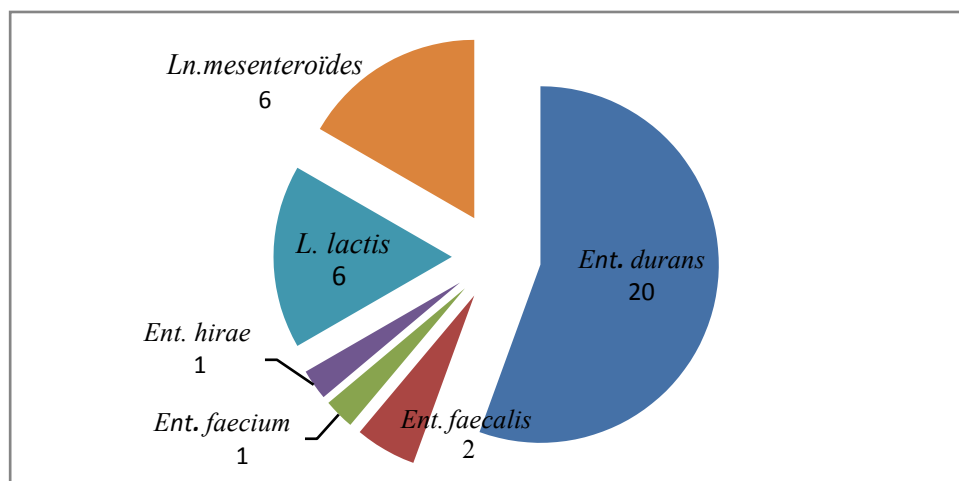


Figure 18: Distribution des espèces de bactéries lactiques identifiées par MALDI TOF MS.

Cette composition (Figure 18) n'est pas évoquée dans la bibliographie car il n'existe pas réellement une étude détaillée sur la composition de la population en bactéries lactiques du Jben de chèvre Algérien, et bien que l'identification n'ait pas concerné tous les isolats obtenus lors des isolements, nous pouvons grâce aux souches identifiées avoir une idée sur la composition de la microflore lactique de ce fromage.

La diversité microbienne de la microflore d'un fromage traditionnel est fortement liée à la composition du lait cru utilisé pour la préparation (Tormo et *al.*, 2011) ainsi que la méthode artisanal suivie et la nature des les outils utilisés (Nacef et *al.*, 2016). Dans notre cas, le lait de chèvre Algérien est dominé par le genre *Enterococcus* (Cheriguene et *al.*, 2007) retrouvé en majorité dans nos Jbens, et les proportions des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* ont aussi été notés dans les travaux de Badis et al (2004a) sur le lait de chèvre de la race Arabia. D'autre part les espèces identifiées dans notre étude ont toutes été retrouvées dans la composition de la microflore lactique du lait de chèvre (Callon et *al.*, 2007).

Quant aux étapes suivies lors de la préparation traditionnelle du fromage, elles ont contribué à enrichir le Jben et lui donner sa flaveur et ses caractéristiques organoleptiques (Montel et *al.*, 2014). La nature du caillé lui-même, les outils utilisés, le chauffage du lait, la présure végétale utilisé, l'absence de sel, l'humidité tout au long du processus de fabrication, ont tous contribué à favorisé la proliférations des espèces retrouvées (Callons et *al.*, 2011).

Les autres facteurs pouvant influencer cette composition sont l'alimentation des chèvres, l'hygiène lors de la traite, et de la préparation du fromage. Les mauvaises conditions d'hygiène aurait pu favoriser le genre *Enterococcus* au détriment du genre *Lactobacillus* (Montel et *al.*, 2014), sans oublier la fermentation spontanée à 16°C du lait de chèvre qui à l'origine est riche en espèces de bactéries lactiques mésophiles qui a pu favoriser ces dernières et inhiber la croissance des genres et espèces thermophiles.

La nature du fromage (frais donc pas d'affinage) a elle-même rendu impossible le développement d'une flore d'affinages riches en différentes espèces heterofermentaires (Tormo et *al.*, 2011).

Tableau 15 : Identification des souches isolées par MALDI-TOF/MS avec le score de chaque souche.

N°	Codes	Identification au MALDI TOF	Nouveaux codes	Scores	N°	Codes	Identification au MALDI TOF	Nouveaux codes	Scores
1	G2	<i>Enterococcus faecalis</i>	Efl JC 1	2.246	19	NH'4	<i>E. durans</i>	Ed JC6	2.189
2	G'3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Lm JC1	2.014	20	NH'10	<i>E. durans</i>	Ed JC7	2.144
3	G''1	<i>E. durans</i>	Ed JC1	2.115	21	RF5	<i>E. durans</i>	Ed JC8	1.911
4	G'3	<i>E. durans</i>	Ed JC2	2.051	22	RF9	<i>E. durans</i>	Ed JC9	2.000
5	H2	<i>Ln. mesenteroides</i>	Lm JC2	1.785	23	RF10	<i>E. durans</i>	Ed JC10	2.195
6	H5	<i>E. durans</i>	Ed JC3	1.909	24	RI1	<i>E. durans</i>	Ed JC11	2.204
7	H''1	<i>E. durans</i>	Ed JC4	1.963	25	RI2	<i>E. durans</i>	Ed JC12	2.197
8	ND2	<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	Lm JC3	2.099	26	RI3	<i>E. durans</i>	Ed JC13	2.232
9	ND3	<i>E. faecium</i>	Ef JC1	2.308	27	RI4	<i>E. durans</i>	Ed JC14	2.189
10	ND6	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	LI JC1	2.089	28	RI8	<i>E. durans</i>	Ed JC15	2.084
11	ND7	<i>Ln. mesenteroides</i>	Lm JC4	1.912	29	RI9	<i>E. durans</i>	Ed JC16	2.235
12	ND8	<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	Lm JC5	2.222	30	WOA3	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	LI JC5	2.042
13	ND9	<i>L. lactis</i>	LI JC2	1.986	31	WUI7	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	LI JC6	1.965
14	ND10	<i>L. lactis</i>	LI JC3	1.813	32	YOL	<i>E. durans</i>	Ed JC17	1.835
15	NE	<i>E. hirae</i>	Eh JC1	2.210	33	YOL2	<i>E. faecalis</i>	Efl JC 2	2.150
16	NF1	<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	Lm JC6	1.834	34	YOL10	<i>E. durans</i>	Ed C18	1.836
17	NF3	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	LI JC4	2.207	35	YOL'	<i>E. durans</i>	Ed C19	1.996
18	NH'3	<i>E. durans</i>	Ed JC5	2.065	36	YOL*1	<i>E. durans</i>	Ed C20	1.981

5. Etude des interactions

5.1. Formation de la communauté

Pour la formation de la communauté bactérienne, seules les 6 souches du genre *Lactococcus* et les 6 souches du genre *Leuconostoc* ont été sélectionnées pour le test de Fleming.

Les résultats du test d'interactions entre les 12 souches testées (Figure 19) présentés dans le tableau 16, montrent qu'il y a bien inhibition entre certaines souches même faisant partie de la même espèce. Seules deux souches LIJC1 (*Lactococcus lactis* JC1) et LmJC3 (*Leuconostoc mesenteroides* JC3) n'inhibent aucune souche ni ne sont inhibées par les autres souches testées. D'un autre côté nous avons deux autres souches (LIJC3 et LIJC5) qui inhibent presque toutes les autres souches (sauf LIJC1 et LmJC3). Ces deux souches ne sont pas qualifiées pour faire partie d'une communauté bactérienne ni pour faire partie d'un ferment lactique.

Certaines souches s'inhibent réciproquement qu'elles soient de la même espèce (LIJC3/LIJC4 ; LIJC3/LIJC4 et LIJC4/LIJC5) ou d'espèces différentes (LmJC4/LIJC5). Les Lactocoques semblent être les plus inhibiteurs.

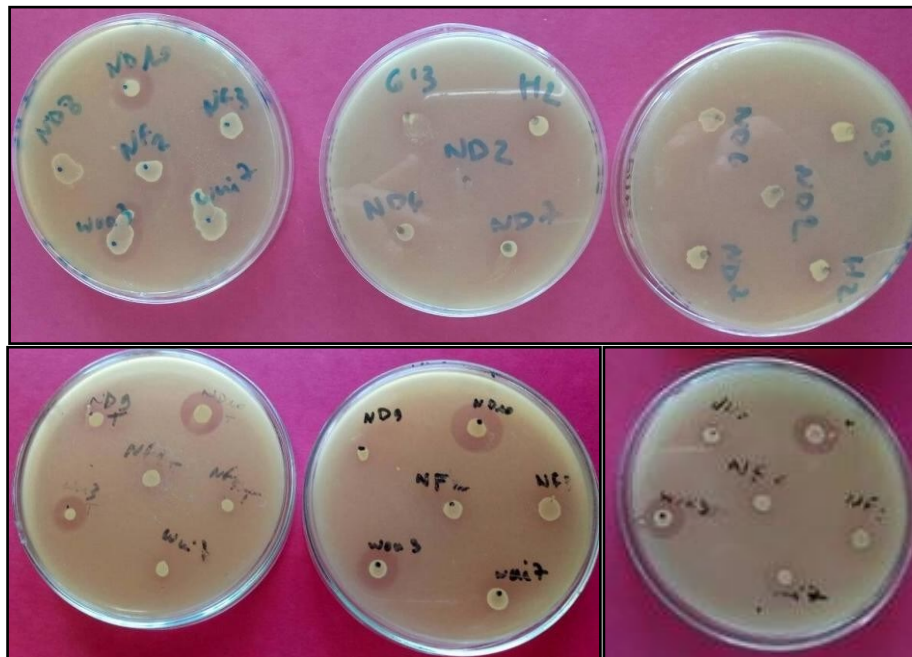


Figure 19 : Quelques résultats des interactions des 12 souches identifiées : *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides*.

Tableau 16 : Résultats des interactions entre les 12 souches testées.

souches indicatrices	Les souches inhibitrices											
	LmJC1	LmJC2	LmJC3	LIJC1	LmJC4	LmJC5	LIJC2	LIJC3	LmJC6	LIJC4	LIJC5	LIJC6
LmJC1	NT	0,49 (0,02)	0	0	0	0	0,34 (0,07)	3,0 (0,7)	0,4 (0,05)	0,36 (0,21)	2,96 (0,55)	0,2 (0,28)
LmJC2	0,1 (0,14)	NT	0	0	0	0	1,75 (0,35)	4,5	0,5	0,5	4	0
LmJC3	0	0	NT	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LIJC1	0	0	0	NT	0	0	0	0	0	0	0	0
LmJC4	0	0	0	0	NT	0	0	6,08 (0,82)	0	0	3,11 (0,97)	1,00 (0,71)
LmJC5	0	0,46 (0,05)	0	0	0,35 (0,21)	NT	0,25 (0,35)	2,5 (3,53)	0,25 (0,35)	0,25 (0,35)	0,9	0,25 (0,35)
LIJC2	0,35 (0,21)	0,47 (0,47)	0	0	0,11 (0,04)	0,41 (0,12)	NT	3,55 (0,77)	0	0	3,81 (0,26)	0,33 (0,21)
LIJC3	0	0,39 (0,06)	0	0	0,37 (0,09)	0,43 (0,09)	0	NT	0	0,58 (0,22)	1,7 (1,7)	0,37 (0,07)
LmJC6	0,66 (0,05)	0,3 (0,28)	0	0	0,96 (0,12)	0,23 (0,32)	0,13 (0,18)	6,1 (1,4)	NT	0	2,23 (0,75)	0,19 (0,01)
LIJC4	0	1,9	0	0	0	0	0	5,51 (0,8)	0	NT	2,08 (0,27)	0
LIJC5	0,50 (0,50)	0,46 (0,16)	0	0	2,05 (0,78)	0,57 (0,1)	0,54 (0,05)	5,51	0,04 (0,08)	0,64 (0,2)	NT	0,23 (0,1)
LIJC6	0,15 (0,2)	0,17 (0,2)	0	0	0,17 (0,3)	0,44 (0,08)	0,72 (0,5)	5,51	0,37 (0,1)	0,29 (0,1)	1,81 (0,7)	NT

■ : Inhibition; ■ : Résultats variable (dans la limite seuil); ■ : (NT) Interaction non testée.

Le choix des souches pour former une communauté microbienne s'est basé sur deux critères : d'abord un score d'identification au MALDI TOF / MS élevé (plus de 2.0), ensuite ne présentant aucune inhibition par rapport aux autres souches sélectionnées. La communauté choisie comporte donc 3 différentes souches de *Lactococcus lactis* (LIJC1, LIJC2 et LIJC4) et 3 autres souches différentes de *Leuconostoc mesenteroides* : (LmJC1, LmJC3 et LmJC5).

5.2.Étude des inhibitions dans la communauté

Les inhibitions au sein de la communauté ont été testées par la méthode Fleming. Comme on peut l'observer dans la figure 20, il n'y a aucune zone d'inhibition, la croissance de chaque souche testée comme indicatrice n'est pas inhibée par le reste de la communauté en culture mixte. Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas d'inhibition entre les souches au sein de la communauté.

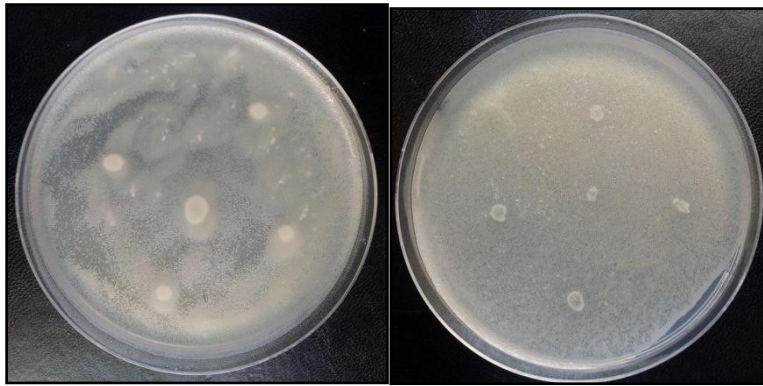


Figure 20 : Quelques résultats des interactions communauté - souche.

6. Choix des ferments

Le choix des ferments s'est fait selon le même principe que le choix des souches pour la communauté, à savoir des souches avec un score d'identification élevés et ne présentant pas des inhibitions de croissance entre elles. Elles ont d'ailleurs été choisies parmi les souches qui composent la communauté. Ajouté à cela, les recommandations des professionnels de la fromagerie et des règles d'usages dans ce domaine : chaque ferment pour fromage frais est constitué de deux souches mésophiles : à 80 % par un *Lactococcus* et 20 % par un *Leuconostoc*.

Le seul point proposé par nous a été d'associer une souche productrice d'acétoïne à une autre non productrice, ce qui nous a donné 5 ferments qui sont les suivants :

Tableau 17 : Liste des ferments et leurs compositions en souches lactiques.

F1	LmJC1 + LIJC4
F2	LmJC1 + LIJC2
F3	LmJC1 + LIJC1
F4	LmJC3 + LIJC4
F5	LmJC5 + LIJC4

7. Aptitudes technologiques

Les aptitudes technologiques des 65 souches ont été tests, ainsi que ceux de la communauté et des cinq ferments proposés. Les résultats des souches composants la communauté sont présentés dans les mêmes tableaux que cette dernière afin de comparer les données.

7.1. Production d'acétoïne

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques à partir de différents substrats qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Cholet, 2006), dont l'acétoïne responsable du goût du beurre.

Pour le test de production d'acétoïne on a noté 3 observations (Tableau 18) : la présence de souches productrices d'acétoïne, la présence de souche négative à cette production et de des souches ayant des résultats variables.

Parmi les 65 isolats et souches testés (Figure 21), seulement 23 sont producteurs d'acétoïne (et donc 42 souches ou isolats négatifs à ce test). Pour les souches identifiées et positives à la production d'acétoïne, on note : 12 *Enterococcus durans*; 1 *E. hirae*; 1 *E. faecium*; 3 *Lactococcus lactis* et 1 *Leuconostoc mesenteroides*.

Il y a 3 souches présentant des résultats d'abord positifs à la formation de ce composé aromatique, ensuite négatifs lors du test avec la communauté et les ferments.

Les résultats positifs à ce test sont assez attendus, car l'espèce *Lactococcus lactis* ainsi que beaucoup de souches *Leuconostoc mesenteroides* sont naturellement productrices d'acétoïne et cela dès le début de l'acidification (Corrieu et Luquet, 2008).

Quant aux résultats négatifs, ils sont en accord avec ceux de Badis et al (2005) et Hansal (2015), en effet même si l'espèce *Leuconostoc mesenteroides* est capable de métaboliser le citrate ainsi que d'autres sucres fermentescibles, beaucoup de souches ne sont pas productrices d'acétoïne pour autant (Hegazi et Abo-Elnaga, 1980; cités dans Hansal, 2015).

Pour les souches *Lactococcus lactis* ainsi qu'aux isolats lactiques présentant des résultats négatifs, plusieurs explications sont possible: - par rapport à la voie de biosynthèse de l'acétoïne par décarboxylation non oxydative de l' α -acétolactate, il est possible d'avoir des souches naturellement déficientes en α -acétolactate décarboxylase (Monnet et al., 1994) qui d'une part a une faible affinité au substrat (l' α -acétolactate) et d'une autre part est codée par un gène faisant partie de l'Opéron responsable de la biosynthèse des acides aminés branchés (Leucine, Isoleucine et Valine) (Goupil-Feuillerat et al., 1997), cela est dû à l'adaptation des lactocoques au lait qui aura engendré l'extinction de l'expression des gènes responsable de cette biosynthèse (Godon et al., 1993).

Tableau 18 : Résultats du test de production d'acétoïne des isolats et des souches identifiées.

N°	Isolats/ souches	acétoïne	N°	Isolats/ Souches	acétoïne	N°	Isolats/ souches	acétoïne
1	Efl JC 1	-	23	LI JC4	+	45	Ed JC15	+
2	Lm JC1	+	24	NH'1	-	46	Ed JC16	+
3	Ed JC1	+	25	NH'2	-	47	RI10	+
4	Ed JC2	-	26	Ed JC5	-	48	RM1	-
5	Lm JC2	-	27	Ed JC6	+	49	RM2	-
6	Ed JC3	-	28	NH'8	-	50	RM4	+
7	H'1	+	29	NH'9	-	51	RM6	-
8	Ed JC4	+	30	Ed JC7	+	52	RM7	-
9	H''3	-	31	RF1	-	53	LI JC5	+
10	H''7	-	32	RF2	-	54	WOA6	-
11	LmJC3	v	33	RF3	-	55	WOA7	-
12	EfJC1	-	34	RF4	-	56	WUI5	-
13	ND4	-	35	EdJC8	+	57	LIJC6	-
14	ND5	-	36	RF8	-	58	EdJC17	-
15	LIJC1	v	37	EdJC9	+	59	Yol	-
16	LmJC4	-	38	EdJC10	+	60	EfJC2	+
17	LmJC5	-	39	EdJC11	+	61	Yol3	-
18	LIJC2	v	40	EdJC12	-	62	Yol9	-
19	LIJC3	+	41	EdJC13	+	63	EdJC18	-
20	EhJC1	+	42	EdJC14	-	64	EdJC19	+
21	LmJC6	+	43	RI5	+	65	EdJC20	-
22	NF2	-	44	RI6	-			

+ : Production d'acétoïne; - : pas de production d'acétoïne.

- Quant à la voie de synthèse de l'acétoïne à partir du diacétyl, l'activité de l'enzyme diacétyl/acétoïne déshydrogénase est fortement inhibée par l'activité lactate déshydrogénase (LDH), cette dernière est en compétition avec la NADH oxydase (NOX) et vis-à-vis du NADH, et pour certaines souches à haute concentration d'activité LDH, il y a une baisse voire un arrêt de la production de l'acétoïne car il y aura baisse de l'activité NOX (Roncal et *al.*, 2016).

Les souches ayant un résultat changeant ont peut-être tout simplement perdu cette activité et sont devenues non productrices d'acétoïne.



Figure 21 : Observation de quelques résultats du test de production d’acétoïne sur lait 0% pour les isolats et souches identifiées.

On observe que la communauté ainsi que les ferments (Tableau 19) sont tous négatifs à la production d’acétoïne, ce qui prouve que la coopération attendue entre une souche productrice d’arôme et une autre déficiente pour cette activité (Kieronczyk et *al.*, 2003) n’a pas eu lieu, il y a même eu inhibition de ce pouvoir. Donc les interactions dans ce cas précis ont été négatives au sein de la communauté et même au niveau des ferments.

Tableau 19 : Résultat du test de production d’acétoïne de la communauté, des ferments et des souches qui les composent

N°	Souches testées	Acétoïne	N°	Souches testées	Acétoïne
1	Lm JC1	+	7	COM	-
2	Lm JC3	v	8	F1 : LmJC1 + LIJC4	-
3	LI JC1	v	9	F2 : LmJC1 + LIJC2	-
4	Lm JC5	-	10	F3 : LmJC1 + LIJC1	-
5	LI JC2	v	11	F4 : LmJC3 + LIJC4	-
6	LI JC4	+	12	F5 : LmJC5 + LIJC4	-

COM : communauté des 6 souches de bactéries lactiques.

7.2. Activité lipolytique

En ce qui concerne le test de lipolyse sur milieu aux triglycérides, les isolats testés sont tous négatifs (Figure 22), il n’y a ni zone claire ni dépôt autour des biomasses même après 72 h d’incubation à 30 °C. Ce résultat était attendu vu la faible affinité des lipases estérases des bactéries lactiques envers les triglycérides (Holland et *al.*, 2005).

