

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Exploitation des Ecosystèmes microbiens laitiers

THEME

Utilisation des isolats de lactocoques dans la fabrication d'un beurre de type artisanal

Réalisé par :

Mlle. BRAHAMI Soumiya

Soutenu le : 06/ 07 / 2017

Devant le jury :

Président : Mr MOULAY Mohammed

Examinatrice : M. Belmahdi

Encadreur : Mr. NEMICHE Said

Co encadreur : Mr. DAHOU El Amine

Année universitaire : 2016-2017

Remerciement

Au terme de ce travail, je remercie avant tout, le bon dieu de m'avoir guidé tout au long de ma vie.

*Je voudrai remercier particulièrement mon prometteur **Mr. Nemiche said**, d'avoir accepté de m'encadrer, pour toute son aide, sa disponibilité, son suivi et sa confiance.*

*Je tiens à de remercier le professeur **Mr. Homrani**, de m'avoir permis d'effectuer mon stage au laboratoire des sciences et techniques de production animale Hassi Mamèche'université Abdelhamid Ibn Badis, wilaya de Mostaganem.*

Je tiens à de remercier également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de mon travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A toute ma famille en particulier, ma mère, mon père, mes frères, mes sœurs et mon fiancé

A tous mes professeurs, en particulier, Mr NEMICHE Saïd

A toutes mes amies, en particulier : Mr DAHOU EL Amine

*En fin je dédie ce travail à toute la promotion 2^{ème} master d'Exploitation des Ecosystèmes
microbiens laitiers 2016.*

Soumiya

Liste des figures :

Figure 01 : Microstructure du beurre à température ambiante.....16

Figure 2 : beurre et babeurre.....17

Liste des photos :

Photo (01) : Microstructure du beurre à température ambiante

Photo(02) : beurre et babeurre.

Photo (03) : maturation de la crème fraîche pasteurisé.

Photo (04): l'aspect du beurre final.

Photo (05) : la crème fraîche après la stérilisation.

Photo (06) : récupération du beurre.

Photo (07) : croissance des lactocoques.

Photo (08) : coagulation de lait (coagulum et lactosérum).

Photo(09) : Activité protéolytique sur milieu MRS au lait.

Photo (10) : Aspect du gel formé par les lactocoques.

Photo(11): colonies de lactocoques sur PCA Lait.

Photo(12) : examen microscopique de lactocoques (*100).

Photo (13) : colonies de lactocoques sur le PCA.

Photo (14) : test de SHERMAN.

Photo (15) : test du type fermentaire.

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des lactocoques.....08

Tableau 02: Éléments structuraux du beurre.....16

Tableau 03 : Qualité physico-chimique de la crème fraîche.....29

Tableau 04 : Ph et V de lactosérum et coagulum.....32

Liste des abréviations :

MRS : de Man-Rogosa et Sharp.

VPI et VPII : Vogues Proskauer.

PCA : gélose pour numération

M17 : gélose de Terzagui.

pH : potentiel Hydrogène.

MG : Matière Grasse.

EPS : ExoPolySaccharide.

NAOH : hydroxyde de sodium.

H₂O₂ : L'eau oxygénée :

V : volume.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

Liste des annexes :

Annexe I : Composition des milieux de culture, réactifs

Annexe II : Coloration de Gram

Sommaire :

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des annexes

I -1-6-1-Définition.....	09
I -1-6-2-Voies fermentaires générales du métabolisme.....	09
I -1-6-2-1-Voie homofermentaire.....	09
I -1-6-2-2-Voie hétérofermentaire.....	09
I -1-7-Généralités sur les ferments lactiques.....	10
I -1-7-1-Définition du ferment lactique.....	10
I -1-7-2-Types de ferments.....	10
I -1-7-2-1-Ferments artisanaux.....	11
I -1-7-2-2-Ferments commerciaux.....	11
I -1-8-Les pouvoirs technologiques	12
I -1-8-1-Activité acidifiante.....	12
I -1-8-2-Activité protéolytique.....	12
I -1-8-3-Pouvoir aromatisant.....	12
I -1-8-4-Activité lipolytique	12
I -1-8-5-Aptitude texturant	13

Chapitre II : Le beurre.

II-1- Définition.....	15
II- 2- Structure du beurre.....	15
II-3- Fabrication traditionnel du beurre en Algérie.....	17
II- 4-Procédé de fabrication technologique du beurre standard.....	17
II -4-1.Définition de la crème.....	18
II -4-2-Préparation de la crème.....	18
II -4-3-1- Maturation physique.....	18
II- 4-3-2-Maturation biologique.....	19
II.-4-4-Transformation de la crème en beurre.....	20

II- 4-4-1-Inversion de phase.....	20
II- 4-4- 1- Lavage, salage et malaxage.....	21
II- 5-Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre.....	21
II- 6-Types du beurre.....	22
II- 6-1-Beurre fermier.....	22
II- 6-2-Beurre cru ou de crème crue.....	22
II-6-3-Beurres concentrés.....	22
II- 6-4- Beurre allégé.....	22
II- 6-5-Demi-beurre.....	22
II.6.6. Spécialités laitières à tartiner.....	23
II.6.8. Beurre extra.....	23
II.6.9. Pâtes à tartiner à teneurs en lipides réduites.....	23

PARTIE EXPERIMENTALE
Matériels et méthodes.

1-Objectif du travail.....	25
2- Matériels.....	25
2-1- Matériel biologique.....	25
2-2- Milieux de culture.....	25
2-3- Produits chimiques et réactifs.....	25
2-4-Appareillage.....	25
3- Méthodes.....	26
3-1-Test d'activation des souches.....	26
3-2-Caractère technologique.....	26
3-2-1- Pouvoir acidifiant.....	26

3-2-2-Pouvoir protéolytique.....	26
3-2-3- Pouvoir lipolytique.....	27
3-2-4-Pouvoir aromatisant.....	27
3-3-Conservation de souche.....	27
3-2-test de catalase.....	28
3-5-Identification et purification des souches.....	28
3-6- Culture de lait de Sherman.....	28
3-8-Fabrication de deux types du beurre avec l'utilisation du crème fraiche épaisse pasteurisée et stérile.....	28
3-8-1-Beurre type I.....	29
3-8-1-1-Démembrement de la crème fraiche pasteurisée.....	29
3-8-2-Beurre type II.....	29
3-8-2-1-Démembrement de la crème fraiche stérile.....	29
3-8-2-2-Recherche et démembrerment de lactocoques dans le beurre préparé.....	30
Résultats et discussion.	
	32
1-Test d'activation des souches lactocoques.....	
2- Aptitudes technologiques des isolats de bactéries lactiques.....	32
2-1- Pouvoir acidifiant.....	32
2-2-Pouvoir protéolytique.....	32
2-3- Pouvoir lipolytique.....	33
2-4- Pouvoir épaississant.....	33
2-5- Pouvoir aromatisant.....	34
3-Identification des souches.....	34
3-1-Test de catalase.....	34

3-2-Examen microscopique.....	34
4- Identification et purification des souches.....	35
5-Test de SHERMAN.....	35
6-Test du type fermentaire.....	36
7- Fabrication du beurre.....	36
7-1-Dénombrement bactérien sur la crème fraîche pasteurisée.....	36
7-2-Démembrement bactérien sur la crème fraîche stérile.....	36
7-3-Recherche et dénombrement de lactocoques dans le beurre préparé.....	37
Conclusion général.....	39
Référence bibliographique.....	41
Annexes.....	47

Sommaire

INTRODUCTION

Bien avant que l'on soit conscient de leur existence, les bactéries lactiques, ont toujours été utilisées comme ferment, elles ne sont utilisées que récemment dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et de fruits (Ross *et al.*, 2002). C'est à l'époque des grandes découvertes de la microbiologie, à la fin du 19^{ème} siècle, que des chercheurs se sont penchés sur la fermentation du lait pour trouver la cause de sa coagulation acide. Conn (1889), Storch (1890) et Weigmann (1896) ont conclu que la présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (De Roissart and Luquet, 1994).