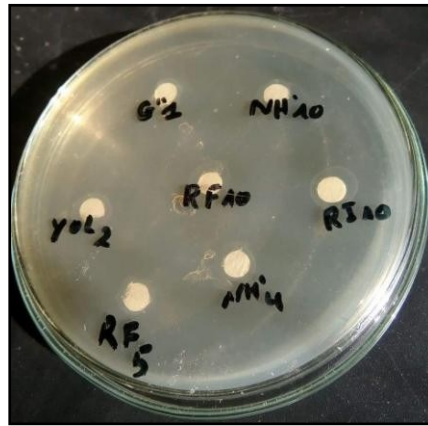


Figure 22 : Résultat de l'activité protéolytique pour les isolats sur milieu aux triglycérides.

En ce qui concerne le test des 6 souches, la communauté et les ferments testés sur milieu MRS-Tween 80, les résultats sont différents (Tableau 20)

Bien que l'on n'ait pas réussi à homogénéiser le milieu, il y a eu un résultat positif pour la souche LIJC2, ainsi que 4 ferments pour l'activité lipolytique, observé par une zone claire très étroite et un dépôt des blancs autour des biomasses. Quant à la communauté, un résultat négatif a été observé (Figure 23).

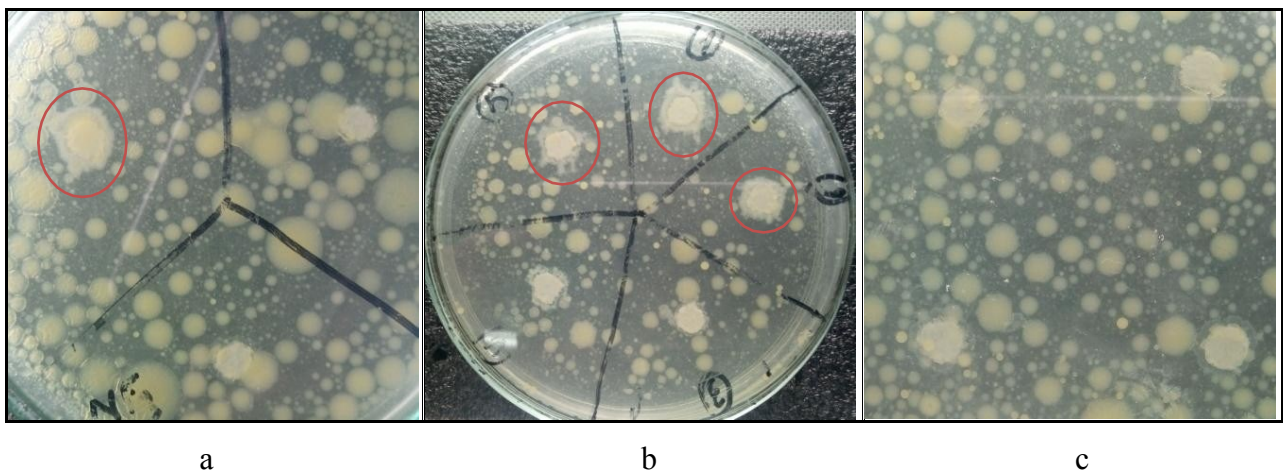


Figure 23 : Observation de l'activité lipolytique; a : les souches; b : les ferments; c : la communauté.

Les bactéries lactiques sont très peu lipolytiques dû au fait que leurs estérases ont une forte affinité et parfois une spécificité à un substrat donné (Corrieu et Luquet, 2008), cela pourrait expliquer le résultat positif de la souche LIJC2 qui a pu manifester son activité dans ce milieu précis.

On remarque qu'il y a eu une coopération mutuelle entre les souches dans les ferments 1, 4 et 5 car leurs interactions ont permis d'exprimer une lipolyse du milieu, on peut noter aussi que ces

3 ferments contiennent la souche LIJC4 qui pourrait avoir un rôle important dans cette coopération. Le seul ferment à ne pas avoir exprimé cette activité lipolytique (F3) ne contenait pas cette souche. Pour le ferment F2 qui contenait une souche lipolytique, il n'y a pas eu inhibition de cette activité, la souche LIJC2 a pu manifester sa lipolyse sur ce milieu.

En ce qui concerne la communauté il y a eu une inhibition de la lipolyse de la souche LIJC2, les interactions négatives entre les 6 souches ont bloqué cette activité pourtant très visibles pour les ferments.

Tableau 20 : Résultats du test de lipolyse pour les ferments, la communauté et les souches qui les composent

N°	Souches testées	Dépôt+ zone claire
1	Lm JC1	-
2	Lm JC3	-
3	LI JC1	-
4	Lm JC5	-
5	LI JC2	+
6	LI JC4	-
7	COM	-
8	F1 : LmJC1 + LIJC4	+
9	F2 : LmJC1 + LIJC2	+
10	F3 : LmJC1 + LIJC1	-
11	F4 : LmJC3 + LIJC4	+
12	F5 : LmJC5 + LIJC4	+

7.3. Activité protéolytique

La protéolyse se traduit par l'apparition d'un halo claire dû à la dégradation de la caséine du lait autour des souchesensemencées sur le milieu après 24 h d'incubation. On remarque aussi un anneau blanc autour des colonies, ce qui représente la précipitation des caséines du lait à l'issue de la baisse du pH.

7.3.1. Activité protéolytique des isolats

Les résultats de l'activité protéolytique à 2 % de lait de toutes les souches ainsi que les isolats non identifiés sont résumés dans le tableau 21.

Les résultats observés (Figure 24) et représentés dans la figure 25, sont en accord avec ceux de Addi (2017) qui permettent de classer nos isolats et souches en 4 groupes : isolats non protéolytiques (avec un résultat négatif), peu protéolytique (moins de 5 mm de diamètre), moyennement protéolytique (entre 5 et 15mm) et hautement protéolytiques (plus de 15 mm).

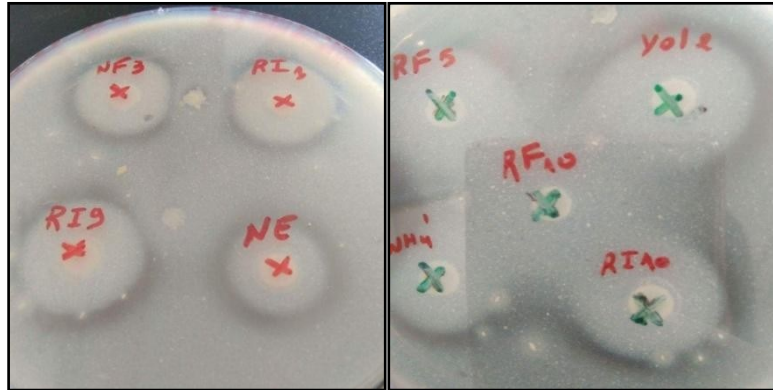


Figure 24 : Observations des diamètres de zones de lyse de certains isolats sur milieu PCA-lait à 2%

Selon vuillemand (1986), la souche est dite protéolytique (Bonne protéolyse en fromagerie) si elle présente une zone de lyse de diamètre comprise entre 5 et 15 mm, au-delà il y aurait un risque pour la qualité du produit fini.

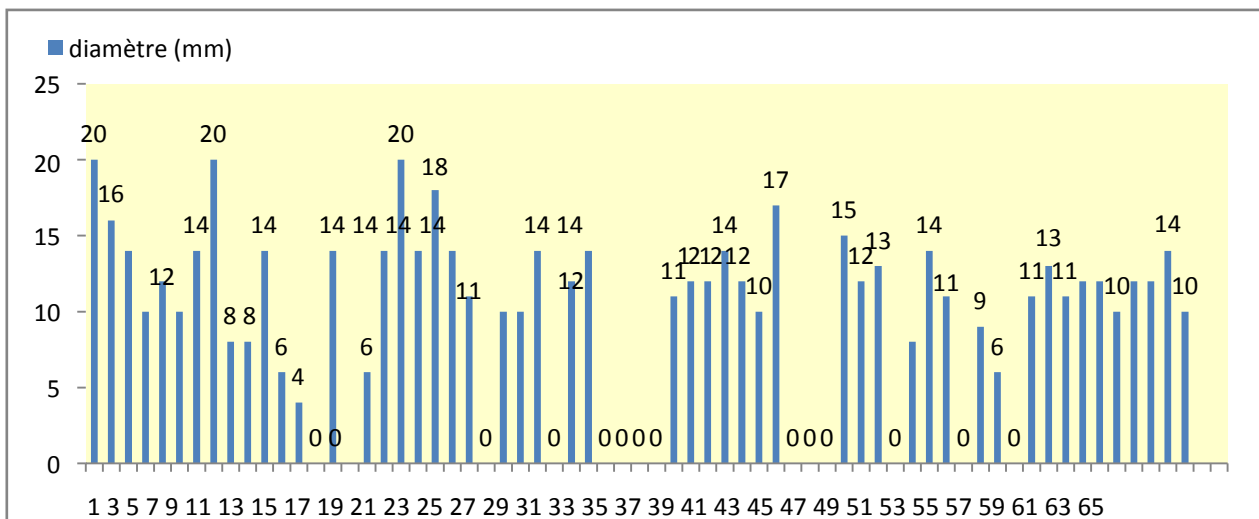


Figure 25 : Représentation des diamètres de lyse des souches lactiques après 24 heures d'incubation à 2 % de poudre de lait rajouté.

Tableau 21 : Résultats de diamètres des zones de lyse de tous les isolats et les souches testés sur milieu PCA lait à 2% (diamètre des zones de lyse en mm).

N°	Isolats/ souches	Diamètre de la zone de lyse	N°	Isolats/ souches	Diamètre de la zone de lyse	N°	Isolats/ souches	Diamètre de la zone de lyse
1	Efl JC 1	20	23	LI JC4	11	45	Ed JC15	15
2	Lm JC1	16	24	NH'1	-	46	Ed JC16	12
3	Ed JC1	14	25	NH'2	10	47	RI10	13
4	Ed JC2	10	26	Ed JC5	10	48	RM1	-
5	Lm JC2	12	27	Ed JC6	14	49	RM2	8
6	Ed JC3	10	28	NH'8	-	50	RM4	14
7	H'1	14	29	NH'9	12	51	RM6	11
8	Ed JC4	20	30	Ed JC7	14	52	RM7	-
9	H'3	8	31	RF1	-	53	LI JC5	9
10	H'7	8	32	RF2	-	54	WOA6	6
11	LmJC3	14	33	RF3	-	55	WOA7	-
12	EfJC1	6	34	RF4	-	56	WUI5	11
13	ND4	4	35	EdJC8	11	57	LIJC6	13
14	ND5	-	36	RF8	12	58	EdJC17	11
15	LIJC1	14	37	EdJC9	12	59	Yol	12
16	LmJC4	-	38	EdJC10	14	60	EfJC2	12
17	LmJC5	6	39	EdJC11	12	61	Yol3	10
18	LIJC2	14	40	EdJC12	10	62	Yol9	12
19	LIJC3	20	41	EdJC13	17	63	EdJC18	12
20	EhJC1	14	42	EdJC14	-	64	EdJC19	14
21	LmJC6	18	43	RI5	-	65	EdJC20	10
22	NF2	14	44	RI6	-			

- : résultat négatif, pas de protéolyse.

7.3.2. Activité protéolytique de la communauté et de ses souches

L'activité protéolytique des souches étudiées et de la communauté s'est manifestée par l'apparition de zones claires de protéolyse autour des disques, comme il est possible de l'observer dans la figure 26.

Les résultats de l'activité protéolytique des souches et de la communauté après 24 heures d'incubation sont résumés dans le tableau 22 et représentés graphiquement dans la figure 27.

Il en ressort que toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique se situant en moyenne entre 11,18 mm et 15,15 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à différents pourcentage de poudre de lait rajouté.

Le diamètre des zones de lyse augmente avec le temps et diminue avec le pourcentage de lait rajouté pour chaque souche ainsi que pour la communauté.

Toutes les souches ainsi que la communauté ont une activité protéolytique, appréciable et utile en industrie fromagère se situant dans un intervalle acceptable (Dahou, 2017). La souche la plus performante est: LIJC2 (du genre *Lactococcus*) et celle ayant les diamètres de zone de lyse les plus bas est LmJC5 (du genre *Leuconostoc*). La communauté arrive presque toujours avant dernière dans le classement des diamètres mais présentant des résultats dans la moyenne.

Tableau 22 : Moyennes des moindres carrées des diamètres de lyse chez les souches étudiées isolément et en communauté après 24 heures.

Souches	Pourcentages de poudre de lait rajoutée					
	1%	2%	4%	5%	8%	Moyenne
LmJC1	16,82 ^{aA} (0,94)	14,26 ^{bA} (0,11)	13,53 ^{bcAB} (1,21)	12,73 ^{bcAB} (1,79)	11,85 ^{cA} (0,28)	13,83 ^{ABC} (1,96)
LmJC3	16,42 ^{aA} (5,71)	15,03 ^{aA} (6,88)	14,90 ^{aA} (2,32)	14,05 ^{aA} (5,11)	12,33 ^{aA} (2,3)	14,52 ^{AB} (4,34)
LIJC1	15,43 ^{aA} (2,20)	14,24 ^{abA} (1,11)	12,64 ^{abAB} (1,66)	11,83 ^{bAB} (2,38)	11,38 ^{bA} (1,77)	13,10 ^{BC} (2,28)
LmJC5	13,55 ^{aA} (1,77)	12,10 ^{abA} (1,99)	10,10 ^{abB} (1,58)	9,39 ^{bB} (2,10)	8,48 ^{bB} (1,95)	11,18 ^D (2,48)
LIJC2	16,89 ^{aA} (2,07)	16,30 ^{abA} (1,86)	15,40 ^{abA} (0,95)	13,65 ^{abAB} (1,05)	13,00 ^{bA} (1,54)	15,15 ^A (2,05)
LIJC4	17,64 ^{aA} (0,22)	15,52 ^{abA} (1,28)	12,80 ^{bAB} (3,88)	12,22 ^{bAB} (1,54)	11,85 ^{bA} (0,79)	14,00 ^{ABC} (2,85)
COM	15,95 ^{aA} (0,46)	12,65 ^{bA} (0,32)	12,16 ^{bcAB} (0,12)	11,20 ^{cdAB} (1,14)	11,02 ^{dA} (0,35)	12,59 ^{CD} (1,91)

a, b,c,d : les lettres différentes sur la même ligne indiquent des différences significatives au seuil de 5% ; A,B,C,D : les lettres différentes sur la même colonne indiquent des différences significatives au seuil de 5%, les valeurs entre parenthèses sont les écart-types ; n=3.

Selon Flambart et al (1997) dans ce type de situation (mélange de plusieurs souches dans un fromage), il y a deux types d'interactions, d'abord la compétition pour les acides aminés libres entre les différentes souches jusqu'à leur épuisement, puis s'installe des interactions de commensalisme, où les souches moins protéolytiques profitent de l'activité des souches performantes pour subvenir à leur besoin en substrat azoté. Cela conduit à faire travailler les souches fortement protéolytiques de manière plus intense (toujours à cause du phénomène de compétition), néanmoins dans notre cas, on observe aussi le fait que les diamètres de zones de lyses de la communauté tirent vers de basses valeurs et n'atteignent jamais les diamètres des souches performantes, cela indique qu'il y a eu un

mécanisme de régulation qui lui a été défavorable, probablement une autre interaction négative (inconnu à ce stade) qui a diminué l'activité protéolytique.

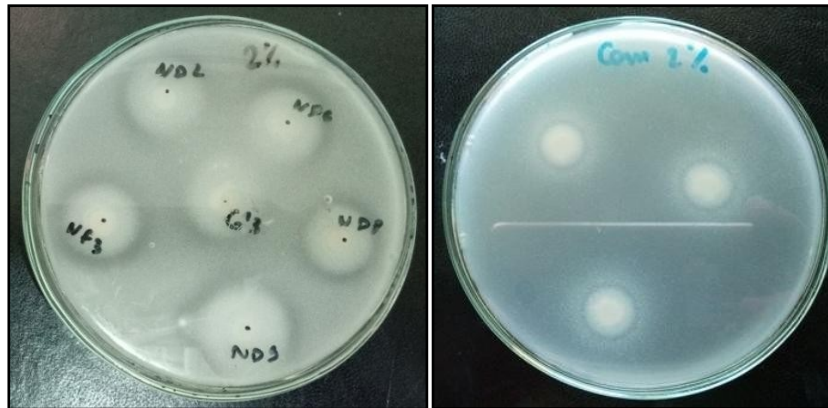


Figure 26: Observations des diamètres de zones de lyse des souches (à gauche) et de la communauté (à droite) sur milieu PCA-lait à 2%.

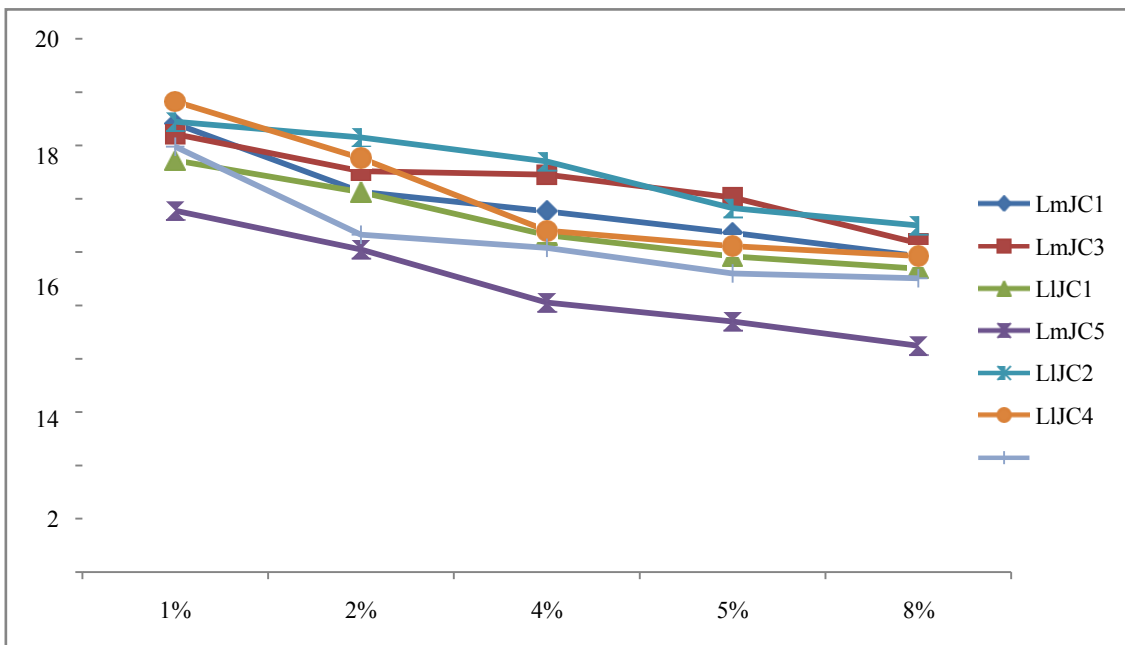


Figure 27 : Variation de l'activité protéolytique (révélé par le diamètre de lyse) des souches lactiques et de la communauté après 24 heures d'incubation et en fonction du pourcentage de poudre de lait rajoutée.

7.3.3. Activité protéolytique des ferments

Les diamètres de zones de lyse de l'activité protéolytique des ferments (Figure 28) après une incubation de 24 h, sont présentés dans le tableau 23 et représentés graphiquement dans la figure 29, (les diamètres à 4% de poudre de lait ajoutée n'ont pas été mesurés).

Les diamètres des zones de lyses provoquées par les ferments sont plus grands que ceux produits par la communauté et au-dessus des moyennes entre les 2 souches qui ferment chaque ferment.



Figure 28: Observations des diamètres de zones de lyse des ferments sur milieu PCA-lait à 5% et 10%.

Il ne semble pas y avoir d'interactions négatives au sein des 5 ferments comme cela a été le cas pour la communauté. Les 5 ferments présentent une bonne activité protéolytique, compatible avec celle requise en fromagerie, ils sont donc (en se basant uniquement sur la protéolyse) utilisables pour la production de plusieurs types de fromages, car cette activité est visible même à 10%.

Tableau 23 : Diamètres (mm) des zones de lyse des ferments après 24 h d'incubation

Ferments	Pourcentages de poudre de lait rajoutée					Moyenne
	1%	2%	5%	8%	10%	
F1 : LmJC1 + LIJC4	18,74	15,42	11,60	12,75	13,64	14,43 (2,78)
F2 : LmJC1 + LIJC2	19,90	19,35	15,37	14,33	14,30	16,65 (2,76)
F3 : LmJC1 + LIJC1	16,00	14,65	14,73	12,69	15,89	14,79 (1,33)
F4 : LmJC3 + LIJC4	16,19	14,26	13,99	10,96	15,90	14,26 (2,08)
F5 : LmJC5 + LIJC4	15,75	15,43	15,48	11,51	15,91	14,82 (1,86)

Les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

Les ferments F1, 2, 3 et 4 sont une combinaison de deux souches très protéolytiques, quant au ferment F5 il est composé d'une souche très protéolytique et de la souche la moins performante pour cette activité. Ces deux combinaisons n'ont pas présentés une baisse de l'activité protéolytique, bien au contraire elle s'en retrouve stimulée surtout pour les ferments F1, 2 et 3, probablement à cause de l'absence de commensalisme (il n'y a pas un déséquilibre entre les activités protéolytiques des deux souches des ferments).

Les ferments F4 et 5 ont une activité protéolytique un peu plus faible : F4 pourtant composé de 2 souches très protéolytiques et F5 d'une souche performante et d'une autre un peu moins performante, probablement dû à la compétition qui est quand même présente pour les souches de tous les ferments.

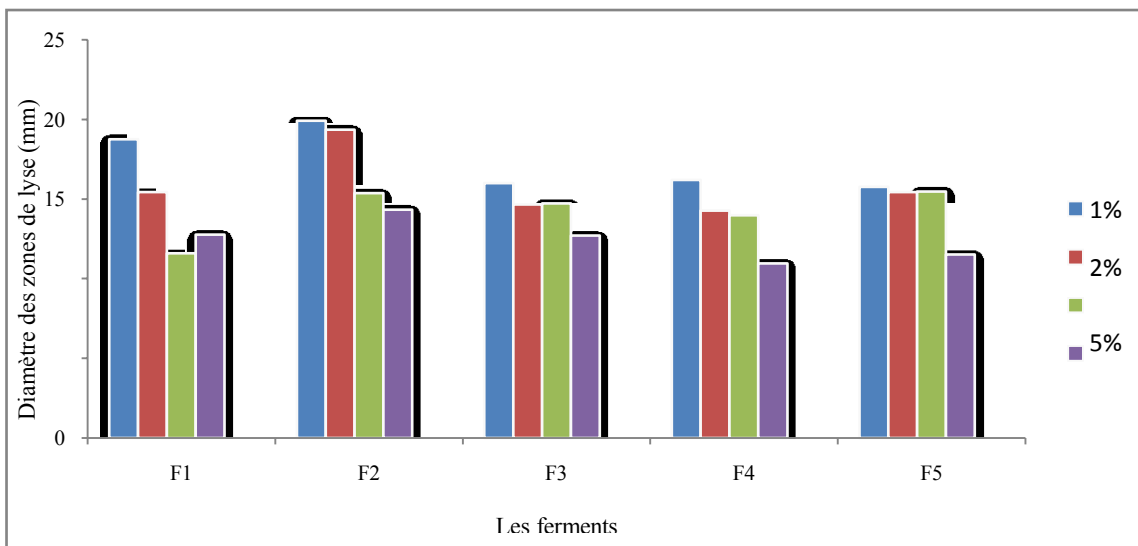


Figure 29 : Variation des diamètres de lysés des ferments en fonction du pourcentage de poudre de lait ajoutée, après 24 heures d'incubation.

7.4. Le pouvoir acidifiant

L'un des critères technologiques les plus importants chez les bactéries lactiques, est leur cinétique de production d'acide lactique, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. On comprend donc que l'activité acidifiante soit le critère déterminant de sélection des bactéries lactiques (Hassaine, 2013).

7.4.1. Pouvoir acidifiant de certaines souches

L'activité acidifiante des 6 souches lactiques (3 *Lactococcus* et 3 *Leuconostoc*) qui ne compose ni la communauté ni les ferments, est suivie par la mesure de l'évolution du pH et de

l'acidité Dornic en fonction du temps. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 24 et représentés graphiquement dans les figures 30 et 31.

Cinq souches parmi celles testées (LmJC2, LmJC4, LljC3, LmJC6 et LljC6) sont lentes par rapport à leur activité d'acidification car elle n'ont pas atteint le pH 5 après 6 heures d'incubation à 30°C (Huggins et Sandine, 1984; Hassaine *et al.*, 2007) et leurs vitesses maximales d'acidification (Δ pH) après 24 heures se situent entre 1,38 et 1,71 unités pH. Quant à leur production d'acide lactique, elle est assez basse (de 36 à 57 degrés Dornic). Pour les souches *Leuconostoc mesenteroides* LmJC4 et LmJC6, on peut les considérer comme moyennement acidifiantes, car leur vitesses d'acidification (Δ pH) sont respectivement de 1.65 et 1.71 unité pH (Hassaine *et al.*, 2007) et ont atteint un pH de 4.93 et 4.9 après 24 heures d'incubation à 30°C.

Tableau 24 : Variations des mesures de pH et d'acidité titrable des souches au cours du temps.

	LmJC2		Lm JC4		LljC3		LmJC6		LljC5		LljC6		T neg	
	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°
0h	6,65 (0,015)	16	6,58 (0,006)	21	6,61 (0,01)	20	6,61 (0,006)	19	6,67 (0,015)	16	6,66 (0,01)	17,75	6,74 (0,006)	16
2h	6,49 (0,01)	22	6,5 (0,01)	21	6,44 (0,006)	22,5	6,4 (0,02)	24,5	6,48 (0,015)	21,5	6,58 (0,015)	23,5	6,72 (0,006)	16
4h	6,24 (0,006)	24	6,23 (0,026)	23	6,24 (0,01)	25	6,1 (0,006)	31	5,74 (0,01)	29	6,35 (0,01)	23,5	6,71 (0,01)	17
6h	6,14 (0,01)	26,5	6,05 (0,006)	26	6,19 (0,02)	26	5,92 (0,01)	36,5	5,15 (0,006)	46	6,24 0	24	6,71 (0,01)	17
24h	5,27 (0,01)	52	4,93 (0,006)	57	5,19 (0,01)	53	4,9 0	57	4,05 0	124	5,19 (0,01)	36	6,32 (0,01)	19

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types. D° : degrés Dornic.

La souche LljC5 a une bonne activité d'acidification, elle est la seule à atteindre un pH 5.15 après 6 heures d'incubations à 30°C et avoir une vitesse (Δ pH 24h) de 2,62 unités pH; et sa densité Dornic atteint 124 degrés Dornic après 24 h d'incubation. Avec de bons résultats au test d'interactions elle est une bonne candidate pour faire partie d'un ferment (basé sur son activité acidifiante). Elle aurait pu être choisie pour faire partie du microcosme choisi (la communauté étudiée) si son score d'identification au MALDI TOF /MS était plus élevé.

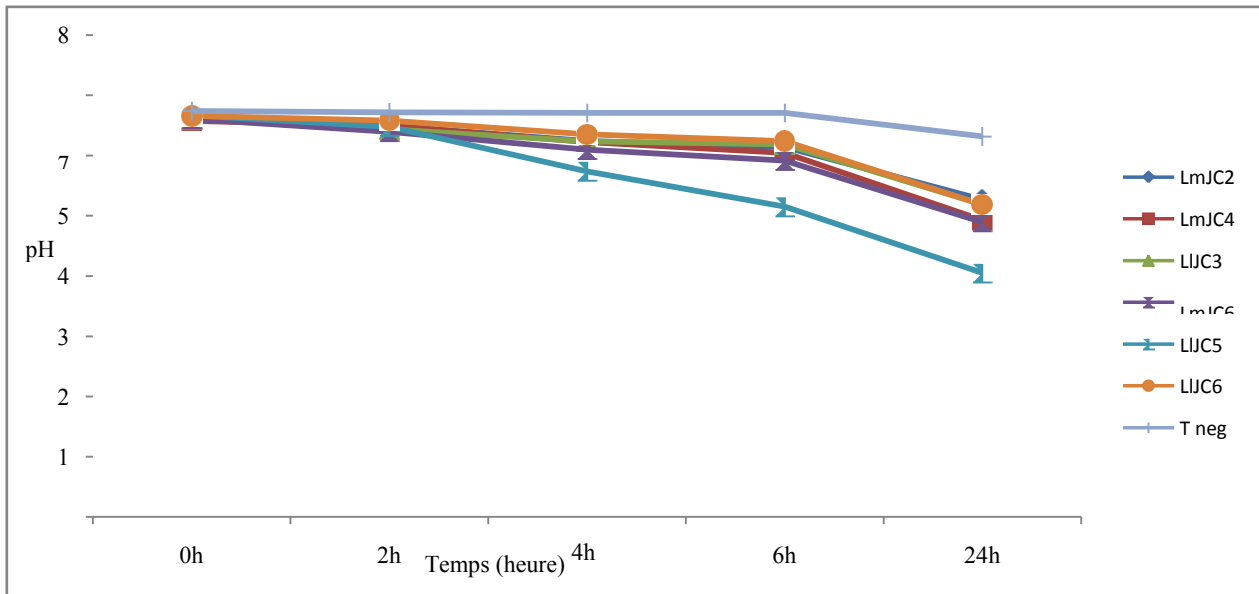


Figure 30 : Évolution du pH des 6 souches testées au cours du temps.

Il faut prendre en considération le fait qu'il y a plusieurs paramètres qui influencent la vitesse d'acidification d'une souche : surtout la croissance de la souche et les phénomènes complexes qu'elle engendre, ses capacités glycolytiques intrinsèques ainsi que le pouvoir tampon du milieu. La vitesse de production du lactate n'influe que faiblement sur le pouvoir acidifiant car un même flux glycolytique peut conduire à des valeurs d'acidification variables (Raynaud, 2006), la production d'acides organiques par la souche contribue aussi à l'abaissement du pH (Corsetti et *al.*, 2001).

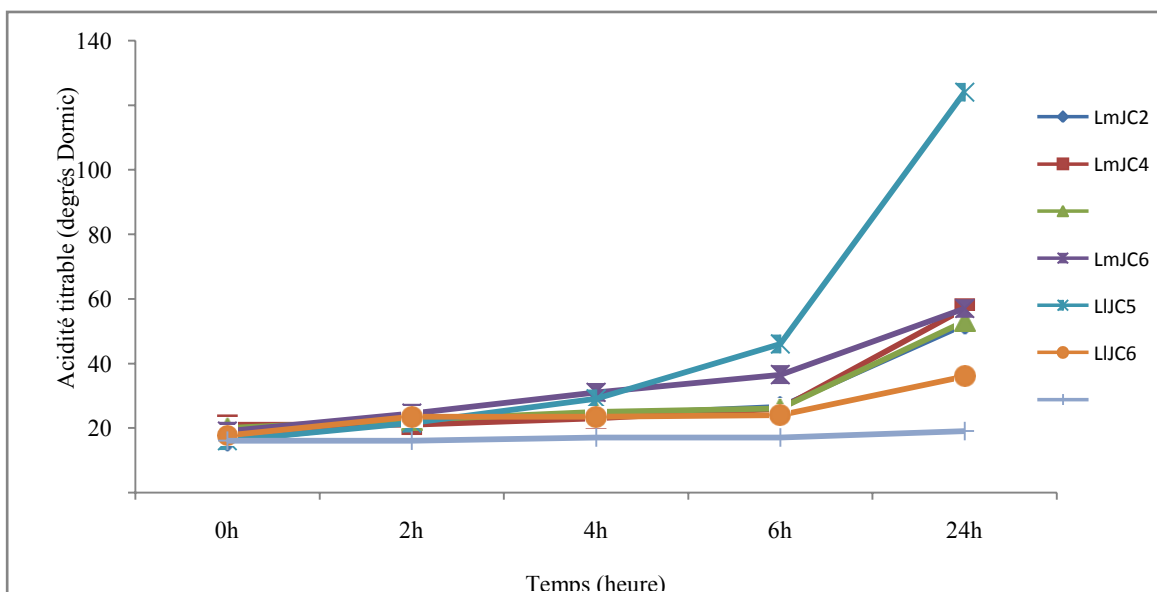


Figure 31 : Évolution de l'acidité titrable des 6 souches testées au cours du temps.

7.4.2. Pouvoir acidifiant de la communauté et de ses souches

L'évolution du pH ainsi que l'acidité Dornic de la communauté et des souches lactiques qui la composent, durant 20 heures d'incubation à 30°C, sont présentés dans les tableaux 25 et 26, et sont représentées graphiquement dans les figures 32 et 33.

Parmi souches testées, 5 présentent une activité d'acidification lente (LmJC1, LmJC3, LIJC1, LIJC2 et LIJC4), car aucune n'a atteint le pH 5 durant les 6 premières heures d'incubation, et leurs vitesses d'acidification après 20 heures se situe dans un intervalle de 1,16 à 1,29 unités pH ce qui est assez bas (Hassaine et *al.*, 2007) ; les valeurs de l'acidité titrable sont aussi insuffisantes pour une bonne acidification du milieu car elle ne dépasse pas 59,33 degrés Dornic après 20 h d'incubation.

Tableau 25 : Variations des mesures du pH de la communauté et des 6 souches qui la composent au cours du temps.

Temps	LmJC1	LmJC3	LIJC1	LmJC5	LIJC2	LIJC4	COM	T neg
0H	6,65	6,63 (0,02)	6,68 (0,02)	6,69 (0,01)	6,64 (0,01)	6,70 (0,006)	6,63	6,75 (0,01)
2H	6,46 (0,07)	6,46 (0,06)	6,57 (0,02)	6,58 (0,01)	6,57 (0,02)	6,64 (0,01)	6,61	6,73 (0,01)
4H	6,31 (0,02)	6,42 (0,06)	6,34 (0,02)	6,36 (0,01)	6,29 (0,02)	6,47 (0,01)	6,4	6,71 (0,02)
6H	6,23 (0,03)	6,27 (0,07)	6,16 (0,015)	6,19 (0,015)	6,10 (0,015)	6,28 (0,015)	6,2	6,68 (0,03)
8H	6,02 (0,08)	5,96 (0,06)	5,83 (0,015)	5,88 (0,02)	5,80 (0,03)	6,01 (0,006)	5,87	6,65 (0,05)
10H	5,93 (0,07)	5,87 (0,06)	5,73 (0,01)	5,69 (0,015)	5,68 (0,06)	5,92 (0,015)	5,75 (0,01)	6,62 (0,01)
12H	5,86 (0,05)	5,77 (0,06)	5,64 (0,017)	5,56 (0,004)	5,59 (0,06)	5,83 (0,006)	5,64 (0,02)	6,58 (0,01)
14H	5,77 (0,05)	5,67 (0,06)	5,55 (0,03)	5,47 (0,005)	5,51 (0,06)	5,74 (0,006)	5,60 (0,03)	6,55 (0,01)
16H	5,68 (0,04)	5,59 (0,06)	5,47 (0,03)	5,44 (0,02)	5,46 (0,017)	5,64 (0,01)	5,52 (0,04)	6,52 (0,03)
18H	5,59 (0,04)	5,59 (0,06)	5,43 (0,03)	5,24 (0,02)	5,44 (0,006)	5,63 (0,006)	5,46 (0,05)	6,24 (0,01)
20H	5,49 (0,02)	5,47 (0,06)	5,39 (0,026)	5,16 (0,02)	5,40 (0,015)	5,53 (0,006)	5,38 (0,04)	6,02 (0,01)

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

La souche LmJC5 a une acidification moyenne, car elle atteint un pH de 5,16 après 20 heures d'incubation, bien que cela ne soit pas ce qu'on attend du *Leuconostoc mesenteroides*. De plus sa vitesse d'acidification pendant les 6 premières heures est assez basse (pH 6,19 après 6 heures d'incubation). Du côté de l'acidité titrable, on remarque que cette souche n'est pas performante car elle n'atteint que 68 degrés Dornic après 20 heures d'incubation.

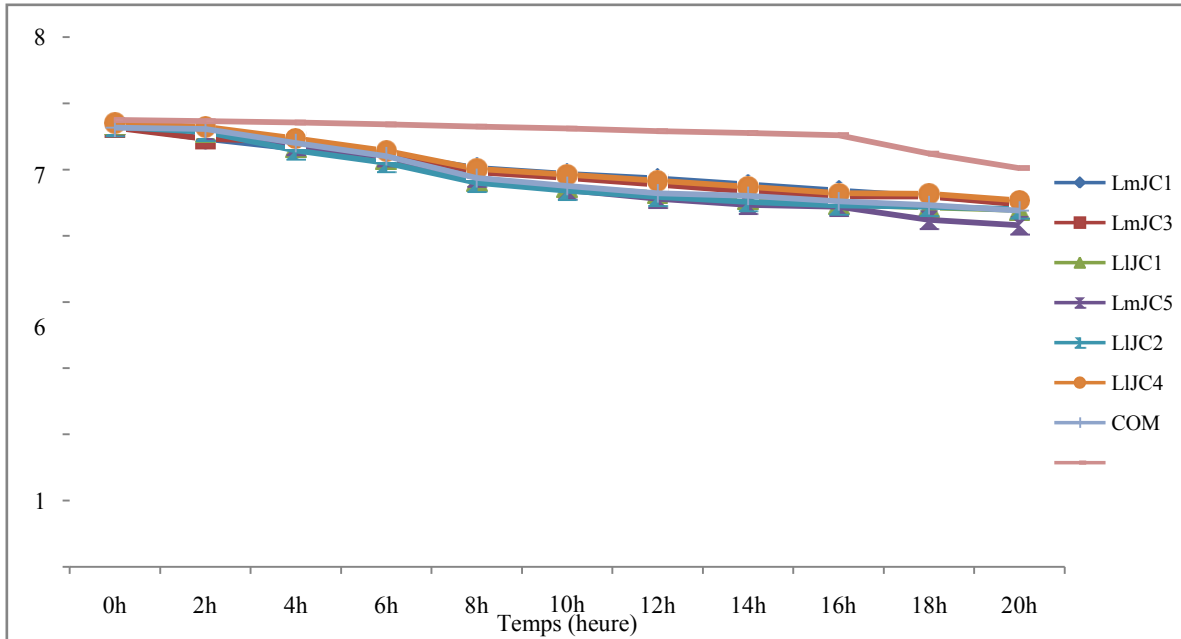


Figure 32 : Évolution du pH des souches et de la communauté au cours du temps.

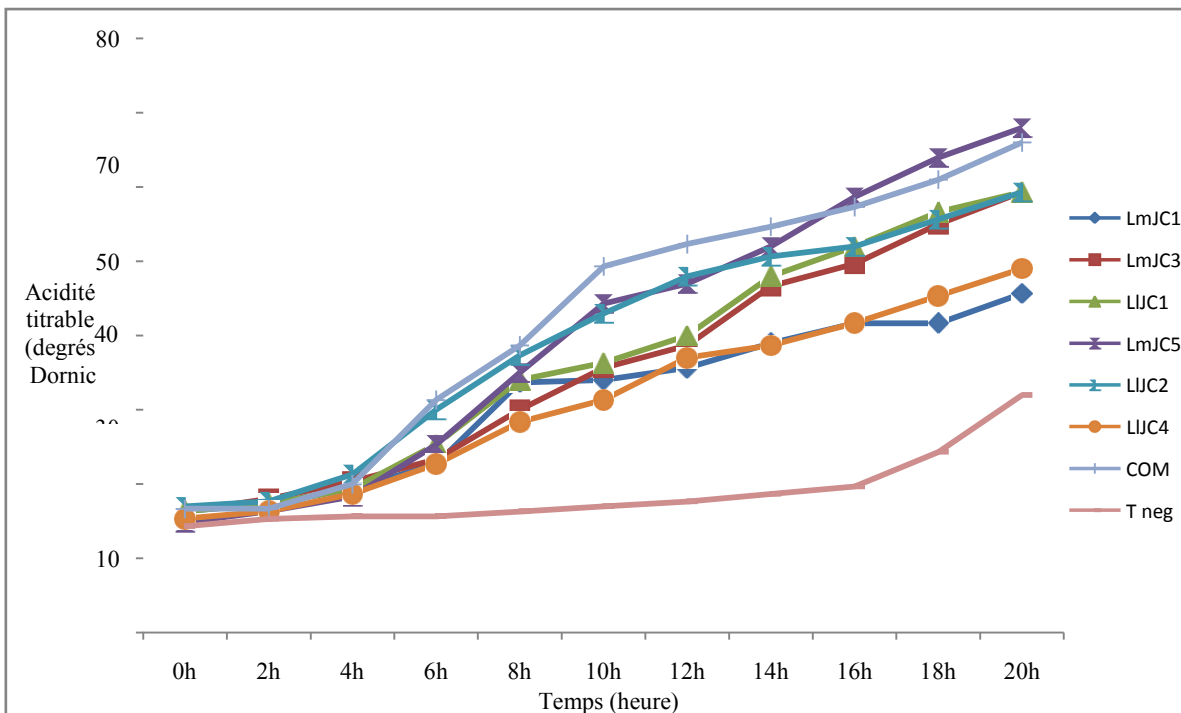


Figure 33 : Évolution de l'acidité titrable des 6 souches et de la communauté au cours du temps.

Tableau 26 : Evolution de l'acidité Dornic des souches lactiques testées et de la communauté en fonction du temps d'incubation.