Les bactéries lactiques sont aujourd'hui employées sous forme de ferments concentrés dans les industries de fermentation, dont l'une des plus importantes est l'industrie laitière. L'isolement et la sélection des microorganismes de leurs milieux naturels sont parmi les méthodes les plus employées par les microbiologistes pour l'obtention de nouvelles souches plus performantes destinées à des fins industrielles (Béal *et al.*, 2008).

L'utilisation maîtrisée de ces bactéries dans ces industries nécessite une préalable connaissance de leurs principaux processus métaboliques, de leurs interactions avec les autres microorganismes, et de leurs mécanismes de défense. Une large gamme d'activités métaboliques et propriétés sont recherchées chez ces bactéries pour un usage industriel, telle que l'acidification, la protéolyse, et la production de polysaccharides (Zadi, 1998).

Le beurre un aliment contenant un grand nombre de lipides (corps gras) qui est obtenu à partir de la crème du lait de vache. Le beurre apparaît sous la forme d'un solide de couleur jaunâtre, plus ou moins intense selon l'alimentation des vaches. Le beurre apparaît plus coloré à cause des colorants naturels (bêta-carotène et chlorophylle) contenus dans l'herbe. Son aspect moelleux dépend directement de la nourriture des vaches donc de la qualité du lait.

Le beurre est composé de 18 % de matière non grasse c'est-à-dire de l'eau et de la matière sèche dégraissée comme les protéines et les glucides entre autres, ceci pour 82 % de matières grasses laitières.

Ce mémoire de master est structuré en trois principales parties, en plus de l'introduction et de la conclusion générale. La première partie est une revue bibliographique mettant l'accent sur les bactéries lactiques. La deuxième partie porte sur la crème laitière et le beurre et présente la démarche expérimentale. Elle traite les analyses physico-chimiques et

microbiologiques réalisées, réactivation des isolats de lactocoques, l'évaluation de leurs aptitudes technologiques suivies de l'application de ces isolats dans la fabrication du beurre. Enfin, la troisième partie regroupe les principaux résultats obtenus et leurs discussions.

I -1-Histoire des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (Quiberoni et al., 2001).

De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries. D'autres études montrent que certaines bactéries lactiques, comme *Lb. Lactis* sont en voie d'acquiescer une chaîne Respiratoire (Duwat et al., 2001).

I -1-2-Définition des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers. Le groupe des bactéries lactiques réunit plusieurs genres de différentes morphologies, ayant pour caractère commun leur capacité à fermenter le lactose en produisant de l'acide lactique (Novel, 1993).

Ce sont des microorganismes à Gram positif, non sporulant, non mobiles, anaérobies mais aérotolérants et ne possédant pas de catalase. Toutes les bactéries lactiques possèdent un métabolisme#fermentaire leur permettant, en utilisant des sucres fermentescibles, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide formique) (Raynaud, 2006)

I -1-3-Habitat :

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte. Elles sont ubiquistes, retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait, les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales (Klein et al., 1998).Ainsi que dans le tractus digestif (Hassan and Frank, 2001), ce qui explique leur température de croissance hétérogène.

I -1-4-Caractéristiques générales:

Les bactéries lactiques sont un groupe de bacilles ou coccobacilles à Gram positif qui ont moins de 55 % de contenu G+C dans leur ADN (à l'exception des bifidobacteries (Ammour, 2004). Ce sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positif, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes), et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des

exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (Holzapfel et *al.*, 2001 ; Gevers, 2002). Toutes les bactéries lactiques utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes),
- L'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives),
- L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (Vandamme et *al.*, 1996)

Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique (De Roissart and Luquet, 1994).

I-1-5-Taxonomie :

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (Pot, 2008).

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à :

- fermenter les hydrates de carbone,
- tolérer différentes concentrations en bile,
- produire des polysaccharides extracellulaires,
- exiger des facteurs de croissance,
- produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes.

La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique du lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles and Holzapfel, 1997 ; Ho et *al.*, 2007).

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classer les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres

genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007).

A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. (Stiles and Holzapfel, 1997; Pot, 2008). Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (Broadbent, 2001 ; Axelsson, 2004).

Le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré par plusieurs auteurs comme genre de bactéries lactiques, bien qu'il se distingue par un pourcentage en G+C de 55%, largement supérieur à celui des autres genres et par une voie métabolique de fermentation des sucres particulière. Les études phylogénétiques basées sur l'analyse des séquences des ARN ribosomiques ont confirmé l'appartenance de ces différents genres à un même groupe qui inclut également *Clostridium*, *Bacillus* et *Propionibacterium* (Stiles and Holzopfel, 1997 ; Pilet et al., 2005).

I -1-5-1-Lactocoques :

La première étude sur les lactocoques a été entreprise en 1873 par Joseph LISTER . Ce chercheur avait tenté de prouver la théorie de Pasteur pour la fermentation lactique. Durant ses expériences, il a obtenu la première culture bactérienne pure. Il lui donna le nom de *Bacterium lactis*. Ces bactéries sont plus tard renommées « *Streptococcus lactis*» par Orla-Jensen (1919).

I -1-5-1-1-Définition et caractéristiques :

Les lactocoques font partie du groupe hétérogène des bactéries lactiques qui contient principalement les genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* (Dachet, 2009). Ce sont des bactéries lactiques mésophiles appartenant à la famille des Streptococaceae. Ils se trouvent principalement dans les laits et crèmes fermentées ainsi que dans les fromages où ils sont en quantité dominante (Alais, 1984).

Ces bactéries sont des coques, qui forment des chaînes de longueur variable. Elles ont un métabolisme homo-fermentaire produisant exclusivement l'acide lactique L (+) (Roissart, 1994). Elles ont un optimum de croissance à 30 °C et ne poussent pas a pH 9,6 ou en présence

de 6,5 % de NaCl, excepté *Lactococcus graviae*, elles ne sont pas hémolytiques (Benadi, 2012) (tableau 1).

En technologie laitière, les lactocoques jouent un rôle de bio-conservateur. En effet, des germes comme *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* produisent respectivement la « nisine » et la « diplococcine », qui sont des bactériocines. Ces derniers inhibent la croissance des autres germes pouvant avoir un effet néfaste sur la sécurité des produits. Il leur est également reconnu le rôle d'agent initiateur de l'acidification en laiterie. Ce rôle est reconnu à *Lactococcus lactis* pour le caillage naturel (Ngassam-Tchamba, 2007).

I -1-5-1-2-Classification :

Traditionnellement, les streptocoques lactiques mésophiles ont été rattachés au genre *Streptococcus*. En se fondant sur des critères moléculaires, Schleifer *et al.*, (1987) ont montré qu'il est justifié de créer le genre *Lactococcus*, formé d'espèces nettement distinctes des autres coques à Gram + et à catalase (-). Ces travaux ont d'ailleurs été confirmés par le séquençage de l'ARNr 16 S (Deroissart and Luquet, 1994).