Temps	Culture bactérienne							
	LmJC1	LmJC3	LlJC1	LmJC5	LlJC2	LlJC4	COM	T neg
0H	16,33 (0,58)	16,33 (0,58)	16,33 (0,58)	14,83 (0,29)	17	15,33 (1,15)	16,67 (0,58)	14,33 (0,58)
2H	17,33 (0,58)	18	17,33 (0,58)	16,33 (0,58)	17,67 (0,58)	16,33 (0,58)	16,67 (0,58)	15,33 (0,58)
4H	19,33 (0,58)	20,33 (0,58)	19,33 (0,58)	18,33 (0,58)	21,33 (0,58)	18,67 (0,58)	20 (1,00)	15,67 (0,58)
6H	22,67 (1,15)	23,33 (1,15)	25,33 (0,58)	25,33 (1,15)	30 (2,00)	22,67 (1,15)	31,33 (0,58)	15,67 (0,58)
8H	33,67 (3,21)	30	34 (1,00)	35 (1,00)	37,33 (0,58)	28,33 (0,58)	38,67 (0,58)	16,33 (0,58)
10H	34 (1,73)	35,67 (1,15)	36,33 (1,15)	44,33 (1,15)	43 (1,00)	31,33 (0,58)	49,33 (0,58)	17
12H	35,67 (1,15)	38,67 (1,53)	40 (2,00)	47 (1,00)	48 (1,00)	37 (1,00)	52,33 (0,58)	17,67 (0,58)
14H	39 (1,00)	46,67 (1,53)	48	52	50,67 (1,15)	38,67 (1,15)	54,67 (1,15)	18,67 (0,58)
16H	41,67 (0,58)	49,67 (0,58)	52	58,67 (1,15)	52 (1,00)	41,67 (0,58)	57,33 (1,15)	19,67 (0,58)
18H	41,67 (1,53)	55 (1,73)	56,67 (1,15)	64	55,67 (0,58)	45,33 (1,15)	61 (1,00)	24,33 (0,58)
20H	45,67 (0,58)	59,33 (2,08)	59,33 (2,08)	68 (2,65)	59,33 (0,58)	49 (1,00)	66 (1,00)	32

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types.

La communauté exprime elle aussi une activité acidifiante basse. Elle est composée de souches à acidification lente, cela n'a pas permis à des interactions positives et stimulantes pour cette activité d'avoir lieu. Sa vitesse d'acidification est la moyenne des vitesses d'acidifications des souches qui la compose (que ce soit à 6 h ou 20 h) et l'acidité Dornic qu'elle exprime est au-dessus de la moyenne exprimée par les autres souches mais reste insuffisante pour un bon pouvoir acidifiant.

7.4.3. Pouvoir acidifiant des ferments

L'évolution du pH ainsi que l'acidité Dornic des ferments durant 20 h d'incubation à 30 °C, sont présentés dans le tableau 27 et sont représentées graphiquement dans les figures 34 et 35. Les ferments F1, F4 et F5 semblent avoir le même comportement, leurs vitesses d'acidification ainsi que leur acidité titrable sont plus basses que les moyennes des deux souches qui les composent à 6 heures d'incubation.

Puis elles augmentent et les atteignent (F5) ou les dépassent (F1 et F4) après 20 h. Le ferment F3 est celui dont l'activité acidifiante reste en dessous de la moyenne des deux souches qui le compose.

Le ferment F2 est le seul qui dépasse la moyenne des deux souches qui le composent et même plus élevé que leurs vitesses d'acidification individuelle et cela dès le début de la fermentation et jusqu'à 20 h d'incubation, il y a bien eu une interaction positive entre les deux souches qui a permis de stimuler ce pouvoir et rendre F2 le seule ferment exprimant une vitesse acidification moyenne.

Tableau 27 : Variations des mesures de pH et d'acidité titrable des ferments au cours du temps

	F1 : LmJC1 + LJJC4		F2 : LmJC1 + LJJC2		F3 : LmJC1 + LJJC1		F4 : LmJC3 + LJJC4		F5 : LmJC5 + LJJC4		T neg	
	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°	pH	D°
0h	6,70 (0,006)	15 (1,00)	6,64 (0,01)	17	6,68 (0,02)	16,67 (0,6)	6,70 (0,006)	15,67 (0,6)	6,70 (0,006)	15 (1,00)	6,75 (0,01)	14,33 (0,58)
2h	6,68 (0,015)	17	6,33 (0,02)	19,67 (0,6)	6,57 (0,02)	16,67 (0,6)	6,68 (0,015)	17,33 (0,6)	6,68 (0,015)	17,33 (0,6)	6,73 (0,01)	15,33 (0,58)
4h	6,58 (0,01)	18	6,26 (0,01)	22	6,42 (0,015)	18,33 (0,6)	6,54 (0,015)	18,33 (0,6)	6,47 (0,006)	18,33 (0,6)	6,71 (0,02)	15,67 (0,58)
6h	6,5 (0,01)	21	5,99 (0,01)	27 (1,00)	6,32 (0,02)	23,67 (0,6)	6,48	20,67 (0,6)	6,37 (0,01)	22 (1,00)	6,68 (0,03)	15,67 (0,58)
8h	6,15 (0,015)	25,33 (0,6)	5,64 (0,01)	38,33 (0,6)	6,03 (0,015)	32	6,11 (0,015)	26,33 (0,6)	6,06 (0,01)	27,67 (0,6)	6,65 (0,05)	16,33 (0,58)
10h	6,03 (0,015)	30,67 (1,15)	5,52 (0,006)	45,67 (1,15)	5,84 (0,015)	35,67 (0,6)	6,02 (0,05)	32,67 (0,6)	5,91 (0,01)	34,33	6,62 (0,01)	17
12h	5,83 (0,006)	38	5,31	54,33 (0,6)	5,69 (0,006)	40,67 (1,15)	5,68	42	5,69 (1,00)	45 (1,00)	6,58 (0,01)	17,67 (0,58)
14h	5,69	43	5,22 (0,01)	54	5,6	45,33 (1,15)	5,57	46,67 (1,15)	5,60 (0,006)	47,67 (0,6)	6,55 (0,01)	18,67 (0,58)
16h	5,55	46	5,16 (0,006)	55,33 (0,6)	5,51	47	5,42 (0,006)	54	5,48	50,67 (1,15)	6,52 (0,03)	19,67 (0,58)
18h	5,52 (0,01)	48,67 (1,5)	5,13 (0,01)	56	5,44 (0,01)	47,67 (0,6)	5,38	55	5,45 (0,01)	52,33 (0,6)	6,24 (0,01)	24,33 (0,58)
20h	5,43 (0,015)	54,67 (1,15)	5,06	58,67 (1,53)	5,42	49,67 (0,6)	5,31 (0,006)	58 (1,00)	5,36	58,33 (0,6)	6,02 (0,01)	32

T neg : témoin négatif ; les valeurs entre parenthèses sont les écart-types. D° : degrés Domic.

À la lumière de ces résultats il est évident que ces 5 ferments ne peuvent être utilisables en fromagerie en l'état, si on se base uniquement sur l'aspect acidification, car c'est le premier critère sur lequel on se base pour sélectionner des souches en industrie laitière. Ils sont plus adaptés pour une utilisation au sein de ferment plus complexe et à des buts aromatiques et texturants pendant la période d'affinage d'un fromage à pâte molle ou pâte pressée.

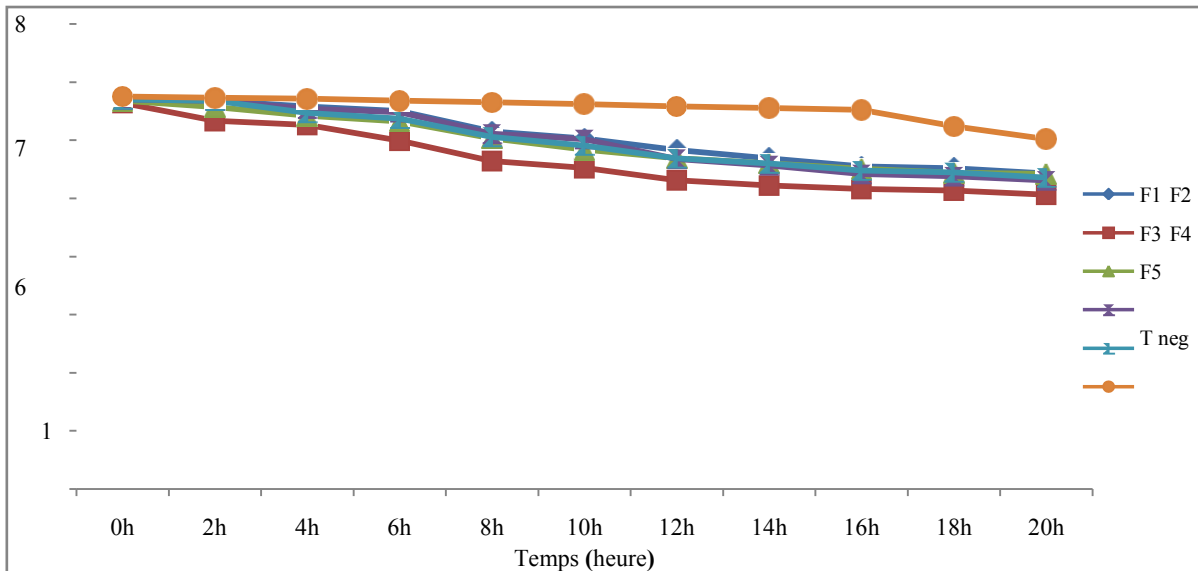


Figure 34 : Évolution du pH des ferments au cours du temps.

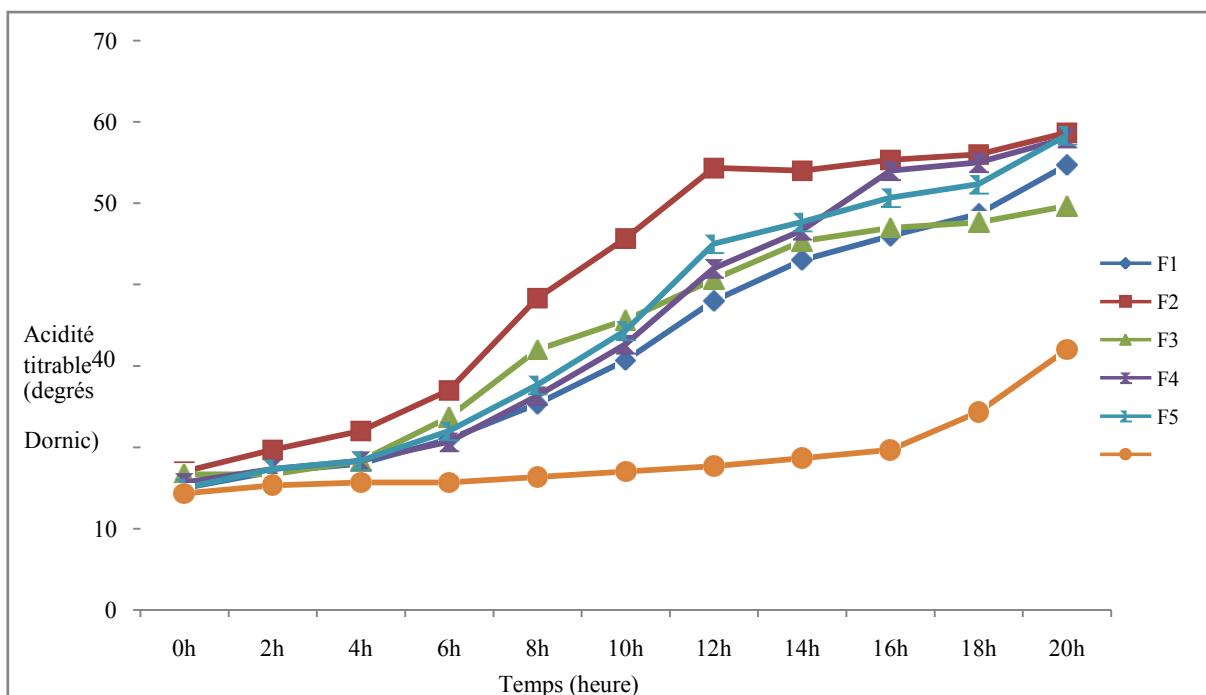


Figure 35 : Évolution de l'acidité titrable des ferments au cours du temps.

8. Essais de fabrication de fromages frais

Les caractéristiques physicochimiques du lait enrichi en protéines, obtenues après analyses au Lactoscan[®], sont présentées dans le tableau 28.

Le temps d'incubation de 14 h à 28 °C n'a pas suffi pour une bonne coagulation, il a fallu aller jusqu'à 24 h pour avoir un caillé satisfaisant pour les fromages. La masse moyenne des fromages obtenus est de 120,87 g.

- Les fromages fabriqués ont été nommés selon le ferment utilisé : F1 - F2 - F3 - F4 - F5.

Tableau 28 : Paramètres physicochimique du lait utilisé pour la préparation du fromage.

pH	Acidité Dornic (D°)	MG (%)	TP (%)	Densité	Lactose (%)	Extrait sec (%)	Cendres (g/l)
6,8	18	3,13	3,10	1,03275	4,62	9,13	4,84

D° : degrés Dornic.

Les pH des différents caillés avant égouttage et des fromages finis ont été mesurés ainsi que le volume de lactosérum expulsé lors de l'égouttage; ces résultats sont exposés dans le tableau 29.

Il est évident que le pH avant égouttage et même après, est trop élevé en comparaison avec le pH d'un fromage frais industriel qui peut aller jusqu'à 4,8 avant égouttage (Corrieu et Luquet, 2008), cela montre la faible capacité d'acidification des 5 ferments utilisés qui ont pourtant fermenté le lait jusqu'à 24heures. Le fromage fait avec le ferment F4 est le seul à avoir atteint un pH acceptable après égouttage (pH 5,08).

Tableau 29 : Mesures des pH des 5 caillés avant égouttages et des produits finis, et volumes de lactosérum pour chaque fromage.

	F1	F2	F3	F4	F5
pH caillé	5,98	5,63	5,93	5,01	5,64
pH fromage	6,04	5,87	6,12	5,08	5,82
Volume lactosérum	800ml	670ml	660ml	790ml	750ml

Les différents aspects obtenus des fromages à l'égouttage, en produit fini et après lissages sont présentés dans les figures 36, 37 et 38. Les différents aspects observés chez les fromages peuvent être dus au temps de maturation du lait avant son ensemencement avec le levain, plus le temps est long et moins le fromage semble sableux.

Cette différence peut aussi bien être due à faible pouvoir acidifiant des différents ferments, qui a donné des caillés peu fermes et présentant des défauts visibles (friabilité, granules, effet grains de sable).



Figure 36 : Aspects de deux fromages à l'égouttage (F5 à gauche et F4 à droite).

- Le fromage F5 a un aspect sableux à la fin de l'égouttage alors que le fromage F4 est granuleux.

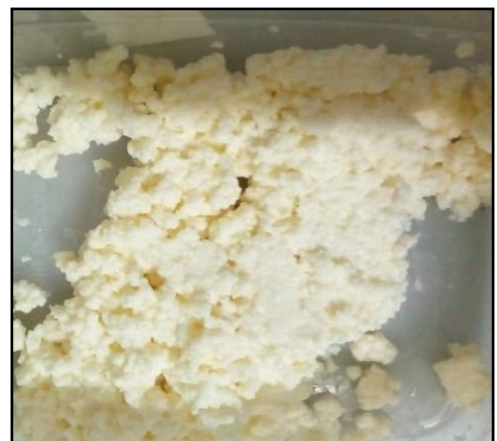
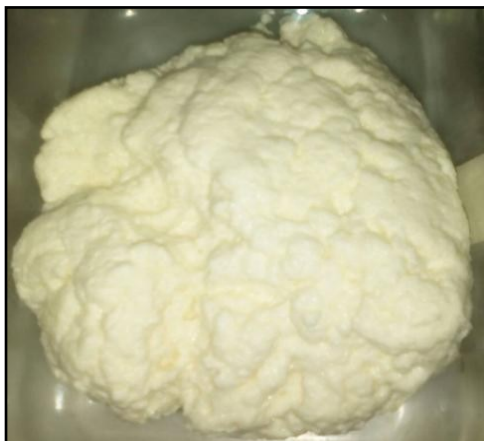


Figure 37 : Aspects de deux fromages finis (F3 à gauche et F1 à droite)

- Le fromage F3 a déjà un aspect ferme alors que le fromage F1 semble friable.



Figure 38 : Aspect du fromage F5 après lissage.

- Evaluation sensorielle des fromages

Le but essentiel de la séance de dégustation était de connaître l'impression générale des testeurs envers ces produits, pour voir s'ils étaient acceptés ou rejetés par les consommateurs. Toutefois, les caractéristiques organoleptiques décrites ne reflètent pas l'exacte réalité des produits, pour avoir une description plus précise. Il aurait fallu un panel entraîné à la dégustation de fromages frais, et la présentation de standards en solutions normalisé pour certaines saveurs et arômes sur le plateau de dégustation (salé, sucré, doux, ocre, piquant), ce qui n'a pas été possible dans notre cas. Néanmoins, les résultats obtenus nous indiquent où se place chaque fromage par rapport au témoin industriel utilisé (type : petit suisse) qui lui n'était pas à l'état nature mais a subi un lissage et un léger traitement aromatique.

Tous les fromages à l'état nature présentent une surface jugée granuleuse à l'issue de l'examen visuel, et ont une sensation finale en bouche jugée courte au cours de l'examen gustatif. L'examen olfactif a confirmé un arôme lactique pour les 5 fromages, bien que la définition exacte de cet arôme ait différé par la suite.

- Le fromage F1 est blanc-crème (Figure 40) d'aspect friable à surface granuleuse, présentant un arôme de petit lait assez fade, et ayant une sensation en bouche de douceur plutôt courte. Le panel le trouve désagréable surtout à cause de son goût et l'odeur qu'il dégage.
- Le fromage F2 (Figure 41) a obtenu une description très proche de celle du fromage F1, sauf pour l'aspect qui est sableux et un arôme de lait frais fade, avec un goût doux.
- Le fromage F3 (Figure 42) diffère du fromage F2 dans l'aspect ferme qu'il présente. Les critiques de ce fromage concernent surtout son manque d'intensité mais il est agréable dans l'ensemble.
- Le fromage F4 (Figure 43) un aspect qui divise les dégustateurs, il est jugé friable et sableux, avec une saveur acide et une sensation finale en bouche piquante. Le panel n'a pas apprécié l'association de l'acidité et de l'aspect friable /sableux.
- Le fromage F5 (Figure 44) est différent des autres fromages, par sa couleur et une sensation acre en bouche malgré un goût doux. L'arôme décrit par la majorité du panel est celui de beurre. Il est plus apprécié par les dégustateurs de plus de 35 ans, les plus jeunes n'ont pas aimé son goût et sa texture.

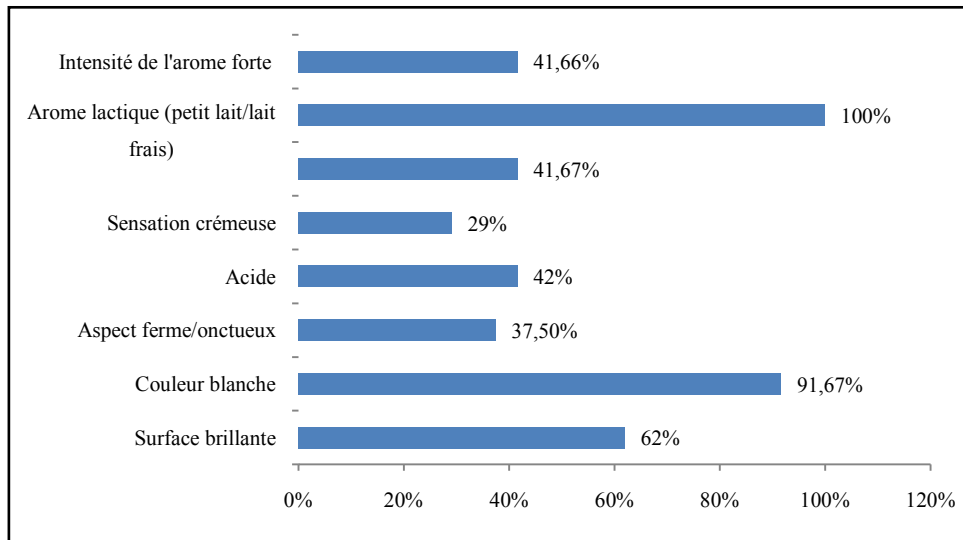


Figure 39 : Résultats de l'évaluation sensorielle du témoin «petit suisse».

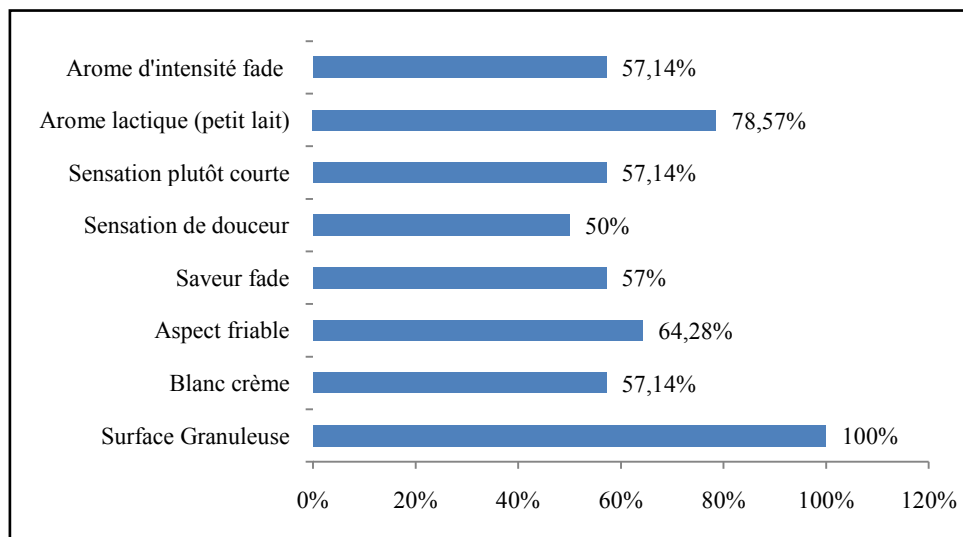


Figure 40 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F1 nature.

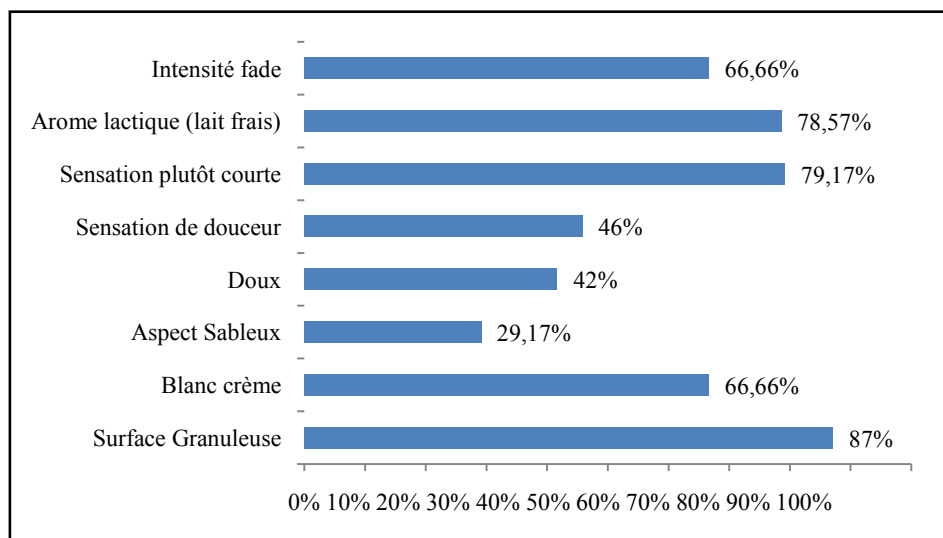


Figure 41 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F2 nature.

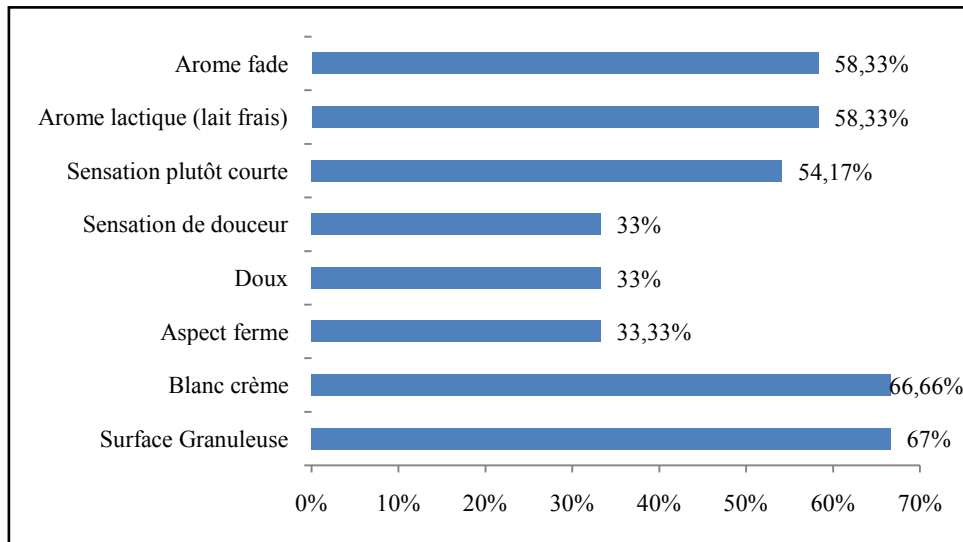


Figure 42 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F3 nature.

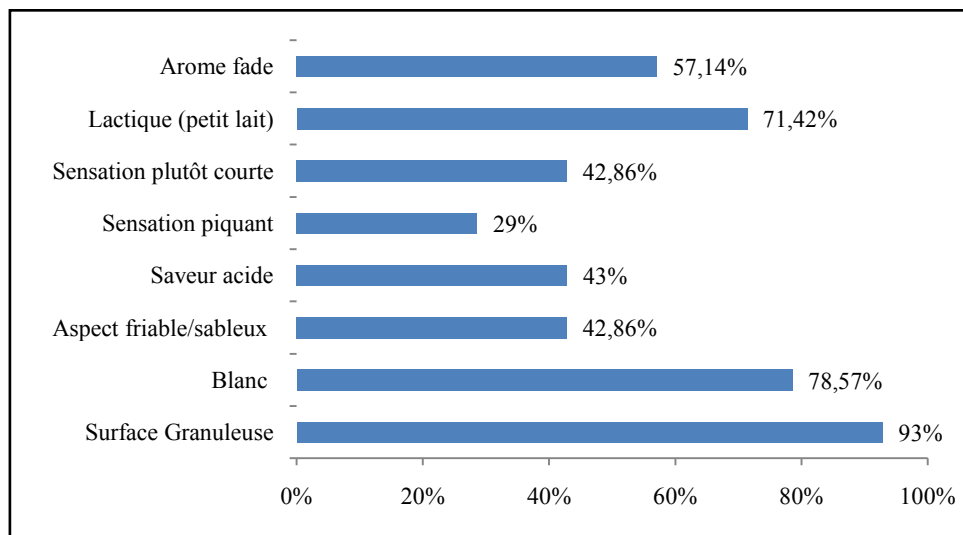


Figure 43 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F4 nature.

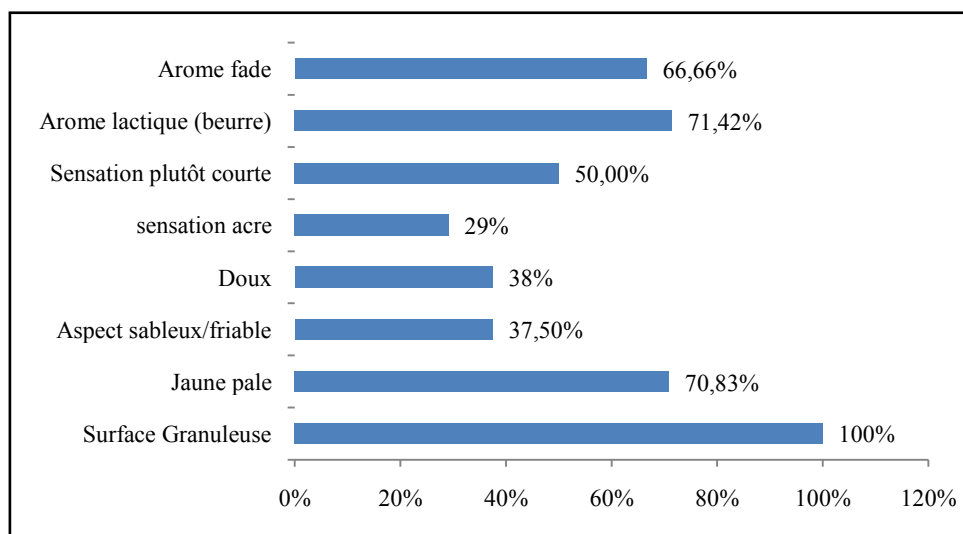


Figure 44 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F5 nature.

- Le fromage 3 après un lissage et un léger salage (Figure 45), s'est amélioré, il était à la base ferme et est devenu onctueux, il a été jugé de couleur blanche à surface lisse, présentant une sensation crémeuse et agréable, avec un arôme de beurre avec une forte intensité. Il a été très apprécié par les dégustateurs.

- Le fromage F5, lissé et aromatisé (Figure 46) a été le plus apprécié car il se rapproche le plus de ce qui se trouve dans le commerce. Avec une couleur ivoire un aspect ferme et une surface lisse, l'aspect visuel désagréable a été oublié par les dégustateurs. Il a acquis un arôme végétal fort, et malgré un goût jugé salé par la moitié du panel et une sensation piquante, il a été jugé agréable.

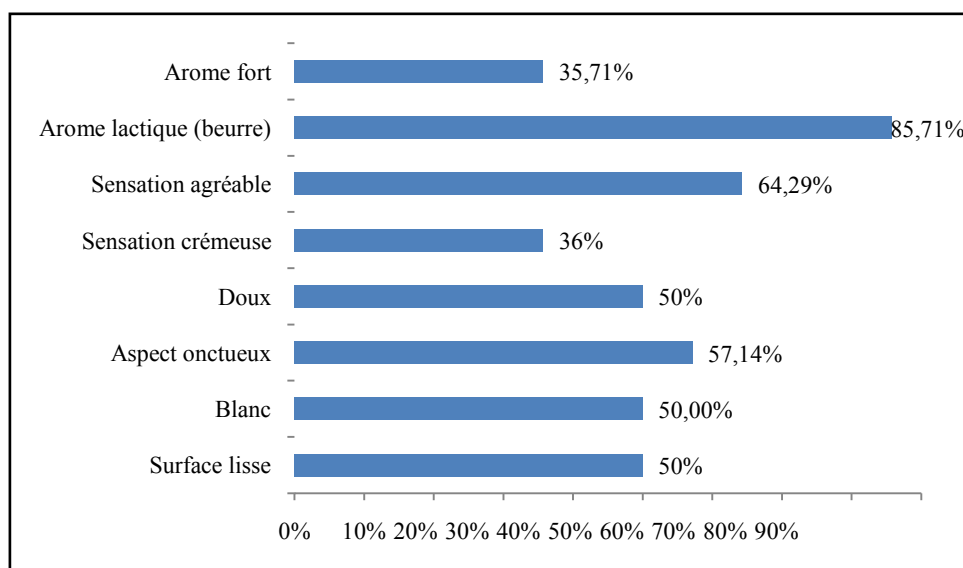


Figure 45 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F3 amélioré.

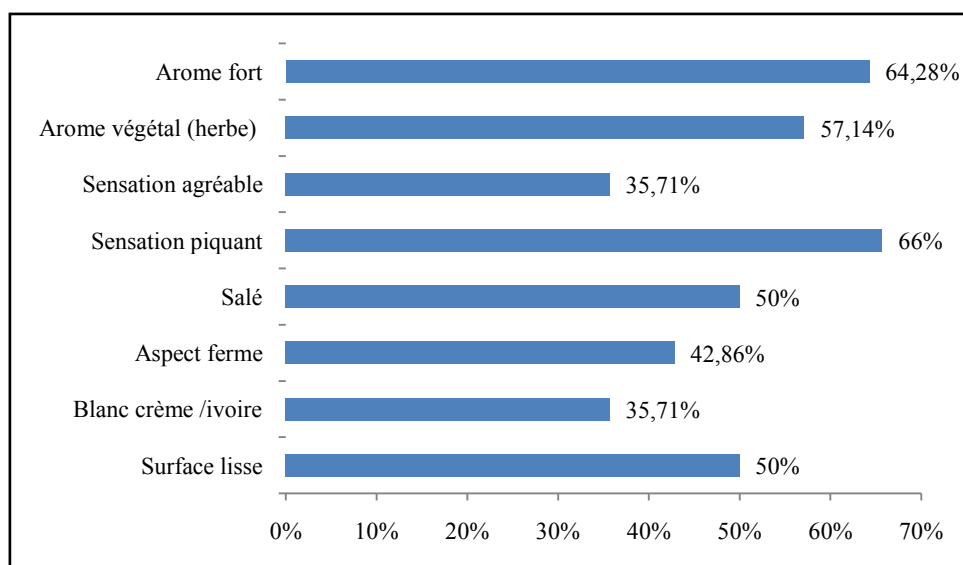


Figure 46 : Résultats de l'évaluation sensorielle du fromage F5 amélioré.

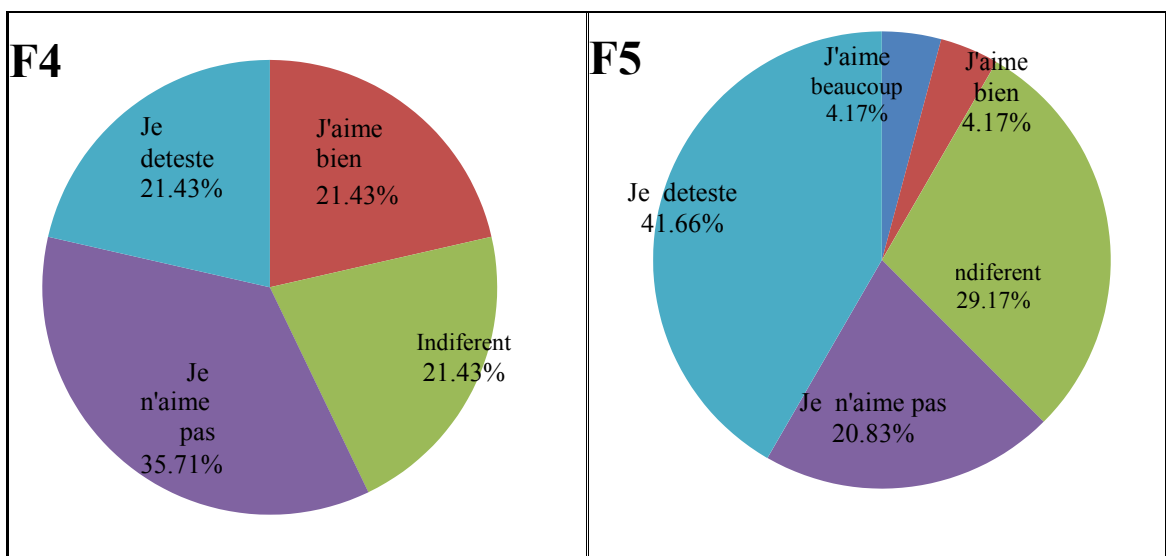
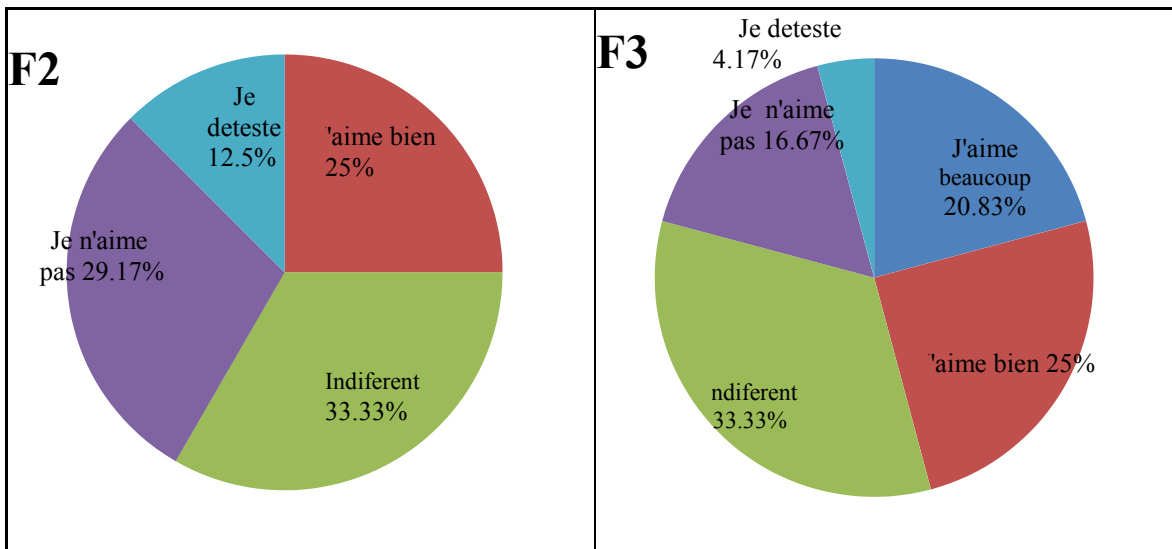
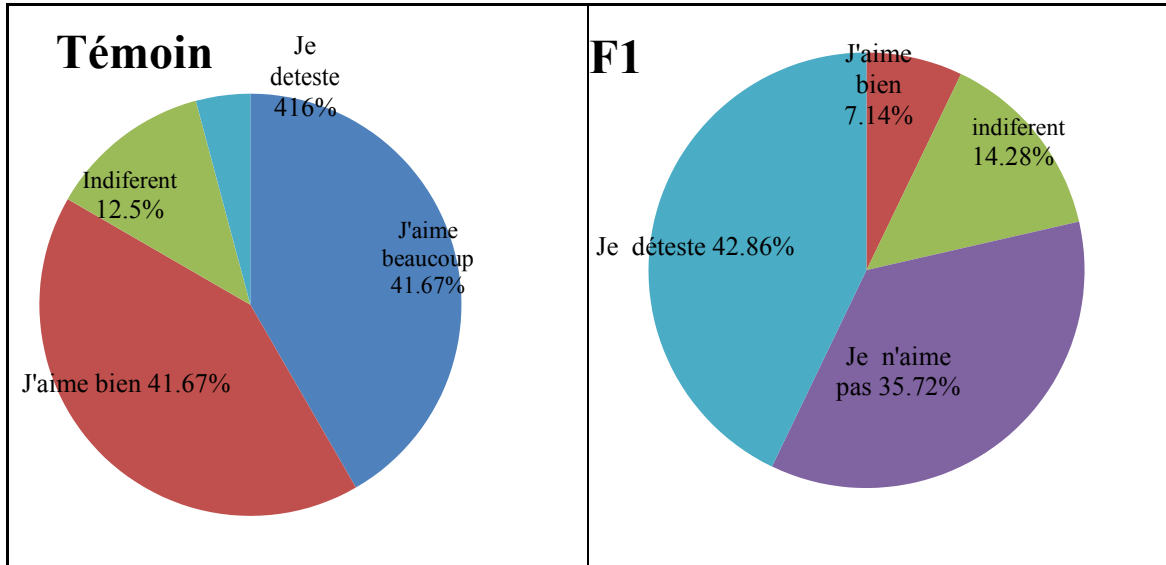
Grâce au classement et aux impressions sur les 5 fromages nature, le témoin ainsi que les deux fromages améliorés qui sont exposées dans la figure 47, il a été possible de leurs attribuer des points présentés dans le tableau 30.

Le témoin a été préféré aux fromages nature, mais dès que deux fromages ont subi un traitement similaire à ce fromage frais industriel, ils ont été classé premier et deuxième (les scores étant très proches). Cela montre une possibilité d'exploitation des ferments utilisés, malgré leurs points faibles, il suffit d'un lissage et un Leger salage pour qu'ils soient appréciés par les dégustateurs.

Le fromage frais F3 est classé premier parmi les fromages nature (4^{ème} au classement général des échantillons), il a été préféré notamment à cause de sa douceur et sa fermeté. Le fromage F2 bien que doux a été déprécié à cause de son aspect sableux. Le Fromage F4 qui est en 3^{ème} position des fromages frais nature fabriqués (6^{ème} des échantillons), présentait un gout acide et une sensation piquante qui a déplu au panel de dégustateurs, quant aux deux derniers : le F5 n'a pas convaincu les testeurs avec son gout ocre et son aspect sableux, et le fromage F1 a été le plus fade parmi les 5 fromages nature, le F5 lui a été préféré avec son gout acre et son arôme de beurre.

Tableau 30 : Classement des fromages d'après les résultats du test de dégustation

Classement	Fromage	Points
1 ^{er}	F5 amélioré	46
2 ^{ème}	F3 amélioré	45
3 ^{ème}	Témoin	44
4 ^{ème}	F3	34
5 ^{ème}	F2	24
6 ^{ème}	F4	20
7 ^{ème}	F5	15
8 ^{ème}	F1	12



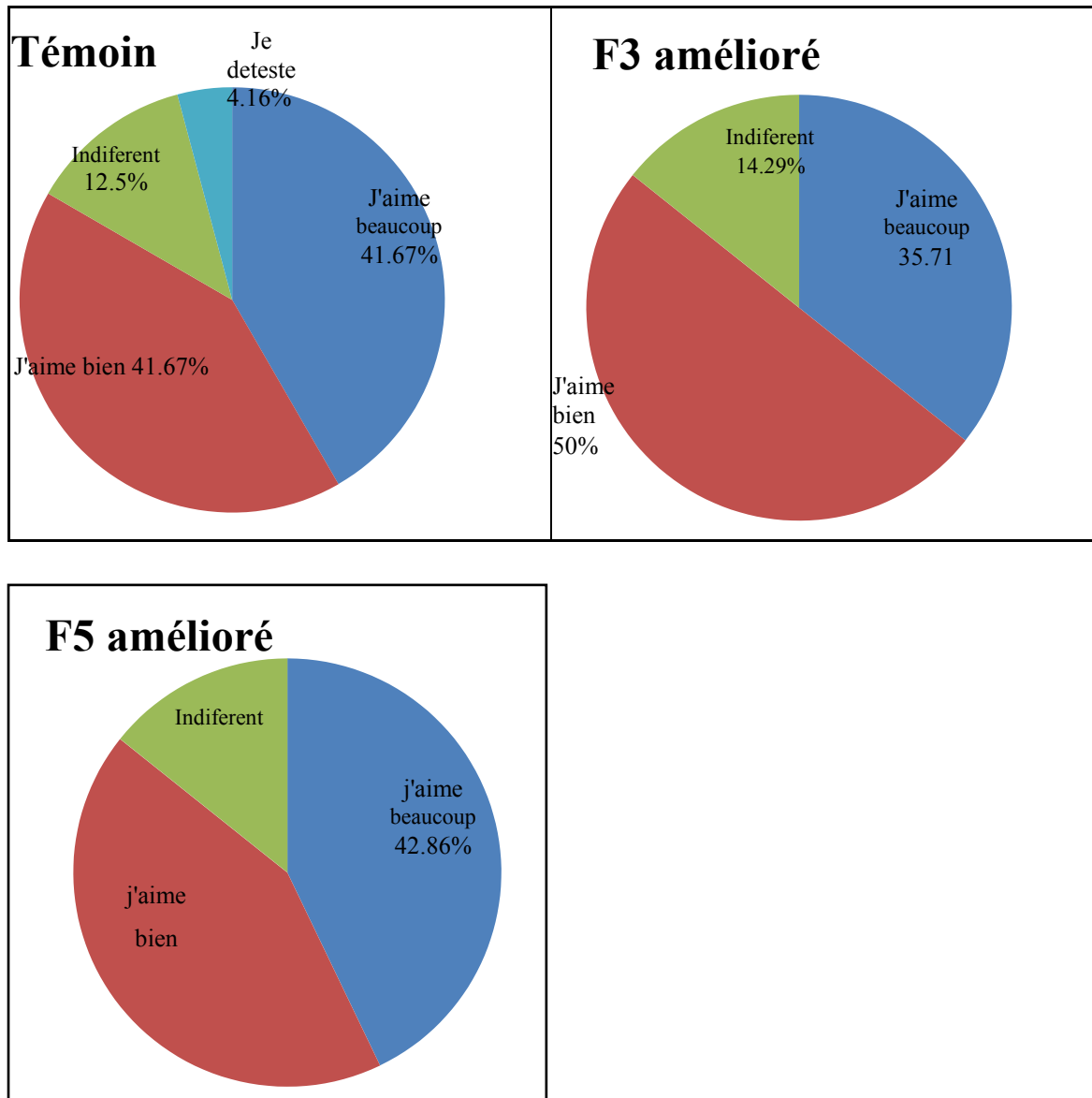


Figure 47 : Représentations des impressions générales des dégustateurs à propos des fromages.