Actuellement, ce genre comporte plusieurs espèces et sous-espèces dont les plus importantes en industrie laitière sont (Guiraud, 1998) :

- *Lc.Lactis subsp lactis* ;
- *Lc. Lactis subsp lactis biovar diacetylactis* ;
- *Lc. Lactis subsp. Cremoris*.

I -1-5-1-3-Habitat :

Les lactocoques peuvent être isolés du lait ou des végétaux qui sont probablement leur réservoir naturel. Ces bactéries ne se trouvent pas dans les selles ni dans le sol (Novel, 1993). *Lc. Lactis subsp .lactis* qui fut isolée pour la première fois du lait fermenté, est facilement isolée du lait cru (Sandine, 1988) ; on la trouve aussi dans la flore minoritaire du rumen (104 cellules / g). *Lc. Lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* est plus liée aux végétaux (Collins and Gibson, 1999).

Lc. Lactis subsp. Cremoris est plus exclusivement adaptée au lait, mais son isolement est plus difficile (concentration faible) (Sandine, 1985).

I -1-5-1-4-Besoins nutritionnels :

Les coques lactiques ont des exigences nutritives parfois complexes. Les lactocoques ont une faible aptitude biosynthétique ce qui explique leur poly-auxotrophe pour plusieurs molécules intermédiaires. Elles requièrent non seulement des substances complexes carbonées, azotées, phosphatées et soufrées mais aussi de très nombreux facteurs de

croissance sont nécessaires à leur multiplication en particulier des acides aminés et des vitamines du groupe B (Konning, 1994). C'est la raison pour laquelle leur abondance dans un milieu aussi riche que le lait. Les bactéries lactiques sont incapables d'effectuer la synthèse des acides aminés et doivent faire appel à des sources exogènes pour assurer leur métabolisme. Les acides aminés peuvent être apportés dans le milieu sous forme chimique pure ou alors sous forme de produits d'hydrolyse de la caséine (Konning, 1996).

Ces besoins nutritionnels particulièrement spécifiques expliquent les nombreux phénomènes d'associations constatés chez les bactéries lactiques. Ils expliquent également l'amélioration de leur développement sur lait à la suite de certains traitements technologiques comme la maturation ou le chauffage (Nehal, 2007).

Tableau 1 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des lactocoques

(Guiraud, 1998).

	Mobilité	VP	Croissance à				Croissance dans NaCl		
			10°C	40°C	45°C	pH 9,6	2%	4%	6,5%
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Lc. raffinolactis</i>	-	v	+	+	-	-	+	+	-

	Résistance 30mn/63°C	Bile	P° de gaz	Esc	Arg	LS	LT	Cit	gélatinase
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	v	+	-	+	-	v	arc	-	-
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	v	+	-/+	v	+	+	arc	+	-
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	v	-	-	v	+	+	arc	+	-
<i>Lc. raffinolactis</i>	v	-	-	v	+	v	/	-	-

	Profils fermentaires							
	Lactose	Maltose	Mannitol	Melibiose	Gala	Sac	Ara	ribose
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	+	+	-	-	+	v	-	+
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	+	-	-	-	+	v	-	-
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Lc. raffinolactis</i>	+	v	+	-	+	-	v	+

Symboles :+ : réaction positive ; - : réaction négative ; v : variable ; a : acidification ; r : réduction ; c : coagulation. VP : acétoïne ; LT : Iait tournesolé ; LS : Iait de Sherman ; Esc : esculine ; Cit : citrate ; Arg : arginine ; P° : production. Gala : galactose ; Sac : saccharose ; Ara : arabinose.

I -1-6-Les voies fermentaires des bactéries lactiques

I -1-6-1-Définition:

La fermentation est un processus produisant de l'énergie par oxydation de composés organiques, principalement des glucides, où un donneur d'électron, NADH cède ses électrons à un accepteur endogène, le pyruvate. Dans la respiration, les électrons sont donnés à un accepteur exogène, l'oxygène pour la respiration aérobie et le nitrate ou le sulfate pour la respiration anaérobie (Prescott et *al.*, 2003).

I -1-6-2-Voies fermentaires générales du métabolisme :

Les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homo-fermentaires (Embden-Meyerhof-Parnasse, EMP) et hétéro-fermentaire (voie des pentoses-phosphate). Ainsi, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes principaux d'espèces homo ou hétéro-fermentaires selon la nature et la concentration des produits terminaux issus de la fermentation du glucose.

I -1-6-2-1-Voie homofermentaire :

Les bactéries lactiques homo-fermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pédiocoques, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson and Gentry-Weeks, 1994).

Des sucres autres que le glucose peuvent également être fermentés via cette voie : mono-saccharides et disaccharides. Ces micro-organismes présentent un métabolisme de type homolactique lorsque le lactate représente plus de 90 % des produits de fermentation. Dans certaines conditions de croissance (certains sucres, limitation carbone), le métabolisme de ces bactéries se

Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA, d'une triose-phosphate isomérase (TPI) ainsi que d'un système PTS fonctionnel. Dans ces conditions, le glucose est accumulé par l'intermédiaire d'un transport actif puis subit une phosphorylation intracellulaire par le biais d'une glucokinase (GLK) ATP-dépendante. Le glucose-6-phosphate emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose -5-phosphate. Le xylulose-5-phosphate est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate par la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétéro-fermentaire. Enfin, l'acétyl-phosphate est converti en éthanol ou en acétate, et le GAP qui rejoint la glycolyse est métabolisé en acide lactique. Le métabolisme hétéro-fermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homo-fermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO₂ et d'un seul ATP.

I -1-7-Généralités sur les ferments lactiques :

Les ferments lactiques sont ajoutés au lait pour démarrer le procédé de fermentation. Ils sont employés pour la production d'une grande gamme de produits laitiers comme le fromage, le yaourt, le lait fermenté, le beurre et la crème (Chen, 2010). Puisque la flore lactique originale du lait est soit inefficace, incontrôlable, imprévisible, ou bien détruite sous l'effet de traitements thermiques auxquels le lait est soumis, les ferments lactiques ajoutés au lait, suite à l'étape de pasteurisation, assurent une fermentation plus contrôlée et plus prévisible (Yıldız, 2010; Chamba, 2008)

I -1-7-1-Définition du ferment lactique :

C'est une préparation comprenant un grand nombre de micro-organismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yıldız, 2010).

La production des ferments lactiques est fondée sur la technique de la « culture pure » initialement élaborée par Robert Koch. Dans une culture pure, chaque colonie microbienne se compose de cellules qui proviennent toutes de la même cellule. Ceci assure que les cultures ne sont pas un mélange de différents micro-organismes inconnus et elles peuvent donc être dénombrées et exploitées pour produire les réactions biochimiques prédéterminées (Solieri and Giudici, 2009; Chamba, 2008).

I -1-7-2-Types de ferments :

Les ferments peuvent être classés sur la base de leur fonction, leur température de croissance ou leur composition. Avant l'arrivée de la biotechnologie moderne, des ferments artisanaux étaient utilisés. Bien qu'ils soient encore en usage, leur instabilité microbiologique a favorisé l'évolution de production de mélanges de bactéries lactiques prédéfinies afin

d'obtenir une activité et une qualité d'acidification plus stables dans les produits finaux (Marth and Steele, 2001). Cependant, les ferments artisanaux représentent des sources potentielles de nouvelles souches de bactéries lactiques à intérêt commercial. Aujourd'hui, des cultures mono- ou multi- souches bien définies sont intensivement utilisées autour du monde pour produire des produits laitiers variés (Brusetti et al., 2008 ; Uchida et al., 2007).

Ces cultures sont commercialisées sous forme de cellules concentrées congelées ou lyophilisées pour être directement introduites dans les cuves de fermentation (inoculation). On distingue donc deux catégories principales de ferments: les ferments artisanaux utilisés dans les procédés traditionnels et les ferments commerciaux utilisés dans les procédés modernes:

I -1-7-2-1-Ferments artisanaux :

Tous les ferments disponibles actuellement sont dérivés des starters artisanaux de composition non définie (contenant un mélange de différentes souches et/ou espèces non définies) (Brusetti et al., 2008; Uchida et al., 2007). La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » est dérivée d'une pratique antique dénommée "back-slopping" (l'utilisation d'un vieux batch d'un produit fermenté pour inoculer un produit neuf) et/ou par l'application des pressions sélectives (traitement thermique, la température d'incubation, baisse de pH) (Carminati et al., 2010).

Aucune précaution spécifique n'est employée pour empêcher la contamination à partir du lait cru ou à partir de l'environnement de fabrication, et le contrôle du milieu et des conditions de culture pendant la production de starters est très limité (Robinson, 2002).

I -1-7-2-2-Ferments commerciaux :

Les ferments commerciaux sont en général commercialisés sous forme lyophilisée et peuvent être utilisés pour l'inoculation directe de la cuve de fermentation (Direct Vat Inoculation, DVI). Ces ferments sont développés en grands volumes à partir d'une culture initiale définie ou non définie, concentrée (typiquement par centrifugation) et ensuite congelée ou lyophilisée pour le stockage et la distribution (Robinson, 2002). Actuellement, les ferments de type DVI sont devenus plus accessibles vu l'amélioration des technologies de la concentration et la conservation de ces micro-organismes (Carminati, 2010).

Selon leur composition, les ferments commerciaux peuvent être classés en trois catégories : (i) les ferments purs, constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, (ii) les ferments mixtes, dont la composition est partiellement ou non déterminée et (iii) les ferments mixtes sélectionnés, qui contiennent plusieurs souches bien définies issues d'une ou de plusieurs espèces (Carminati et al., 2010; Corrieu and Luquet, 2008).

I -1-8-Les pouvoirs technologiques :

Les progrès effectués dans la connaissance des bactéries lactiques ont mis en évidence une grande diversité d'espèces et de souches, ainsi qu'un très large éventail de propriétés, allant bien au-delà du potentiel acidifiant. Ainsi, deux souches d'une même espèce peuvent manifester des propriétés extrêmement différentes. A cela, s'ajoutent d'autres facteurs plus spécifiques du contexte industriel. C'est le cas des associations de plusieurs souches, réalisées afin de constituer des ferments susceptibles de générer l'ensemble des propriétés requises pour l'élaboration d'un produit, ou des interactions de ces souches avec différentes matrices alimentaires qui correspondent à autant de milieux de culture particuliers. Tout ceci complique fortement la mise en œuvre et la maîtrise des bactéries lactiques dans les aliments (Corrieu and Luquet, 2008).

I -1-8-1-Activité acidifiante :

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé; la participation aux propriétés rhéologiques du produit final; l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (Papamanoli et *al.*, 2003).

I -1-8-2-Activité protéolytique :

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides amines. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (Buist et *al.*, 1998).

I -1-8-3-Pouvoir aromatisant :

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages.

I -1-8-4-Activité lipolytique :

Les activités lipolytiques jouent un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés, bien que parfois, elles soient à l'origine d'altérations. Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques. Les lactocoques auraient une activité lipolytique plus importante que les lactobacilles, les pedicoques et les streptocoques (Franz et *al.*, 2003).

I -1-8-5-Aptitude texturant :

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exo-polysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. lactis ssp. cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy and De Vuyst, 2004 ; Ho et al., 2007).

II-1- Définition :

Le beurre est un aliment préparé, conformément aux bonnes pratiques industrielles, à partir du lait ou des produits du lait et doit contenir au moins 80 % de matière grasse du lait.

Il peut également contenir des solides du lait, des cultures bactériennes, du sel et un colorant alimentaire. Conformément au Codex Alimentarius, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement, sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile (Paul, 2010).

Il contient de 80 à 81% de matière grasse laitière, 17 % d'humidité, 1 % de glucides et de protéines, et 1,2 à 1,5% de chlorure de sodium (Kornacki et *al.*, 2001).

II- 2- Structure du beurre :

La matière grasse existe dans le beurre sous deux formes ; matière grasse globulaire et libre (Fig. 1 ; tableau 2). Une partie de la matière grasse sous ces deux formes est à l'état cristallisé et un peu à l'état liquide. La dureté et la consistance du beurre dépendent donc de la proportion et de la composition de ces deux formes de matière grasse.

L'incorporation d'air dans le beurre forme des crevasses internes et peut à un certain degré contribuer à la consistance du beurre. En outre, il contient jusqu'à environ 4 % (v/v) d'air dissous (Walstra et *al.*, 1999). Le globule gras joue un rôle prépondérant dans la fabrication du beurre, et les caractéristiques physiques et chimiques de la matière grasse du lait varient avec la race, la période de lactation et l'alimentation. Ainsi, en été, la proportion des acides gras insaturés, plus mous, est plus grande qu'en hiver.

Les agglutinines peuvent s'associer à la couche périphérique des globules gras individuels et favoriser leur juxtaposition sous forme de grappes de plusieurs centaines d'unités, facilitant d'autant l'ascension de la matière grasse. De plus, certains globules ont une membrane plus ou moins enveloppante et forment ainsi différents types d'agglomérations de globules gras (Paul, 2010). Le diamètre moyen des globules de la matière grasse dans le beurre est d'environ 3,5 à 4,0 μm . Ils sont sphériques, entourés d'une couche biréfringente, constituée par les molécules des matières grasses à point de fusion le plus élevé, orientée radialement par rapport à la surface du globule. La matière grasse libre ne contient ordinairement pas de cristaux de matière grasse visibles au microscope. Les gouttelettes de la phase aqueuse ont un diamètre d'environ 1 à 30 μm . Elles sont généralement sphériques, ne contiennent pas de globules de matière grasse, et n'ont jamais de couche biréfringente.

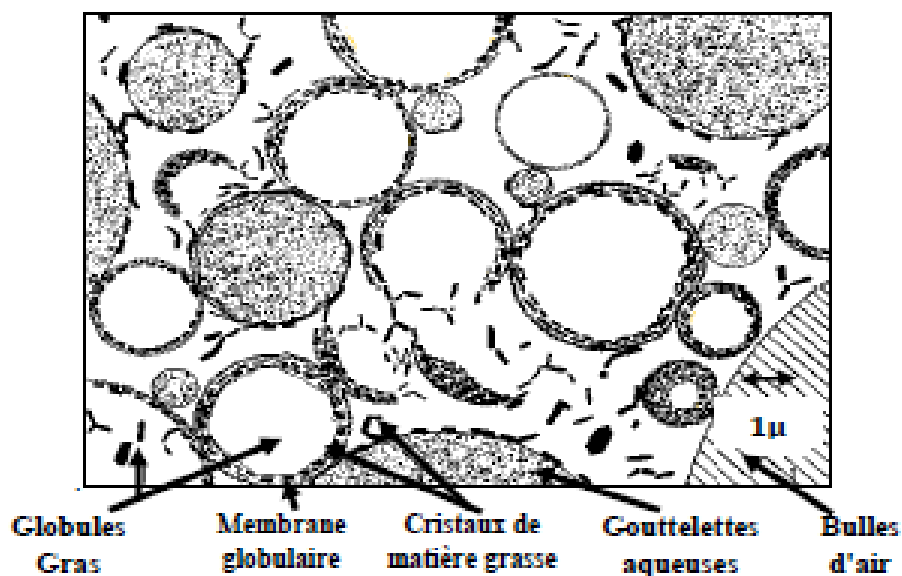


Figure 01 : Microstructure du beurre à température ambiante (Walstra et al., 1999) .