CONCLUSION

CONCLUSION

Afin de préserver l'identité du Jben de chèvre de la wilaya de Naâma, nous avons étudié certains de ses paramètres physicochimiques. À travers les résultats obtenus il en ressort que ce produit a un pH assez bas avec des valeurs proches pour les différents échantillons, mais l'acidité titrable est basse et variable, cela est relatif à une faible production de lactate par les bactéries lactiques présentes dans le fromage. Ce point a été confirmé par la suite avec l'étude de leur pouvoir acidifiant. Les taux de matière grasse et de protéines sont aussi, bas et différents pour les échantillons testés. Cette composition est liée à celle du lait cru utilisé ainsi que la méthode de fabrication de ce produit. Il ressort aussi que le Jben même fabriqué dans un seul endroit avec des laits issus aussi de la même région, peut différer d'un élevage à un autre et d'une période à une autre. La variabilité des valeurs obtenues a confirmé que ce fromage traditionnel était inconstant dans sa composition physicochimique.

La flore lactique du Jben étudié est composée en majorité par bactéries lactiques avec un pourcentage de 54,17% parmi les microorganismes isolés. L'identification moléculaire d'une partie de ces bactéries a indiqué une forte dominance du genre *Enterococcus* (66,66 % des bactéries lactiques identifiées) partagé en 4 espèces : *E. durans* (83,33% des *Enterococcus*), *E. faecium* (8,33%), *E. faecalis* et *E. hirae* (chacun à 4,17%), ainsi que la présence de *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* au même taux (16,67 %). Cette composition est probablement due à celle du lait chèvre de race Arabia, ainsi que les conditions de fabrication artisanale qui ont également conduit à l'absence des genres *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*.

L'évaluation de certaines aptitudes technologiques des souches et isolats (encore non caractérisés) obtenus à partir des Jbens de chèvre étudiés, a permis de déceler un potentiel d'utilisation dans l'industrie des produits laitiers, notamment grâce à leur pouvoir aromatisant et protéolytique : 23 isolats sur 65 sont capables de produire de l'acétoïne et 51 présente une forte protéolyse des caséines du lait.

Une communauté de 6 souches différentes a été formée dont 3 de l'espèce *Lactococcus lactis* et 3 de *Leuconostoc mesenteroides* ; l'étude des interactions inter bactérienne au sein de cette communauté nous a permis de constater qu'il n'y avait aucune inhibition de croissance entre les 6 souches individuellement ni en groupe (dans la communauté). D'autres interactions sont apparues lors de différents tests, en affectant certaines voies du métabolisme des 6 souches de la communauté. Les interactions négatives ont concernées l'inhibition de la production d'acétoïne par

les souches LmJC1 et LIJC4, ainsi que la lipolyse chez la souche LIJC2. Pour l'activité protéolytique, une compétition pour le substrat (acides aminés libres et petites peptides) s'est installée entre les 6 souches de la communauté ainsi qu'une régulation de cette activité ne lui permettant pas d'atteindre les diamètres de zones de lyse provoqués par les souches seules, néanmoins il y a eu une stimulation qui a permis à la communauté d'exprimer une protéolyse plus élevée que la moyenne des souches. Les interactions positives ce sont surtout manifestées par le commensalisme qui a concerné les souches les moins performantes pour cette activité et qui ont profité des autres souches. Il n'y a pas eu de stimulation pour l'abaissement du pH, car celui de la communauté était presque égal à la moyenne des pH des souches seules, mais il y a eu une stimulation modéré de la production d'acide lactique par rapport à la production individuelle, ce qui va avec l'inhibition de la production d'acétoïne (le faible taux d'acétoïne va avec une augmentation de l'acide lactique).

Pour les essais de fabrication de fromages frais en utilisant les souches identifiées (celles de la communauté) comme ferments, 5 combinaisons de deux souches chacune ont été testées. Les 5 ferments obtenus ont été testés avant leur utilisation, on a observé des interactions positives qui ont concerné une stimulation de la lipolyse (même entre souches non lipolytiques), les ferments contenant LIJC4 sont tous lipolytiques. Il y a eu une stimulation de la protéolyse qui est plus élevée chez les ferments par rapports aux souches seules, le commensalisme a été observé ici par l'association d'une souche fortement lipolytique et une moins performante sans observer des effets négatifs. D'un autre côté, il y a eu inhibition de la production d'acétoïne.

En ce qui concerne l'activité d'acidification, les 6 souches, la communauté et les 5 ferments ce sont révélés peu acidifiants.

Les fromages préparés avec les 5 ferments ont tous un caillé peu satisfaisant dû à l'acidification lente et insuffisante, le gout des fromages a été qualifié de doux lors d'une séance de dégustation avec un arôme lactique. Ces fromages ont été moyennement appréciés sous leur forme nature. Les ferments conviendraient plus à la fabrication d'un fromage nécessitant un affinage et cela incorporé dans un ferment mésophile plus adapté. Il serait aussi intéressant d'essayer d'autres combinaisons de souches pour les effets qui en ressortiraient.

En perspectives, l'identification des isolats restants est une étape importante à compléter, ainsi qu'une étude au niveau moléculaire du volatilome produit par les souches identifiées et la communauté afin d'identifier les arômes produits, ainsi qu'une étude plus approfondie des aptitudes

technologiques testées lors de ce travail. Une étude par qPCR permettrait aussi de préciser les interactions au sein du microcosme formé. Il serait aussi intéressant de tenter différentes combinaisons de ferments ou d'inclure les souches dans des ferments employés dans la préparation de divers types de fromage affinés tout en prenant en considération leurs aptitudes technologiques étudiées ainsi que les résultats de l'étude du volatiloïme des différentes souches, afin d'utiliser pleinement leur potentiel aromatisant et texturant.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Addi N., 2017.** Etude de l'activité protéolytique des lactocoques isolés de lait cru de chamelle. Thèse de doctorat en Microbiologie appliquée, département de Biologie. Université d'Oran 1, Ahmed Ben Bella, Algérie. p 57-61.
- Aissaoui Zitoun O., 2003.** Fabrication et caractéristiques d'un fromage traditionnel algérien *Bouhezza*. Thèse de magister, INATAA, Constantine, Algérie. p 138
- Aissaoui D. and Zidoune .M.N., 2006.** Le fromage traditionnel algérien «BOUHEZZA». Séminaire d'animation régional. Technologie douce et procédé de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments. INSAT. Tunis, Tunisie/27-28-29 Novembre.
- Aissaoui Zitoun O., Pediliggieri C., Benatallah L., Lortal S., Licitra G. and Carpine S., 2012.** Bouhazza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goat skin bags. *Journal of Food Agriculture & Environment*, **10** (2): 289-295.
- Aissaoui Zitoun O., 2014** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien «Bouhezza». Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires, INATAA, Université de Constantine, Algérie.
- Al Atya A.Kh., 2016.** Recherche et caractérisation de nouveaux peptides antimicrobiens à partir de bactéries lactiques isolées de meconium, Thèse de Doctorat, Spécialité : Ingénierie des fonctions biologiques, Université de Lille 1, p.12, 14.
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P. and Simpson R., 2002.** *Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait*, in :« Science et Technologie du Lait » Ed. Presses Internationales Polytechnique. Canada
- Ardö Y. and Polychroniadou A., 1999.** *Laboratory manual for chemical analysis of cheese: Chemical composition*. European Communities -Belgium- Office for official publication of the Luxembourg, p 122.
- Atlan D., Auel D. and Guilbert C., 2000.** La biodiversité des bactéries lactiques et les conséquences de leurs protéinases de surface. *Sciences des Aliments*, **20** : 5-17.

- Avalos de Cruz D.A., 2007.** Faisabilité de la production au Mexique de fromages de chèvre additionnés de piment : aspects technologiques, sensoriels, sanitaires et économiques. Thèse de doctorat en Procédés biotechnologiques et alimentaires, Vandœuvre-les-Nancy INPL, France.
- Axelsson I., 2004.** *Lactic Acid Bacteria :Classification and Physiology. In Lactic Acid Bacteria : Microbiology and functional Aspects*, ed : **Salminen S., VonWright A., & Ouwerhand**, 1-66. New York : Marcel Dekker Inc.
- Ayad E.H.E., Verheul A., Engels W.J.M. and Smit G., 2001.** Enhanced flavour formation by combination of selected Lactococci from industrial and artisanal origin with focus on completion of metabolic pathway. *Journal of Applied Microbiology*, **90**: 59-67.
- Badis A., Guetrani D., Moussa-Boujemaa B., Henni D.E, Tornadijo M.E. and Kihal M., 2004a.** Identification of cultivable of Lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, **3**: 72-78
- Badis A., Guetarnib D., Moussa Boudjemaa B., Hennic D.E. and Kihalc M., 2004b.** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, **21**:579-588
- Badis A., Laoudia Sellami N.D., Guetarni D. and Ouzrout R., 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences & Technologie C - N°23* : 30-37.
- Bekhouche F., 2006.** Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : Isolement et identification biochimique. Thèse de doctorat en Microbiologie et enzymologie, Option : Génie alimentaire. Université les frères Mentouri Constantine. P21-24
- Bencharif A., 2001.** Stratégie des acteurs de la filière lait en Algérie : états des lieux et problématiques. Option Méditerranéennes Série B, Etudes et Recherches **32** : 25-45
- Benkerroum N., and Tammime A.Y., 2004.** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food.Microbiology*, **21**: 309-314.
- Bensaha H., Mayouf R. and Bensaha L., 2012.** Inventory and development perspective of milk production in Saharan area: The case of Ghardaïa region (Algeria). *Online Journal of Animal and Feed research*, **2** (3): 264-269.

- Benthin S. and Villadsen J., 1995.** Different inhibition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* by D-and L- lactic acid: effects of lag phase, growth rate and cell yield. *Journal of Applied Bacteriology*, **78**: 647-654.
- Benyagoub E., Guessas B., Ayat M. and Sanebaoui B., 2016.** Physicochemical and bacteriological properties of some Algerian traditional dairy products 'Klila and Jben' marketed in southwest of Algeria and their impact on consumers health. *International Journal of Advanced Research*, **4** (12): 760-768.
- Bolotin A., Winker P., Mauger S., Jaillon O., Malarme K., Weissenbach J., Ehrlichet S.D. and Sorokin A., 2001.** The complete genome sequence of lactic acid bacterium *Lactobacillus lactis* subsp *lactis* IL1403. *Genome Research*, **11** (5): 731-753.
- Bolotin A., Quinquis B., Renault P., Sorokin A., Ehrlichet S.D., Kulakauskas S., Lapidus A., Goltsman E., Mazur M., Push G.D., Fonstein M., Overbeek R., Kyprides N., Purnelle B., Prozzi D., Ngui K., Masuy D., Hancy F., Burtreau S., Boutry M., Delcour J., Goffeau A. and Hols P., 2004.** Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus*. *Nature Biotechnology*, **22** (12): 1554-1558.
- Bonaiti C., Irlinger F., Spinnler H.E. and Engel E., 2005.** An iterative sensory procedure to select odor-active associations in complex consortia of microorganisms: application to the construction of a cheese model. *Journal of Dairy Science*, **88**: 1671-1684
- Boubekri K. and Ohta Y., 1996.** Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-Klila. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **70**: 501-505.
- Bourel G., Henini S., Krantar K., Oraby M., Diviès C. and Garmyn D., 2001.** Métabolisme sucre-Citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*, laboratoire de Microbiologie UMR- INRA. France. P76.
- Bouton Y., Tessier T., Guyot T.P. and Beuvier E., 2005.** Relation entre les pratiques des producteurs et les niveaux de populations microbiennes des laits à Comté. 12 ième Rencontres Recherches Ruminants. Institut de l'Elevage-INRA, Paris, 403-403.
- Bouton Y., Guyot P. and Beuvier E., 2006.** Diversité génomique et temporelle des flores lactiques : lactobacilles, bactéries propioniques et entérocoques isolées de laits crus. Colloque SFM, 7 novembre, Paris.

- Boyaval P., Deborde C., Corre C., Blanco C. and Begue E., 1999.** Stress and osmoprotection in propionibacteria. *Le lait*, **79**: 59-69
- Brugère H., 2003.** Le lait et les produits laitiers, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Cabo C., Caillat H., Bouvier F. and Martin P., 2010.** Major proteins of the goat milk fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*, **93**: 868-876
- Càlix-Lara T.F., Rajendran M., Talcott S.T., Smith S.B., Miller R.K., Castillo A., Sturino J.M. and Taylor T.M., 2014.** Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial lactic acid Bacteria Food safety intervention. *Food Microbiology*, **38**:192-200
- Callon C., Duthoit F., Delbes C., Ferrand M., Le Frileux Y., De Cremoux R. and Montel, M.C., 2007.** Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: Molecular approaches. *Systematic and Applied Microbiology*, **30**: 547-560.
- Caridi A., Micari P., Caparra P., Cufari A. and Sarullo, V., 2003.** Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal*, **13**: 191-200.
- Carina Audisio M. and Maria C.A., 2010.** Bacteriocin-like substance. Producing by *Lactobacillus salivarius* subsp *salivarius* CRL1384 with anti-*Listeria* and anti-*Salmonella* effect. *Research Journal of Microbiology*, **5** (7): 667-675
- Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. and Reinheimer J., 2010.** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In : *Biotechnology of lactic bacteria : Novel Applications* (Mozzi F., Raya R.R. and Vignolo G.M., 2015). p177-192.
- Champagne C.P., Gardner N.J., Soullignac L. and Innocent J.P., 2000.** The production of freeze-dried immobilized cultures of *Streptococcus thermophilus* and their acidification properties in milk. *Journal of Applied Microbiology*, **88**: 124-131.
- Chapot-Chartier M-P., Nardi M., Chopin M-C., Copin A. and Gripon J.C., 1993.** Cloning and sequencing of PepC, a cycteine aminopeptidase gene from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 330-333

- Charlier C., Cretenet M., Even S. and Le Loir Y., 2009.** Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, **131**: 30-39.
- Cheriguene A., Chougrani F., Bekada A.M.A., El Soda M. and Bensoltane, A., 2007.** Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, **6**:1854-1861
- Chilliard Y., 1982.** Variations physiologiques des activités lipasiques et de la lipolyse spontanée dans les laits de vache, de chèvre et de la femme. *Le Lait*, INRA Edition, p126.
- Chilliard Y. and Lamberet G., 1984.** La lipolyse dans le lait matière première de l'industrie laitière: les différents types, mécanismes, facteurs de variation et signification pratique. *Le Lait. Cepid*, **64**: 544-578.
- Chilliard Y., 1997.** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre: Comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. *Annales pharmaceutiques françaises*, **59**: 1-51.
- Cholet O., 2006.** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale ABIES.UMR de Génie microbiologie des procédés alimentaires. INRA, Institut National Agronomique Paris-Grignon, p16.
- Clark, S., and J. W. Sherbon. 2000.** Genetic variants of alpha S1-CN in goat milk: Breed distribution and associations with milk composition and coagulation properties. *Small Ruminant Research*, **38**:135-143.
- Clark S. and Mora Garcia M.B., 2017.** A 100-Year Review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*, **100**:10026-10044
- Cogan T.M., O'Dowd M. and Mellerick D., 1981.** Effects of pH and sugar on acetoin production from citrate by *Leucostoc lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **41**: 1-8.
- Collins Y.F., McSweeney P. and Wilkinson M.G., 2003.** Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of dairy Researsh*, **70**: 105-113.
- Corrieu G. and Luquet F. M., 2008.** *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Editions TEC & DOC, Lavoisier, P271-415 ; 441-442.

Corsetti A., Rossi J. and Gobbetti M., 2001. Interactions between yeasts and bacteria in the smear surface-ripened cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, **69** (1-2): 1-10.

Coulibaly I., 2010. Contribution à l'étude de la résistance au séchage des bactéries lactiques. Dissertation originale. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques et ingénierie biologie, Faculté Agro-Bio Tech. Université d Liège - Gembloux. P49

Crow V.L., Holland R., Pritchard G.G. and Coolbear T., 1994. The diversity of potential cheese ripening characteristics of lactic acid bacteria. 2. The levels and subcellular distributions of peptidase and esterase activities. *International Dairy Journal*, **4**: 723-742.

Dahou A. E., 2017. Etude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques, spécialité Production et Biotechnologie animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abdelhamid Ben Badis - Mostaganem. P 99-100.

Dalmaso M., Prestoz S., Rigobello V. and Demarigny Y., 2008. Behavior of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar. *diacetylactis* in a Four *Lactococcus* Strain Starter during Successive milk Cultures. *Food Science and Technology International*, **14**: 469-477.

Daoudi A., 2006. Qualité d'un fromage local à base de lait de chèvre. Thèse de Magistère. Université Chlef.

De Man J., Rogosa M. And Sharpe E., 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, **23**:130-135.

Dellaglio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., 1994. *Caractéristiques générales des bactéries lactiques*. In : *Bactéries lactiques* (De Roissard H. et Luquet F.M.). Loriga, Uriage, **1**: 25-116.

Dellali A., 2012. Activité lipolytique chez les bactéries lactiques. Thèse de magistère en Biotechnologie, option Ecosystèmes microbiens complexes. Université d'Oran, Algérie.

Derouiche M. and Zidoune M.N., 2015. Caractérisation d'un fromage traditionnel : le *Michouna* de la région de Tébessa, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*, **27** (11)

Desmazeaud M. and Cogan T.M., 1996. *Role of cultures in cheese ripening*. In: *Dairy Starter Cultures*. Cogan T.M. and Accolas J.P (Eds.). VCH Publishers, Inc., New York. p. 207-231.

- Desmazeaud M., 1998.** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Laboratoire de recherches laitières, INRA.
- Devriese P., Cole R., Dankert J., Frosch M. and Van Putten P.M., 2002.** *Neisseria meningitidis* producing the Opc adhesin binds epithelial cell proteoglycan receptors. *Molecular Microbiology*, **27** (6): 1203-1212
- Dharam P. and Narender R. P., 2007.** Indian traditional dairy products: an overview. International Conference on Traditional Dairy Foods. November 14-17. NDRI, KARNAL (INDIA)
- Dicks L.M.T., Dellaglio F. and Collins M.D., 1995.** Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oeunococcus oeni* [corrig] gen. nov., comb. nov. *Journal of Systematic Bacteriology*, **45**: 395-397.
- Dimopoulou M., 2013.** Les polysaccharides de la bactérie lactique *Oenococcus oeni*, de l'élucidation de leurs structures et voies de biosynthèse à leur valorisation technologique. Thèse de doctorat, spécialité Œnologie, Université de Bordeaux 2. P9.
- Drider DJ. and Prevost H., 2009.** Bactéries lactiques, physiologies, métabolismes, génomiques et applications industrielles. P593.
- Drouault S. and Corthier G., 2001.** Effet des bactéries lactiques intégrées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research*, **32**: 101-107
- Endo A., and Okada S., 2006.** *Oenococcus kitaharae* sp. Nov., a non-acidophilic and non-malolactic-fermenting *Oenococcus* isolated from a composting distilled shochu residue. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**: 589-592.
- Ercolini D., Russo F., Ferrocino I. and Villani, F., 2009.** Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiology* **26**: 228-231.
- Exterkate F.A., 1977.** Pyrrolidone carboxylate peptidase in *Streptococcus cremoris*: dependence on an interaction with membrane components. *Journal of Bacteriology*, **129**: 1281-1288.
- Felliachi K., Kerboua M., Abdelfettah M., Ouakli K., Selhab F., Boudjakdji A., Takoucht A., Benani Z., Zemour A., Belhadj N., Rahmani M., Khecha A., Haba A. and Ghenim H., 2003.** Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie. Commission nationale AnGR, ministère de l'agriculture et du développement rurale. Octobre, 1-14.

Feutry F., Oneca M., Berthier F. and Torre P., 2010. Biodiversity and dynamics of lactic acid bacteria in PDO Ossau-Iraty cheese made from raw ewe's milk. *International Journal of Food Microbiology*.