Tableau 02: Éléments structuraux du beurre (Walstra et al., 1999)

Élément de structure	Concentration approximative (mL ⁻¹)	Pourcentage dans le beurre	Dimension (µm)
Globules gras ^a	10 ¹⁰	10-50 ^e	2-8
Cristaux de matière grasse ^b	10 ¹³	10-40 ^d	0,01 - 2
Gouttelettes d'eau	10 ¹⁰	15	1 - 25 ^e
Bulles d'air	10 ⁶	~2	> 20

a, avec (pour la plus grande partie) une membrane complète ; b, à des températures supérieures principalement à l'intérieur des globules de matière grasse ; c, à basse température formant des réseaux solides ; d, dépend étroitement du travail ; e, dépend étroitement de la température

II-3- Fabrication traditionnel du beurre en Algérie :

Il est reconnu depuis l'antiquité que les femmes des nomades ont joué un rôle très important dans la transformation du lait en produits dérivés traditionnels. Le beurre frais est obtenu après barattage du Rayeb. Ce dernier est occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50 °C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre.

Les globules gras apparaissant en surface, à la suite du barattage, sont séparés par une cuillère perforée. Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau (Figure 02) (Benkerroum and Tamine, 2004).

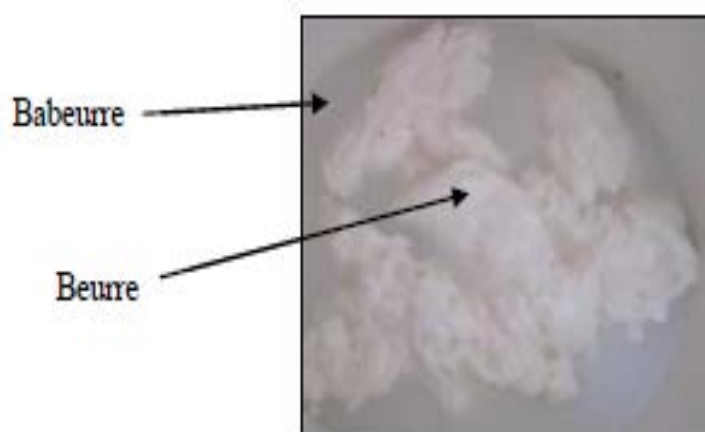


Figure 2 : beurre et babeurre (Makhloufi, 2010).

II- 4-Procédé de fabrication technologique du beurre standard :

Selon Keogh (2006), La fabrication du beurre comprend cinq étapes principales:

- Concentration de la phase grasse du lait par séparation mécanique ;
- Cristallisation de la phase grasse de la crème par refroidissant ;
- Phase d'inversion de l'émulsion huile dans l'eau de la crème ;
- Elimination du babeurre ;
- Formation d'une émulsion eau-dans-huile.

Le diagramme général de la fabrication industrielle du beurre à 80 % en masse de matière grasse par agglomération est représenté dans la figure 3 (Boutonnier, 2007).

II -4-1-Définition de la crème :

La crème peut se définir comme une émulsion d'origine laitière de type matières grasses dans l'eau, c'est-à-dire que les particules de matière grasse sont dispersées en gouttelettes dans la phase aqueuse (Vilain, 2010). Le terme « crème » est réservé aux produits dont la teneur en matière grasse est supérieure ou égale à 30 %. La texture de la crème laitière varie suivant l'ensemencement en ferments lactiques, l'ajout d'additifs autorisés et le taux de matière grasse (Merigaud et *al.*, 2009).

II -4-2-Préparation de la crème :

Certaines opérations sont identiques à celle présentées dans le cadre des crèmes de consommations à savoir la standardisation, l'homogénéisation, la pasteurisation et la désaération/désodorisation. La crème est standardisée entre 35 et 40 % de MG en fabrication traditionnelle et entre 40 et 45 % de MG en fabrication continue. Dans le cas des crèmes acides, on procède à une désacidification pour ramener l'acidité du non gras entre 15 et 20 °D soit par lavage à l'eau suivi d'un écrémage afin d'éliminer la phase non grasse altérée, soit par addition de neutralisants (Jean et *al.*, 2008).

II -4-3-Maturation de la crème :

La maturation de la crème peut combiner deux processus : d'une part, la maturation physique qui assure une cristallisation dirigée de la matière grasse et d'autre part, une maturation biologique qui assure le développement de l'acidité et de l'arôme (Jean et *al.*, 2008).

II -4-3-1- Maturation physique :

Les propriétés rhéologiques des beurres dépendent fortement des propriétés thermiques et structurales des triglycérides constituant la matière grasse. La maturation physique qui vise à solidifier une partie des triglycérides est une opération incontournable pour obtenir un beurre de qualité optimale et constante malgré le degré de variabilité de la qualité de la crème.

L'application d'un cycle thermique adapté permet de diriger la cristallisation des triglycérides et de corriger ainsi les effets liés à la saison. Par conséquent, le régime de refroidissement pratiqué lors de la maturation physique influence à la fois la quantité de matière grasse solidifiée par cristallisation, ainsi que le degré d'agglomération des globules gras. Ce dernier facteur est fondamental car il conditionne l'aptitude de la crème au barattage. Les globules gras sont dans un état métastable de grande fragilité au niveau de la crème

pendant une dizaine de minutes après le refroidissement. Aussi, tout stress mécanique, pendant cette phase, entraîne une libération de matière grasse liquide qui agglomère les globules gras. La crème étant plus visqueuse, l'agitation doit être plus longue et plus énergique (Boutonnier, 2007).

○ **Refroidissement de la crème :**

Plus la température de refroidissement est basse, moins il y aura de matière grasse liquide. Un maintien de la crème à une température de 5 à 6 °C pendant 2 heures a pour avantage de limiter les pertes en matière grasse dans le babeurre à des niveaux de 0,2 à 0,3% (Mahaut et *al.*, 2000).

○ **Vitesse de refroidissement :**

Plus la vitesse de refroidissement est rapide, plus il y aura de matière grasse solide. Il se forme alors de nombreux points de cristallisation conduisant à une multitude de petits cristaux fins et homogènes dans une plage de température de fusion étroite. Quand la vitesse de refroidissement est lente, il se forme des gros cristaux qui conduisant à un beurre plus ferme (Mahaut et *al.*, 2000).

II. 4.3.2. Maturation biologique :

Cette opération se réalise dans le cadre des fabrications traditionnelles ainsi que pour l'obtention de beurres d'appellation d'origine contrôlée (obligation d'une durée minimale de 12 heures entre 9 et 15 °C).

Elle consiste à ensemercer la crème avec une préparation de bactéries lactiques à la dose massique de 3 à 5 % et à laisser se développer celles-ci pendant une dizaine d'heures afin de développer deux types de fermentations lactique et aromatique.

La fermentation lactique produit de l'acide lactique qui abaisse le pH de la crème entre 4,70 et 5,80 afin d'améliorer la conservation du beurre. En outre, cette diminution du pH permet en se rapprochant du point isoélectrique des protéines membranaires de faciliter l'agglomération des globules gras, recherchée lors du barattage.

La fermentation aromatique résulte majoritairement du métabolisme des citrates par les bactéries lactiques. Elle conduit à la production d'une molécule très aromatique (goût de noisette du beurre) le diacétyle ou 2-3 butanedione. Même si d'autres composés, soit originels (acides ou deltalactones), soit ceux issus de fermentation (alcools, aldéhydes, cétones, esters, amines, etc.) participent au profil aromatique du beurre, c'est le diacétyle qui joue un rôle prépondérant (Boutonnier, 2007).

II-4-4-Transformation de la crème en beurre :

II- 4-4-1-Inversion de phase :

Elle consiste à transformer la crème, émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse en beurre, émulsion de solution aqueuse dans la matière grasse. Au cours de l'opération, il y a agglomération des globules, déstructuration et libération des triglycérides (solides et liquides) suivie d'une expulsion de la fraction non grasse contenue dans la crème de départ, le babeurre ; la matière grasse liquide libérée (glycérides à bas point de fusion) permet d'assurer la liaison intime entre les globules gras qui subsistent (Mahaut et *al.*, 2000). Trois procédés peuvent réaliser cette inversion de phases.

○ Procédé par concentration :

Le principe de fabrication par concentration fait appel à une concentration préalable de la crème, obtenue par écrémage centrifuge, à une teneur en matière grasse voisine de celle du beurre. La crème concentrée étant instable en raison du rapprochement des globules gras et de leur déformation, l'inversion de phase s'effectue par le refroidissement à l'entrée du butyrateur et par le frottement mécanique des vis à propulsion ou des agitateurs.

On termine la fabrication par un barattage et un malaxage en continu (Angers, 2010).

○ Procédé par émulsion ou combinaison

La méthode par combinaison comprend trois opérations principales: déstabilisation d'une crème très riche en gras (85 à 99 %) ; standardisation de la composition par l'incorporation d'eau ou d'une solution aqueuse de sel dans le gras à l'état d'huile; refroidissement en vue de solidifier le beurre (Angers, 2010).

○ Procédé par agglomération

C'est le plus répandu dans le monde. Il s'est imposé grâce à sa maîtrise de la qualité du produit fini, sa souplesse d'utilisation et surtout par la productivité des appareils qu'il met en œuvre. Sous l'effet de l'agitation de la crème et de la formation de mousse fine par des palettes tournant à grande vitesse (2000 tr/min), il se forme très rapidement, en trois secondes, une agglomération des globules de gras en grains de beurre qui sont transportés vers une section de malaxage, le babeurre étant expulsé de façon continue. La crème traitée est de concentration normale, de 40 à 50 % de matière grasse (Angers, 2010).

○ Procédé par émulsion ou combinaison

La méthode par combinaison comprend trois opérations principales: déstabilisation d'une crème très riche en gras (85 à 99 %) ; standardisation de la composition par l'incorporation

d'eau ou d'une solution aqueuse de sel dans le gras à l'état d'huile; refroidissement en vue de solidifier le beurre (Angers, 2010).

II- 4-4- 1- Lavage, salage et malaxage :

- **Lavage :**

Il permet de refroidir et de resserrer le grain, de diluer les gouttelettes de babeurre par de l'eau afin de limiter le développement microbien. En général, on ne peut pas descendre en dessous de 0,5 à 1 % de non-gras (Jean et *al.*, 2008).

- **Salage :**

Le sel contribue à rehausser la saveur et à prolonger la conservation du beurre. Ses propriétés antiseptiques permettent d'y restreindre la croissance microbienne et de prévenir certains défauts. Le sel incorporé au beurre doit être chimiquement pur, extra fin, rapidement et complètement soluble (Angers, 2010).

- **Malaxage :**

Le malaxage est le traitement visant à disperser uniformément l'air, l'eau, le sel et les composés aromatiques dans la masse butyrique, à poursuivre l'expulsion du gras liquide et des cristaux dans les globules gras endommagés par l'opération de barattage, et à mélanger intimement les grains de beurre pour obtenir un produit fini de consistance et de texture désirables.

Il permet également la soudure des grains de beurre et la pulvérisation de la phase aqueuse en fines gouttelettes de diamètre moyen inférieur à 5 µm au sein de la matière grasse. Lorsqu'il est correctement réalisé, il permet d'obtenir de l'ordre de 1010 gouttelettes de non gras par gramme de beurre. De façon générale, il recommande de poursuivre le malaxage jusqu'à l'absence de gouttelettes d'eau visibles à l'intérieur du beurre et jusqu'à l'obtention d'une consistance ferme, d'une texture cireuse et d'une apparence lustrée (Angers, 2010).

II-5-Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre :

La substance aromatique recherchée essentiellement dans le beurre est le diacétyl : il est le fruit de l'oxydation de l'acétoïne produit par *Leuconostoc cremoris* et *Leuconostoc dextranicum* à partir du lactose et de l'acide citrique. Ces espèces produisent leur effet aromatisant seulement en milieu acide : c'est pourquoi on les utilise en mélange avec des ferments de *Lactococcus lactis subsp. Lactis* ou *lactococcus lactis subsp. Cremoris*.

Il existe cependant des souches de *Lactococcus lactis subsp. actis (biovar diacetylactis)* capable de former à la fois de l'acide lactique et des substances aromatisantes.

La fermentation de la crème doit permettre une production suffisante et la conservation du diacétyle (Angers, 2010).

La figure 6 présente le mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veissyre, 1975).

II- 6-Types du beurre :

Il existe différentes qualités du beurre selon les lieux et les processus de fabrication:

II-6-1-Beurre fermier :

Le beurre fermier est un produit laitier traditionnel fabriqué dans les fermes avec des crèmes crues et différentes méthodes, il s'altère rapidement (Apfelbaum et *al.*, 2009).

II- 6-2-Beurre cru ou de crème crue :

Le lait utilisé n'a subi aucun traitement thermique hormis la réfrigération après la traite.

- **La crème barattée :** Il est non pasteurisée et reste sous forme crue.

Ce type de beurre est aussi de plus en plus rare de par ses critères microbiologiques moins rigoureux en ce qui concerne les germes non pathogènes (Fredot, 2005).

II. 6.3.Beurres concentrés :

Il existe deux types :

- *Beurre concentré destiné à la consommation directe* : il est pasteurisé, déshydraté et contient au moins 96 % de matières grasses d'origine laitière.

Ce produit est commercialisé sous le nom « beurre de cuisine » et est plus stable au cours du stockage car quasiment toute l'eau et la matière non grasse ont été éliminées.

- *Beurre concentré destiné à l'industrie* : c'est aussi un beurre déshydraté pasteurisé mais qui contient au moins 99,8 % de matières grasses d'origine laitière. Il ne doit pas contenir d'additifs neutralisants tels que les antioxydants ou de conservateurs et il est commercialisé sous le nom de « beurre pâtissier » (Fredot, 2005).