Flacher F., 2016. Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs : cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles, Thèse de Doctorat en Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, p.20.

Flambart B., Richard J. and Juillard V., 1997. Interaction between proteolytic strains of *Lactococcus lactis* influenced by different types of proteinase during growth in milk. *Applied environmental Microbiology*, **63**: 2131-2135.

Fleming H.P., Etohells J.L and Costillow R.N., 1975. Microbiological inhibition of isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied and Environmental Microbiology*, **30**: 1040-1042.

Forquin M.P., 2010. Etude de *Brevibacterium auranticum*, une bactérie d'affinage de fromage : de son métabolisme de soufre à son interaction avec *Kluyveromyces lactis*. Thèse de doctorat. AgroParisTech. p208

Foucaud-Scheunemann C., 2005. La fabrication du fromage, les connaissances. INRA. Unité de Recherches en Technologie et Analyses Laitières. Ed, Cepil, Paris, p17.

Foulquié-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. and De Vuyst L., 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, **106**: 1-24.

Fredrickson A.G., 1977. Behaviour of mixed cultures of microorganisms. *Annual Review of Microbiology*, **31**: 63-87

Gaddour A., Najari S. and Ouni M., 2007. Dairy performance of the goat genetic groups in the southern Tunisian. *Agricultural journal*, **2** (2): 248-253.

Galia W., 2011. Caractérisation de la variabilité du système protéolytique de surface de la bactérie lactique *Streptococcus thermophilus*. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques. Institut National Polytechnique de Lorraine ; Université de Nancy. P32-76.

- Garault P., Le Bars D., Besset C., Monnet V., 2002.** Three Oligopeptide-binding Proteins Are Involved in the Oligopeptide Transport of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Biological Chemistry*, **277** (1): 32-39.
- Gast M., Maubois J-L. and Adda J., 1969.** Le lait et les produits laitiers en Ahaggar. INRA, Paris.
- Gaucheron F., 2005.** Minerals of milk. Reproduction, nutrition and development. *Reproduction Nutrition Development*, **45** (4):473-483.
- Gemelas L., Rigobello V., Ly-Chatain M.H. and Demarigny Y., 2013.** Selective *Lactococcus* enumeration in raw milk. *Food and Nutrition Sciences*, **4**: 49-58
- Giannino M.L., Aliprandi M., Feligini M., Vanoni L., Brasca M. and Fracchetti F., 2009a.** A DNA array based assay for the characterization of microbial community in raw milk. *Journal of Microbiological Methods*, **78**: 181-188.
- Giannino M.L., Marzotto M., Dellaglio F. and Feligini, M., 2009b.** Study of microbial diversity in raw milk and fresh curd used for Fontina cheese production by culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, **130**: 188-195.
- Gobbeti M., Smacchi E. and Corsetti A., 1997.** Purification and characterization of a cell surface-associated esterase from *Lactobacillus fermentum* DT41. *International Dairy Journal*, **7**: 13-21.
- Gonzalez A., Larroy C., Biosca J.A. and Ariño J., 2008.** Use of the TRP1 auxotrophic marker for gene disruption and phenotypic analysis in yeast: a note of warning. *FEMS Yeast Res*, **8** (1): 2- 5.
- Godon J.J., Delorme C., Bardowski J., Chopin M.C., Ehrlich S.D. and Renault P., 1993.** Gene activation in *Lactococcus lactis* branched-chain amino acid biosynthesis. *Journal of Bacteriology*, **175**: 4383-4390.
- Goupil-Feuillerat N., Coccagn-Bousuet M., Godon J.J., Ehrlich S.D and Renault P., 1997.** Dual role of alpha-acetolactate decarboxylase in *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. *Journal of Bacteriology*, **179** (20): 6285-6293.
- Gourbeyre P., Denery S. and Bodinier M., 2011.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *Journal of Leukocyte Biology*, **85**: 685-695.
- Grattepanche F., 2005.** Étude d'un système de pré-fermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisé fonctionnelle. Thèse de doctorat en sciences et technologie des aliments. Université Laval, Canada. P9.

- Guéguen L., 1996.** La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre In: Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre, Nfiort, Ed INRA, Paris Colloques 7, 67-80.
- Guennoc C.M., 2017.** Etude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, p. 20, 24.
- Guetouache M., Guessas B. and Medjkal S., 2015.** Technological and Biochemical characterization of Lactic Acid Bacteria isolated from Algerian Traditional Dairy Products. *World Applied Sciences Journal*, **33** (2): 234-241
- Guiraud J.P., 2003.** *Microbiologie alimentaire*. Dunod-RIA., p696.
- Guo M.R., Dixon P.H., Park Y.W., Gilmore J.A. and Kindsedt P.S., 2001.** Seasonal changes in the chemical composition of commingled goat milk. *Journal of Dairy Science*, **84** (E. Suppl.): E79-E83.
- Guyot-Declerck C., LeBerre E. And Bruneau E., 2001.** Analyse sensorielle: Mode d'emploi. *Abeilles & C^{ie}*, 82 : 22-26.
- Hadef S., 2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magistère. Option: Microbiologie Appliquée. Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Hagting A, Kunji E.R.S., Leenhouts K.J., Poolman B. and Kunings W.N., 1994.** The di- and tripeptide transport protein of *Lactococcus lactis*. *Journal of Biological Chemistry*, **269**: 11391-11399.
- Hallal A., 2001.** Fromages traditionnels algérien. Quel avenir ?. Revue *agroligne* n° 14, Avril- Mai.
- Hansal N., 2015.** Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *Leuconostoc mesenteroides* isolé à partir du lait cru de chèvre. Thèse de magistère en Biologie, Option: Microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Oran1. P109.
- Hassaine O., Zadi-Karam H and Karam N.E., 2007.** Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedaries*). *African Journal of Biotechnology*, **6** (14): 1720-1727.
- Hassaine O., 2013.** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie. Université d'Oran Es-Senia, 57-102.

- He X., Hu W., He J., Guo L., Lux R., and Shi W., 2011.** Community-based interference against integration of *Pseudomonas aeruginosa* into human salivary microbial biofilm. *Molecular Oral Microbiology*, **26** (6): 337-352.
- Hegazi F.Z and Abo-Elnaga I.G., 1980.** Degradation of organic acids by dairy acid bacteria. *Zeitschrift für Bakteriologie, Supplementum*, **135**: 212-222.
- Helist P. and Korpela T., 1998.** Effect of detergents on activity of microbial lipases as measured by nitro phenyl alkanoate esters method. *Enzyme and Microbial Technology*. **23**: 113-117
- Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. and Caubet R., 2008.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. International Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.
- Hogg T. 2008.** *Essential microbiology*. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190
- Holland R., Liu S.Q., Crow V.L., Delabre M.L., Lubbers M., Bennett M. and Norris G., 2005.** Esterases of acid lactic bacteria and cheese flavour: milk fat hydrolysis vs alcoholysis. *International Dairy Journal*, **15**: 711-718.
- Huggins A.R., and Sandine W.E., 1984.** Differentiation of fast and slow milk coagulating isolates in strains of streptococci. *Journal of Dairy Science*, **67**: 1674-1679.
- Imran M., Bré J-M., Guéguen M., Vernoux J-P and Desmasures N., 2013.** Reduced growth of *Listeria monocytogenes* in two model cheese microcosms. *Food Microbiology*, **33**: 30-39.
- Jaubert G., 1997.** Biochemical characteristics and quality of goat milk. CIHEAM, ed fao. *Cahiers Options Méditerranéennes*, **25**: 71-74.
- Kalogridou-Vassiliadou D., Manolkidis K. and Hatziminaoglou J., 1991.** Changes in mastitis pathogens in goat milk throughout lactation. *Small Ruminant Research*, **4**: 197-201.
- Kandler O. and weiss N., 1986.** *Regular, non sporing Gram-positive rod :Genus Lactobacillus*. In :*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol 2 (eds. Sneath P.H.A., Mair N., Sharpe M.E. & Holt J.G.) Baltimore : Williams & Wilkins. p1208-1234
- Keller P., Boltacini F., Mahony J., Kilcawley K-N. and Van Sinderen D., 2017.** Comparative and functional genomics of *Lactococcus lactis* taxon, insights into evolution and niche adaptation. *BMC genomics*, **18** (267): 1-20.

- Kerba A., 1995.** Base des données sur les races caprines en Algérie base de données FAO, ed fao p19-39
- Kieronczyk A., Skeie S., Langsrud T. and Yvon M., 2003.** Cooperation between *Lactococcus lactis* and nonstarter lactobacilli in the formation of cheese aroma from amino acids. *Applied and Environment Microbiology*, **69**: 734-739.
- Klaenhammer T.R., Barrangou R., Buck B.L., Azcarate-Peril M-A and Altermann E., 2005.** Genomic features of lactic acid bacteria affecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Review*, **29** (3): 393-409.
- Kunji E.R.S., Smid E.J., Plapp R., Poolman B. and Koning W.N., 1993.** Di-tripeptides and oligopeptides are taken up via distinct transport mechanisms in *Lactococcus lactis*. *Journal of Bacteriology*, **175**: 2052-2059.
- Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M and Ouhssine M., 2005.** Sélection de souches de bactéries lactiques antimicrobiennes. *Soc. Pharm. Bordeaux*. **144** (2) : 37, 250
- Laurent S., 1998.** *Manuel de bactériologie alimentaire*. Poly technica, Paris. 307 p.
- Leksir C. and Chemmam M., 2015.** Contribution à la caractérisation du *klila*, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. *Livestock Research for Rural Development*. **27** (5).
- Leroy F. and De Vuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, **15**: 67-78.
- Leveau J.Y. and Bouix M., 1993.** *Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel*. Paris. Tec & Doc, Lavoisier. 85-87.
- Liu S.Q., Holland R. and Crow V.L., 2003.** Ester synthesis in aqueous environment by *Streptococcus thermophilus* ST1 and other dairy lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **62**: 81-88.
- Lotral S., 1995.** L'autolyse des bactéries, phénomène de l'affinage. *Prosses-Rennes* 1111:61-62.
- Lortal S. and Chapot-Chartier M.P., 2005.** Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *International Dairy Journal*, **15** (6-9): 857-871.
- Maciejewski T., Limsowtin G.K.Y. and Powell I.B., 1998.** Modified starter activity tests. *Australian Journal of Dairy Technology*, **53**: 135.

Maillet A., Guéguen M. and Desmasures N., 2010. Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative de laits crus normands destinés à la transformation fromagère. 8ème Congrès National de la SFM, 2-4 juin 2010, Marseille.

Maitre M., 2012. Le chaperon Moléculaire Lo18 de *Oenococcus oeni* : Caractérisation de ses activités en lien avec sa plasticité oligomérique. Thèse de doctorat, spécialité : Microbiologie, Université de Bourgogne. P10.

Mallet A., Guéguen M. and Desmasures N., 2010. Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative de laits crus normands destinés à la transformation fromagère. 8ème Congrès National de la SFM, 2-4 juin 2010, Marseille.

Marchal N., Bourdon J.L. and Richard C.L., 1991. *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. 3^e Ed. Doin éditeurs. Paris.

Martin P., and Addeo P., 1996. Genetic polymorphism of casein in the milk of goats and sheep. Pages 45-58 in Production and Utilization of Ewe and Goat Milk; Proc. IDF/Greek National Committee of IDF/CIRVAL Seminar, Crete, Greece

Mayra-Makinen A. and Bigret M., 2004. *Industrial use and production of lactic acid bacteria*. In: *Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects*. 3e Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. P73-102.

Mechai A., Debabza M. and Kirane D., 2014. Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal*, **21**(6): 2451-2457.

Medouni Y., Omrane B. and Khader M., 2004. Etude du système d'élevage et du mode d'exploitation des parcours collectifs, cas de la zone Ain Oussara (Djelfa) Algérie. *SIHEAM-Option Méditerranéennes*. Série A, **6** : 279-288

Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M. and Elyachioui M., 2007. Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, **2** (1): 23-27.

Monnet V., Gripon J.C., 1994. *Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques*. In **De Roissart H. and Luquet E.M.** Ed Lorica. 331-348.

- Monnet, V., 2006.** Streptococcus thermophilus, un streptocoque atypique et sympathique. Bulletin de la Société Française de Microbiology. 23-28.
- Montel M.A., 2003.** Pratiques d'élevage, microflore du lait et qualité des produits laitiers. Prod. Anim.-France : INRA, **16** (4): 279- 282
- Montel M.A., Delbes-Pausa C., Vuitton D.A., Desmasures N. and Berthier F., 2014.** Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. International Journal of food microbiology, **177**: 136-154.
- Mora-Gutierrez A., Kumosinski T.F and Farrell H.M., 1991.** Quantification of α s1-casein in goat milk from French-Alpine and Anglo-Nubian breeds using reversed-phase high performance liquid chromatography. Journal of Dairy Science, **74**: 3303-3307.
- Moualek I., 2011.** Caractérisation du lait de chèvre collecté localement : Séparation chromatographique et contrôles électrophorétiques des protéines. Thèse de magistère en Sciences Biologiques, option Biochimie Appliquée et Biotechnologie. Université Mouloud Maameri de Tizi-Ouzou.
- Mouzali L., Aziza M., Bensiamer-Touati K. and Hellal-Benataya A., 2004.** Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) used as vegetable rennet in an Algerian traditional cheese making Jben. Acta Horti, **660**: 207-213.
- Nacef M., Chevalier M., Chollet S., Drider D. and Flahaut C., 2016.** MALDITOF Mass Spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese: The Maroilles. International Journal of Food Microbiology **247**: 2-8.
- Nakajima H., Hagting A., Kunji E.R.S., Poolman B. & Konings W.N., 1997.** Cloning and functional expression in *Escherichia coli* of the gene encoding the di and tripeptide transport protein of *Lactobacillus helveticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**: 2213-2217.
- Ngassam Tchamba C., 2007.** Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal : cas de la zone de Niayes. Thèse de doctorat. Université Anta Diop de Dakar.
- Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M. and Dadie A., 2009.** Characterization of purified coagulant extract from artichoke flower (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheese in Algeria. *Journal of food technology*, **7** (1): 20-29.

- Ouadghiri M., Mohamed A., Vancanneyt M. and Swings J., 2005.** Biodiversity of acid lactic bacteria in Moroccan soft cheese 'Jben'. *FEMS Microbiology Letters*, **251**: 267-271.
- Owusu-Kwarteng J., Akabanda F., Nielsen D., Tano-Debrah K., Glover R.L.K. and Jespersen L., 2012.** Identification of acid lactic bacteria isolated during traditional Fura processing in Ghana. *Food Microbiology*, **32** (1): 72-78.
- Park Y. W. and Haenlein G.F.W., 2006.** Therapeutic and hypo - allergenic values of goat milk and implication of food allergy. In: *Handbook of milk of non e bovine mammals* .Y. W. Park, & G. F. W. Haenlein (Eds). Oxford, UK, and Ames: Blackwell Published. 121-136
- Park Y.W., Juarez M., Ramos M. and Haenlein G.F.W., 2007.** Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, **68**: 88-113.
- Pérez Ibarreche M., Castellano P. &Vignolo G., 2014.** Evaluation of anti *Listeria* meat borne *Lactobacillus* for biofilm formation on selected abiotic surfaces. *Meat Science*, **96**: 295-303.
- Pfeiler E.A. and Klaenhammer T.R., 2007.** The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, **12**: 546-553.
- Pilet M.F., 2005.** *Classification des bactéries lactiques*. In : *Bergey's Manual., Systematic Bacteriology*. Second Edition. P 625.
- Pilet M.F., Magras C. and Federighi M., 2005.** *Bactéries lactiques*. In: *Bactériologie alimentaire (Federighi M.)*. 2^e Ed., Economica. Paris. 219-240.
- Plou F.G., Ferrer M., Nuevo O.M., Alcalde M., Reyes F. and Ballesterero A., 1998.** Analysis of Tween 80 as an esterase/lipase substrate for lipolytic activity assay. *Biotechnology Techniques*, **12**: 183-186.
- Poznanski E., Cavazza A., Cappa F. and Cocconcelli P.S., 2004.** Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *International Journal of Food Microbiology*, **92**: 141-151.
- Rasolofa E.A., St-Gelais D., LaPointe G. and Roy D., 2010.** Molecular analysis of bacterial population structure and dynamics during cold storage of untreated and treated milk. *International Journal of Food Microbiology*, **138**: 108-118.

- Rattanachaikunsopon P. and Phumkhachorn P., 2010.** Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research*, **1** (4):218-228.
- Ratti R.P., Gomes B.C., Martinez R.C.R., Souza V.M. and De Martinis E.C.P., 2010.** Elongated cells of *Listeria monocytogenes* in biofilms in the presence of sucrose and bacteriocin producing *Leuconostoc mesenteroides* A11. *Ciência e Tecnologia d'Alimentos*. **30** (4): 1011-1016
- Raynaud S., 2006.** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de doctorat Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries; Université de Toulouse. 27-35
- Remeuf F., Lenoir J. and Duby C., 1989.** Etude des relations entre les caractéristiques physicochimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, **69**: 499-518.
- Retureau E., Callone E., Robert D. And Monto M-C., 2010.** Is microbial diversity an asset for inhibiting *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Dairy. Scie. Technol*, **30**: 375-398
- Roncal T., Caballero S., Diaz de Guereñu M.M., Rincon I., Pietro-Fernandez S and Ochoa-Gomez J.R., 2016.** *Lactococcus lactis*, a microbial Platform for acetoin and 2,3-butanediol production. 1st Conferences on Bioresources Technology of Bioenergy, Bioproducts & environmental sustainability. Sitges (Spain), 23-26 October 2016.
- Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. and Karam N-E., 2009.** Protéolyse et autolyse chez deux *Lactobacillus* isolés de lait camelin du sud ouest Algérien. Eurojournal publishing Inc. *European Journal of Scientific Research*, **34** (2) : 218-227.
- Roudj S., 2010.** Protéolyse chez *Lactobacillus* : purification et caractérisation de protéases et aminopeptidases. Thèse de doctorat en Biotechnologie, Option : Biochimie Microbienne, Université d'Oran. p18-24.
- Sàde E., 2001.** *Leuconostoc* spoilage of refrigerated foods. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en médecine vétérinaire. Université d'Helsinki. 2001. p15
- Salmeron J., de Vega C., Perez-Elortondo F.J., Albisu M. and Barron L.J.R., 2002.** Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food Microbiology*, **19**: 167-174.

- Salminen S., Von Wright A. and Ouwehand A., 1998.** *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. 3rd edition, revised and expanded. Marcel Dekker, New York, N.Y.
- Salminen H., Varmola M., Timonen M., 2004.** Thinning response and growth trends of seeded scots pine stands at the arctic timberline. *Silva Fennica Review* 38 .71-83p
- Saubusse M., Millet L., Delbes C., Callon C. and Montel M.C., 2007.** Application of Single Strand Conformation Polymorphism - PCR method for distinguishing cheese bacterial communities that inhibit *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, **116**: 126-135.
- Savijokie K., Ingmer H. and Varmanen P., 2006.** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **71**: 394-406.
- Savilahti, E., Kuitunen, M., and Vaarala, O. 2008.** Pre and probiotics in the prevention and treatment of food allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, **8**: 243-248
- Serna L. and Rodriguez A., 2006.** Lactic acid production by a strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from sugar cane plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, **9** (14): 4-45
- Shah N.P., 2007.** Functional cultures and health benefits. *International dairy journal* **17**: 1262-1277.
- Singleton P., 1999.** *Bacteriologie*. 4ème Edition. Dunod, Paris. p317.
- Skapetas B. and Bampidis V., 2016.** Goat production in the World: present situation and trends. *Livestock Research for Rural Development* **28** (11).
- Stiles M.E. and Holzapfel W.H. (1997).** Lactic acid bacteria of food and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, **36**: 1-29.
- Subramanian A. and Rodriguez Saona L., 2010.** *Chemical and instrumental approaches to cheese analysis*. In: *Advances in food and nutrition research*. **Taylor S.** Ed: Academic Press. Elsevier, USA, **59**: 170-172
- Tabak S., Djamil M. and Bensoltane A., 2012.** The antagonistic activity of the lactic acid bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus bulgaricus*) against *Helicobacter pylori* responsible for the gastroduodenal diseases. *Journal of Agricultural Science and Technology*. **12**: 709-715.

Tamime A.Y., 2002. *Microbiology of starter cultures.* In : *Dairy microbiology handbook (Robinson R.k.)* . 3rd Ed., New York. John Wiley and sons, Inc. p261-366

Taylor S., 2010. *Advances in food and nutrition research.* Ed: Academic Press. Elsevier, USA.

Terzaghi B. E. and Sandine W. E., 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*, **29**: 807-813.

Thompson J. and Gentry-Weeks C.R., 1994. *Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques.* In : *Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.)*. Lorica, Uriage. **1** : 239-290.

Tormo H., 2010. Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvres et facteurs de variabilité. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en pathologie, toxicologie, génétique et nutrition. Université de Toulouse. p 28, 31-34

Tormo H, Delacroix-Buchet A, Lopez C, Ali Haimoud Lakhel D and Roques C., 2011. Farm management practices and diversity of the dominant bacterial species in raw goat's milk. *International Journal of Dairy Science*.

Tsakalidou E., Zoidou E., Pot B., Vassil L., Ludwig W., Devriese L.A, Kalantzopoulos G., Schleifer K.H. and Kersters K., 1998. Identification of streptococci from Greek Kasserli cheese and description of *Streptococcus macedonicus* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **48**, 519-527.