II- 6-4- Beurre allégé :

C'est un produit émulsionné dont la teneur en matières grasses est comprise entre 41 et 65 %. Sa cuisson est rendue possible (Fredot, 2005).

II- 6-5-Demi-beurre :

Ce terme est utilisé pour le beurre allégé dont la teneur en matières grasses est de 39 à 41 % (Jean et *al.*, 2008).

II-6-6-Spécialités laitières à tartiner :

Ce sont aussi des corps gras émulsionnés dont les constituants sont exclusivement d'origine laitière et dont la teneur en lipides est comprise entre 20 et 40 %. Cependant, leur cuisson est impossible (Fredot, 2005).

II- 6-7-Beurre fin :

Le beurre fin est un produit pasteurisé, la crème étant un mélange de crème pasteurisée et de crème surgelée ou congelée (Vierling, 2003).

II-6-8-Beurre extra :

Il doit être fabriqué 72 heures au plus tard du lait ou de la crème. La pasteurisation et le barattage de la crème doivent se faire dans les 48 heures qui suivent l'écémage ; la crème ne devant pas avoir subi de désacidification, ni d'assainissement sauf la pasteurisation, ni avoir été congelée ou surgelée (Vierling, 2003).

II-6-9-Pâtes à tartiner à teneurs en lipides réduites :

Ces produits peuvent associer matières grasses laitières et matières grasses végétales (huiles de soja, tournesol). Ils contiennent ainsi de 20 à 40 % de matières grasses. On y ajoute des additifs divers (gélatine, extraits d'algues, chlorure de sodium, caséinate de lait, vitamine A ou D, etc.) (Fredot, 2005).

Matériels et méthodes :

1-Objectif du travail :

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- revivification des isolats du lactocoques ;
- étude des aptitudes technologiques des ces isolats ;
- valorisation technologique des isolats de lactocoques dans la maturation d'une crème fraîche qui sera destina à la fabrication d'un beurre au sein du laboratoire.

2- Matériels :

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, on s'est servi du matériel suivant:

2-1- Matériel biologique :

a-lait écrémé.

b- crème fraîche

2-2- Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des Milieux suivants :

- Les géloses : MRS (de Man-Rogosa et Sharp), AGAR AU Triglycéride- PCA- PCALAIT
- Les bouillons : MRS, M17
- Autres milieux: Milieu Gibson-Abdel Malek, lait de Sherman à 0.1% et à 0.3% de bleu de méthylène.

2-3- Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

- Les colorants : Violet de Gentiane, fuschine, cristal violet, bleu de méthylène, Phénolphtaléine à 1% ;
- Les réactifs: réactifs de Vogues Proskaeur (VPI et VPII) ;
- Alcool et autres : Ethanol, eau oxygénée.

2-4-Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Agitateur électrique ; Autoclave ; Bain Marie ; Balance ; Etuves ; Micropipettes ; Microscope optique ; pH mètre; Réfrigérateur ; Vortex électrique.

3- Méthodes :

3-1-Test d'activation des souches :

Les souches de lactocoques ont été mises à température ambiante pendant 30 min puis dans l'étuve pendant une heure.

1ml de la souche a été inoculé dans trois tubes de 100 ml de bouillon M17 et incubé à 37°C pendant 24 à 48 h.

Il est effectué par ensemencement d'une culture pure et jeune (18 heures) de deux séries de bouillons MRS ou M17. La première série est incubée à 10 °C pendant 7 jours et la seconde à 45 °C pendant 24 à 48 heures. La turbidité des tubes ensemencés est comparée à un milieu de culture non ensemencé et incubé dans les mêmes conditions. Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des thermophiles (Carretal, 2002; Badis et *al.*, 2004).

3-2-Caractère technologique :

3-2-1- Pouvoir acidifiant :

L'un des critères technologiques les plus importants chez les bactéries lactiques est leur cinétique de production d'acide lactique (Hassain, 2013).

On commence par la préparation de lait écrémé à 10 % dans des flacons de capacité 250 ml. Après stérilisation et refroidissement, chaque flacon est ensemencé par une culture lactique (V/ 100V). Après incubation à 37 °C, à un intervalle de temps 2h 6h et 24h; 10ml du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpen, 1997).

L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V \text{ NaOH} \times 10$$

Où VNaOH: volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 ml de lait.

Ensuite, l'activité acidifiante à été mesuré dans 200 ml de lait écrémé stérile inoculé par 2 ml de lactocoques après une incubation à 37 °C pendant 24h.

3-2-2-Pouvoir protéolytique :

La gélose MRS additionnée de lait écrémé a été coulée, solidifiée et séchée puis des disques de papier wattman stérile ont été déposés en surface de la gélose. Chaque disque reçoit un volume 20 µl de la culture jeune. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24h.

L'activité protéolytique est reconnaissable par la présence d'un halo clair autour des colonies puis les diamètres des zones translucides de protéolyse sont mesurés (Thapa *et al.*, 2006).

3-2-3- Pouvoir lipolytique :

La lipolyse est mise en évidence sur gélose aux triglycérides. Cette dernière a été coulée et solidifiée. Des disques de papier Wattman stérile sont déposés à la surface de cette gélose, puis chaque disque reçoit 10 μ L d'une culture jeune. Après une incubation à 30 °C pendant 48 heures, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des disques (Guiraud, 2003).

3-2-4-Pouvoir aromatisant :

La capacité des souches lactiques à produire des composés aromatisants au cours de processus de fermentation peut être mise en évidence sur le milieu de culture Clark et Lubs. Les souches sont cultivées sur ce milieu ; après 24 à 48 heures d'incubation à 30 °C, 2 mL de cette culture sont transvasés dans un tube à hémolyse stérile puis 0,5mL de KOH à 40 % (p/v) (réactif VP1) et 0,5mL d'alpha-naphtol (v/p) (réactif VP2) sont ajoutés. La présence d'acétoïne se traduit par une coloration rose (Zourari *et al.*, 1999).

3-2-5-Pouvoir épaississant :

Un flacon de 100 ml du lait a été inoculé par 2 ml de la souche à additionné de saccharose à 12 %, après incubation à 37°C pendant 24h.

La quantification des exopolysaccharides (EPS) a été réalisée par la technique décrite par Mozzi *et al.* (2001) et Wu *et al.* (2010) : pour chaque souche, 100 ml du bouillon MRS a été inoculé par la culture à tester à raison de 1%. Après une incubation de 24h, la culture a été centrifugée à 6000 rpm pendant 20min. A un volume de surnageant, deux volumes de l'éthanol à 4°C ont été ajoutés, le tout a été incubé pendant une nuit à 4 °C.

3-3-Conservation de souche :

La conservation des isolats à court terme est faite sur gélose inclinée à 4 °C. A long terme, des cultures pures sont placées en tubes Eppendorfs contenant les bouillons MRS (bacilles) ou M17 (cocci) additionnés de 30 % (v/v) de glycérol stérile puis conservés à -20°C (Idoui *et al.*, 2009).

Un second mode de conservation est également utilisé. Les souches pures sont cultivées sur du lait écrémé stérile à 10 % (p/v) enrichi par 0,05% (p/v) d'extrait de levure puis incubés à 30°C. Dès la coagulation du lait, les cultures sont placées à -20°C (Boublenza, 2013).

Avant utilisation, les isolats stockés sont activés par transfert de 1% d'inoculum dans le bouillon MRS ou M17, incubé à 30°C pendant 18 à 24 heures (Mauguin, 1991).