Van de Meer, P., 1993. Impacts écologiques potentiels à long terme des organismes génétiquement modifiés, Etude des documents, des lignes directrices et de la législation, les éditions du Conseil de l'Europe, p50.

Veinoglou B., Baltadjieva M., Kalatzopoulos G., Stamenova and Papadopoulou E., 1982. La composition du lait de chèvre de la région de Plovidiv en Bulgarie et d'Ionnina en Grèce. *Lait*, **62**: 155-165.

Vucotik G., Mirkocić N., Jovčić B., Miljković M., Strahinić I., Fira D., Radulović Z. and Kojić M., 2015. Proteinase « prtP » impairs lactococcal LcnB activity in *Lactococcus lactis* BGMN1-501 : new insight into bacteriocin regulation. *Frontiers in Microbiology*, **6** (92): 1-8.

Vuillemard J.C., 1986. Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & doc, Lavoisier*, Paris. **3**: 1-65.

Vyleteyola M., Hanus O., Urbanova E. and Kopunecz P., 2000. The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions. *Czech Journal of Animal Sciences*, **4**: 373-383.

Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J. and Smit G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, **12**: 19-109.

Yaoa A., Egounlety M., Kouame L.P. and Thonart P., 2009. Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylicées et fermentés de l'Afrique de l'ouest : leur utilisation actuelle. *Annales de médecine vétérinaire*, **153**: 54-65.

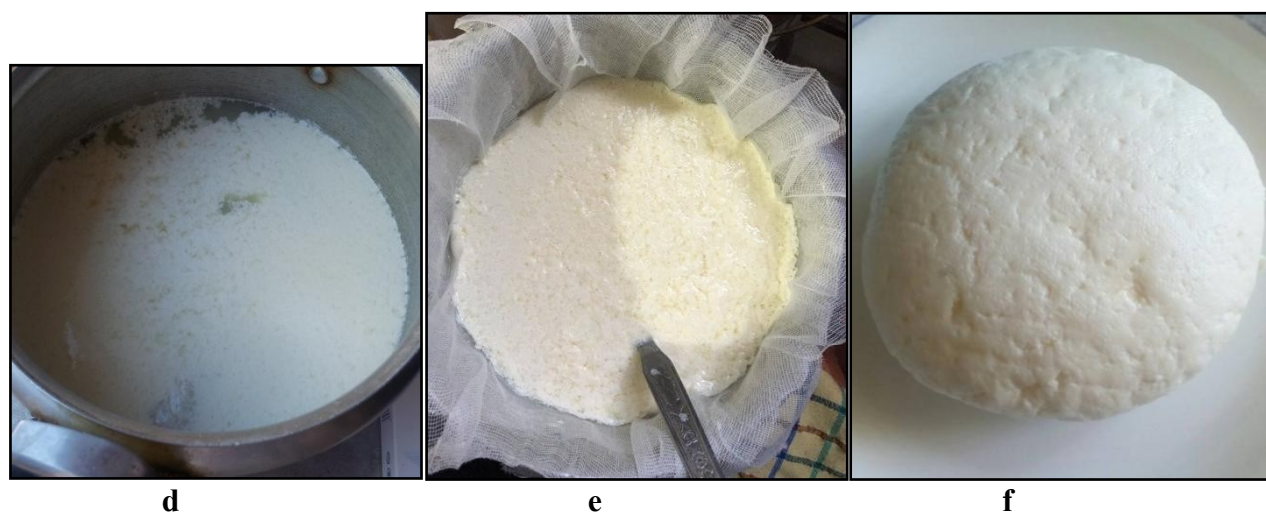
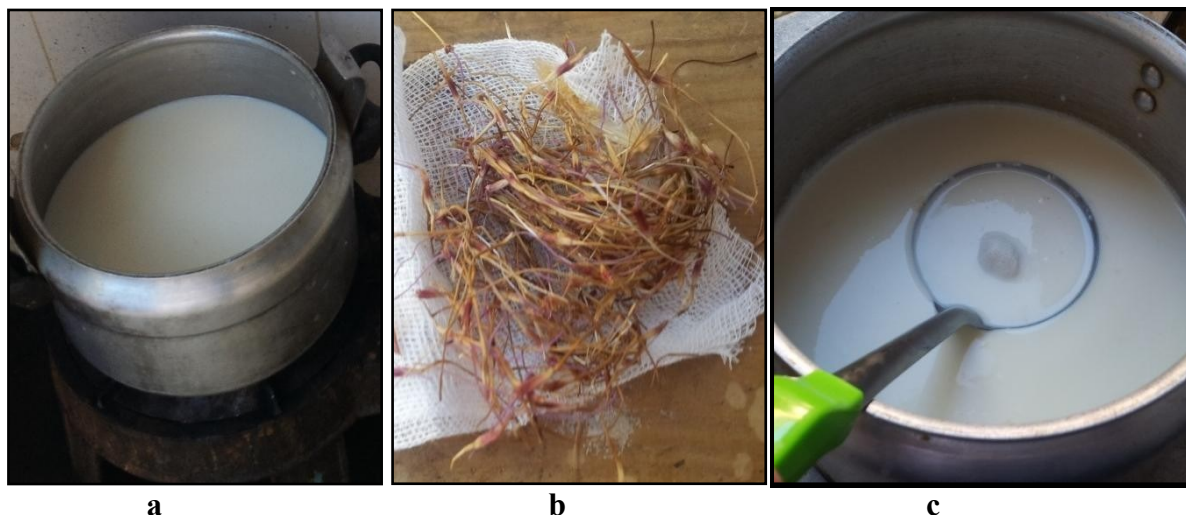
Yildiz F., 2010. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products.* Taylor & Francis Group, United State.

Zad H., 1998. Bactéries lactiques isolées de lait de *Camelus dromedarius*: étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de doctorat d'état. Université de Constantine Algérie.

Zaidi O., Zertal M. and Zidoune M.N., 2000. Présentation d'un fromage traditionnel Bouhezza. *Journal Algérien de Médecine*, **2**: 96-101.

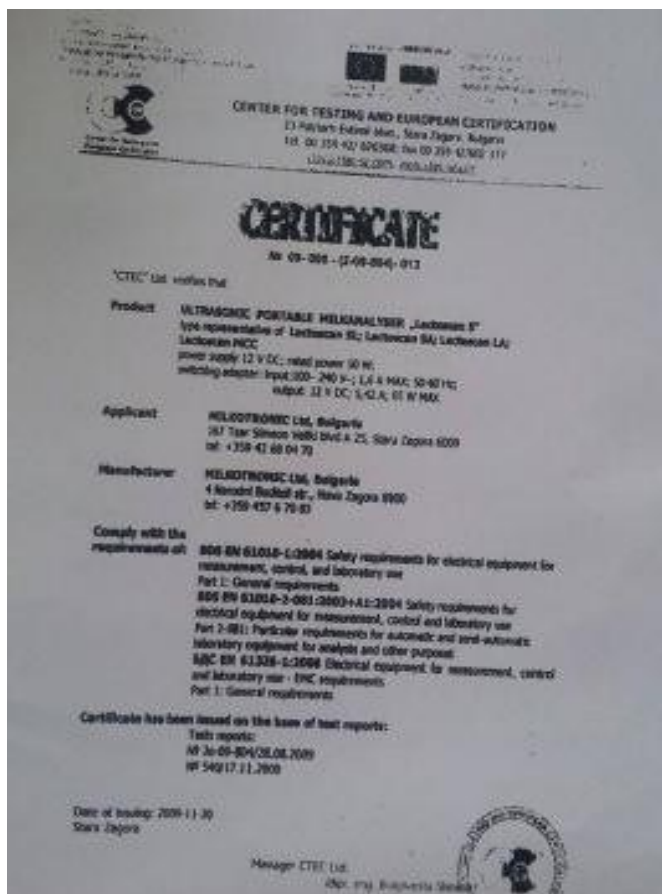
ANNEXES

Annexe1 : Etapes de préparation d'un Jben traditionnel de Naâma.

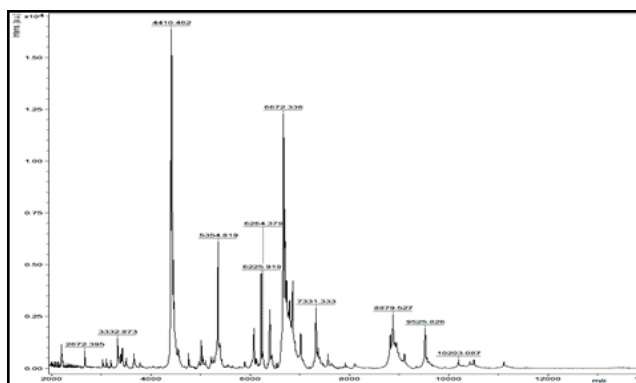


Chauffage de lait ; b) Haka végétale ; c) Ajout de la haka dans le lait ; d) Coagulation du lait ;
e) Egouttage ; Jben fini.

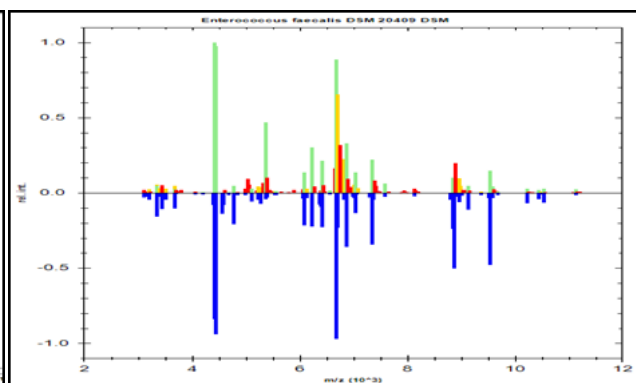
Annexe 2 : Analyse des paramètres physicochimique des laits de chèvre par lactoscan
 (Lactoscan® Ultrasonic Portable Milk Analyser, MILKOTRONIC LTD et certificat de l'appareil).



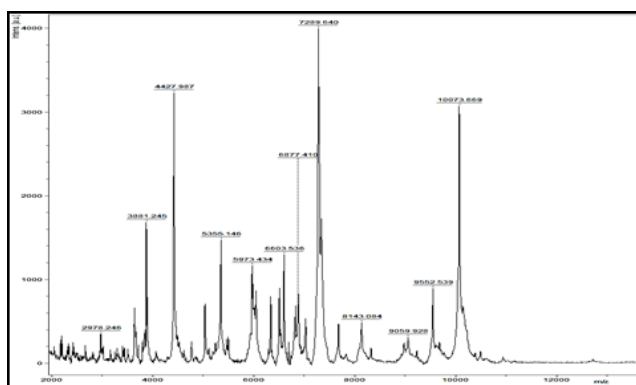
Annexe 3: Profils des spectres de MALDI-TOF/MS (A, B, C, D, E et F) et les identifications des bactéries, obtenus de souches différentes (G, H, I, J, K et L).



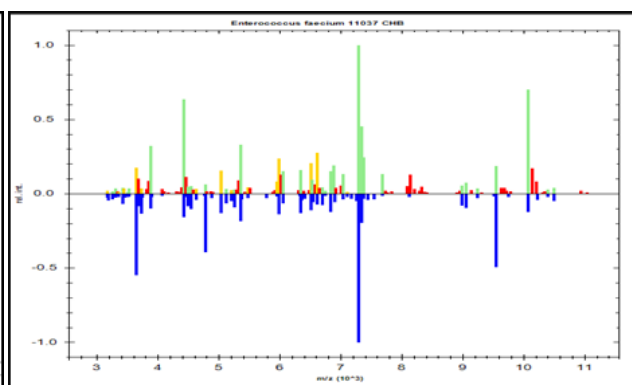
A



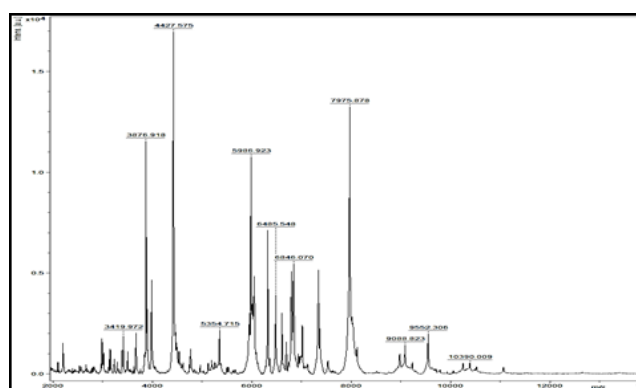
G



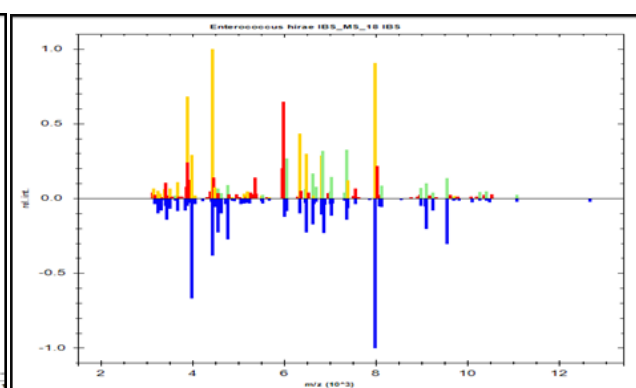
B



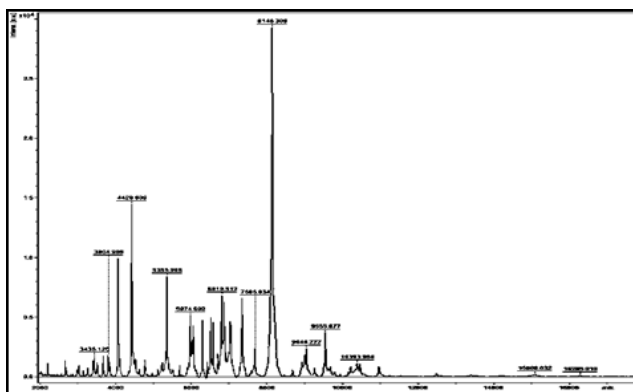
H



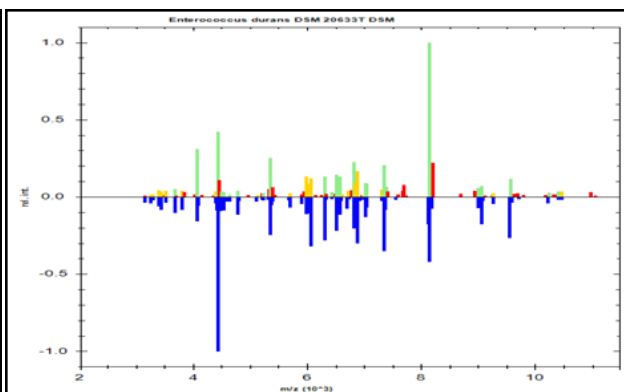
C



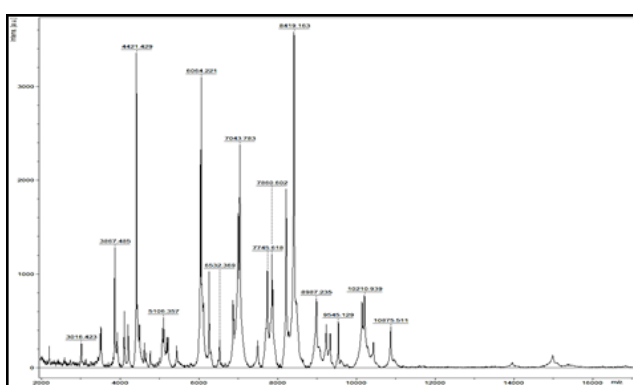
I



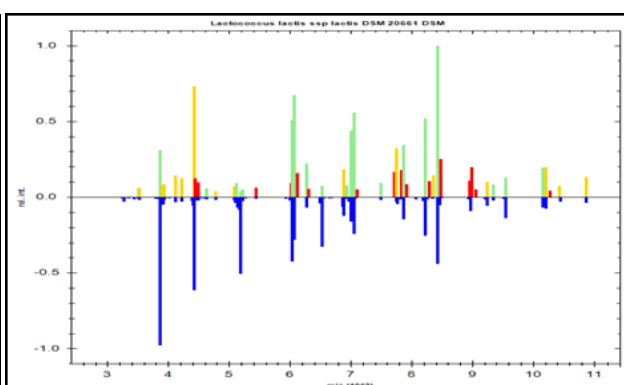
D



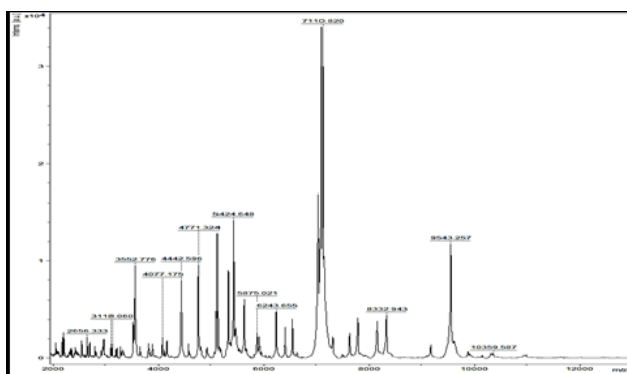
J



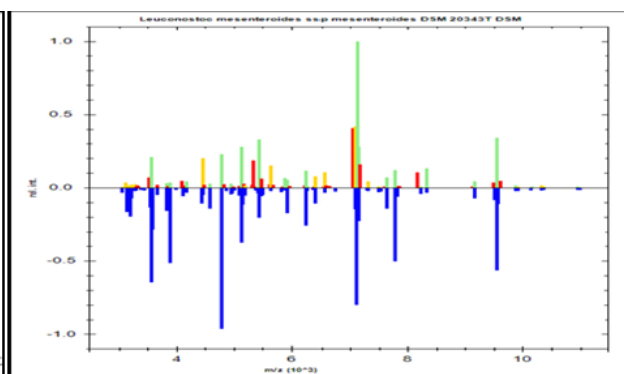
E



K



F



L

Les scores d'identifications sont : 2.24 pour *Enterococcus faecalis* (A et G), 2.30 pour *E. faecium* (B et H), 2.21 pour *E. hirae* (C et I), 2.24 pour *E. durans* (D et J), 2.20 pour *Lactococcus lactis* (E et K) et 2.22 pour *Leuconostoc mesenteroides* (F et L).

Annexe 4 : Compositions des milieux de culture :**Milieu MRS :** (pH 6,5). Eau distillée qsp 1000ml

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0,2g
Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O	0,5g

Pour obtenir un milieu solide on ajoute l'agar-agar Agar 18g

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min (De Man et *al.*, 1960)

Milieu M17 : (pH 7,1). Eau distillée qsp 1000ml

Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
Tryptone	5g
Peptone papainique de soja	2,5g
Peptone pepsique de viande	5g
Acide ascorbique	0,5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Mg SO ₄	0,25g

Pour obtenir un milieu solide on ajoute l'agar-agar Agar 18g

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min (Terzaghi and Sandine, 1975).

Milieu PCA –Lait : (pH 7,2). Eau distillé qsp 1000ml

Tryptone	5g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	1g
Poudre de lait écrémé (0%)	1g
Agar-agar	15g

Stérilisation par autoclavage à 115°C pendant 20 min (Gemelas et *al.*,2013).

Bouillon Nitraté : (pH7). Eau distillé qsp 1000ml

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Nitrate de potassium	1g

Bouillon Clark & Lubs : (pH7,5). Eau distillé qsp 1000ml

Peptone	5g
Glucose	5g
K ₂ HPO ₄	5g

Gélose aux triglycérides : (pH 6,5). Eau distillé qsp 1000ml

Peptone	15g
Extrait de levure	13g
Triglycérides	10ml
Agar	15g

Stérilisation à 110°C pendant 5min.


Annexe 4 : Fiche d'analyse sensorielle comparative du fromage

Nom :

Date :

Age :

Occupation :

Examen :	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4	Points à examiner :		
Visuel : 					Surface : Lisse Brillante Granuleuse	Couleur : Blanche Blanc Crème Ivoire Jaune pâle	Aspect : Ferme Sableux Friable - Plâtreux Onctueux - Coulant
Olfactif : 					Arômes : (suite Page2) Lactique Végétal Fruité, floral Torréfié Animal, épicé Autres	Intensité : Forte Pénétrante, intense Fade Typée Piquante	
Gustatif : 					Description de la saveur : (+/++) Sucrée Acide Salée Amère	Descriptions des sensations : Douceur - Piquant Acre - Brûlant Fondant - Crémeux Onctueux - Corsé	Description de la finale en bouche : Agréable Très typique Riche en arôme Intense en goût Persistante Plutôt courte

Mon échantillon préféré :

Mon classement (du meilleur au moins bon) :

Précisez sur la fiche les **aromes** perçus en utilisant le vocabulaire suivant :

Lactique : Lait frais Beurre Petit lait Yogourt Crème	Végétal : Herbe Ortie Foin Copeaux Champignons	Fruité/floral : Noisette Fruits secs Agrumes Fleurs Miel
Torréfié : Fumé Amandes grillées Oignon grillé Caramel	Animal/épicé : Poivre Vanille Muscade Etable Caprine	Autres : Cave Humide

Echantillons :	Impression d'ensemble : Préférences personnelles
Ech1	
Ech2	
Ech3	
Ech4	

Choisissez parmi ces impressions ce qui vous semble convenir à chaque échantillon :

- Je n'aime pas du tout / déteste cet aliment car...
- Je n'aime pas cet aliment car...
- Pas d'impression particulière car...
- J'aime bien cet aliment.car...
- J'aime beaucoup cet aliment car...