3-4-Test de catalase :

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée (H_2O_2) en oxygène plus eau. Elle est mise en évidence en émulsionnant une colonie de l'isolat à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (Guiraud, 2003).

3-5-Identification et purification des souches :

Ensemencement des lactocoques sur milieu PCA et incubation à 37 °C pendant 24h. La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à 37 °C pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches (Idoui et *al.*, 2009). L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Toutes les techniques d'identification ont été décrites par Larpent (1997), Idoui et Karam (2008) et Gusils et *al.* (2010).

3-6- Culture de lait de Sherman :

Ce test indique l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène qui est bleu en milieu très oxydant, incolore en milieu réduit. Chaque culture à tester a été ensemencée dans le lait écrémé au bleu de méthylène à 0.1%. Après une incubation à 37 °C pendant 24h à 48h, on note les observations relatives à la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait.

3-7-Recherche de type fermentaire :

Ce test permet de discriminer les isolats lactiques homo-fermentaires des hétéro-fermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO_2) à partir du glucose. La culture des isolats est faite sur bouillon MRS modifié par suppression de citrate d'ammonium et d'extrait de viande et supplémenté de glucose plus une cloche de Durham. Après incubation à 30 °C pendant 24 à 48 heures, la production de CO_2 se traduit par une présence de gaz dans la cloche (Carr et *al.*, 2002).

3-8-Fabrication de deux types du beurre avec l'utilisation du crème fraîche épaisse pasteurisée et stérile :

On a utilisé une crème fraîche industrielle.

Tableau03 : Qualité physico-chimique de la crème fraîche.

pH	Matière grasse	Protéine	Teneur en eau	lactose
6.51	34	1.8%	58%	2.5%

3-8-1-Beurre type I :

1L de la crème fraîche pasteurisée épaisse à 35

3-8-2-2-Recherche et dénombrement de lactocoques dans le beurre préparé :

Des dilutions décimales dans 9 ml d'eau physiologie ont été effectuée ($10^{-1}, 10^{-2}$). 1g du beurre a été inoculée, ensemencement dans le PCA et incubation à 37 °C pendant 24h.

1-Test d'activation des souches lactocoques :

- La lecture du test après 48 h révèle que les souches présentent un trouble qui caractérise le groupe des lactiques. Il y'a une bonne croissance, donc les souches sont actives.

2- Aptitudes technologiques des isolats de bactéries lactiques :

2-1- Pouvoir acidifiant :

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. Les résultats obtenus sont illustrés sur le tableau 5.

D'après ces résultats, nous remarquons que la totalité des lactocoques identifiées présentent une production progressive en acide lactique accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Tableau 05 : Variation du pH en fonction du temps.

Horaire	pH	Température (°C)	Acidité (°D)
10h20	6.63	22.7	18
12h20	6.57	25.1	19
14h20	6.51	27.1	19
16h20	5.72	32.1	35

➤ Préparation de levain :

Après 24h d'incubation dans l'étuve à 37 °C, il y'a eu une coagulation. On mesure le volume de lactosérum et on note l'aspect de coagulum obtenue :

- volume de lactosérum : 55ml
- aspect de coagulum : forme d'un gel

2-2-Pouvoir protéolytique :

Les résultats obtenus montrent que la souche de lactocoque étudiée présente une croissance et une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des disques.

Selon Vuilleumard (1986), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Par comparaison à cette donnée, nos souches sont

révélées protéolytiques avec des diamètres de zones de protéolyse comprises entre 9 et 15 mm.

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (Hassaïne et *al.*, 2007).

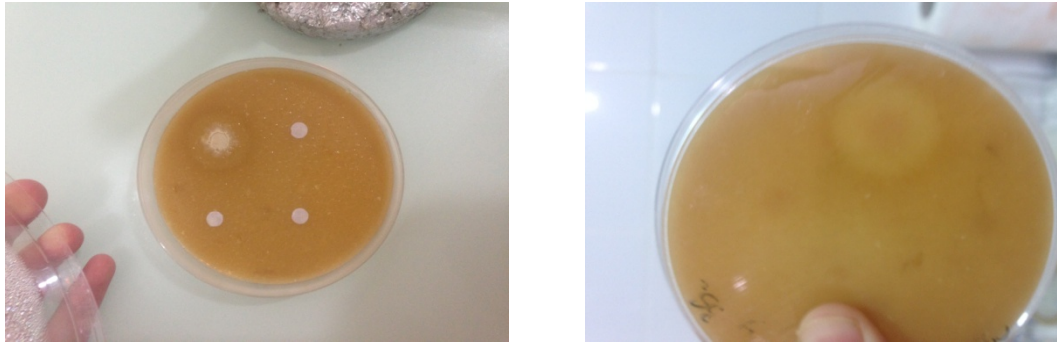


Photo 01 : Activité protéolytique sur milieu MRS au lait.

2-3- Pouvoir lipolytique :

D'après les résultats, il apparaît que les lactocoques ne présentent pas une activité lipolytique. Ceci est en accord avec ceux obtenus par Crow et *al.*(1994) qui ont montré que les lactocoques possèdent une faible activité lipolytique. Les travaux de Fernandez et *al.* (2000) ont montré que l'activité est aérobie n'était pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.

2-4- Pouvoir épaississant :

Les propriétés texturantes des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. De plus, elles évitent d'avoir recours à l'ajout d'additifs, tels que les texturants et les épaississants (Monnet et *al.*, 2008). La photo 02 montre l'aspect du gel formé par nos isolats après fermentation.

Nous avons pu noter que le levain lactique possède un pouvoir épaississant et texturant.

D'après Beal et *al.* (2008), certaines bactéries lactiques sont capables de produire des exopolysaccharides (EPS) dont l'accumulation provoque une augmentation de la viscosité des milieux. La production des EPS dépend des bactéries lactiques et de la durée de la fermentation. Chamba (2008) a rapporté que les lactocoques sont capables de produire des EPS, ce caractère est généralement porté par un plasmide.



Photo 02 : Aspect du gel formé par les lactocoques.

2-5- Pouvoir aromatisant :

La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Après 24 h d'incubation, une goutte de VP1 et une goutte de VP2 ont été ajoutés et laissés reposés.

3-Identification des souches :

D'après la lecture, on constate la présence des colonies en milieu PCA et leur absence en milieu M17, parce qu'il n'y a pas les conditions favorables et optimales pour les bactéries.

3-1-Test de catalase : absence de dégagement des bulles donc le catalase négatif.

3-2-Examen microscopique :

L'observation microscopique après une coloration de Gram, Les lactocoques sont en forme de coques, associées par paires ou chaînes.

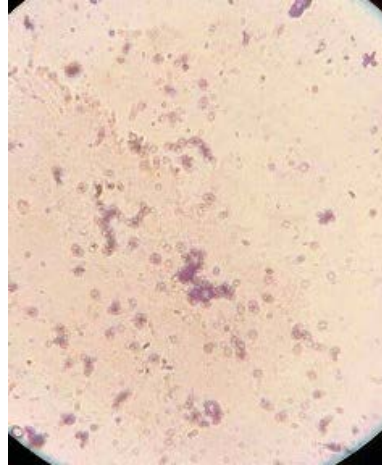


Photo 03 : Examen microscopique de lactocoques (x100).

4- Identification et purification des souches :

L'observation macroscopique confirme la présence des colonies de lactocoques viables qui seront utilisés dans nos essais technologiques.

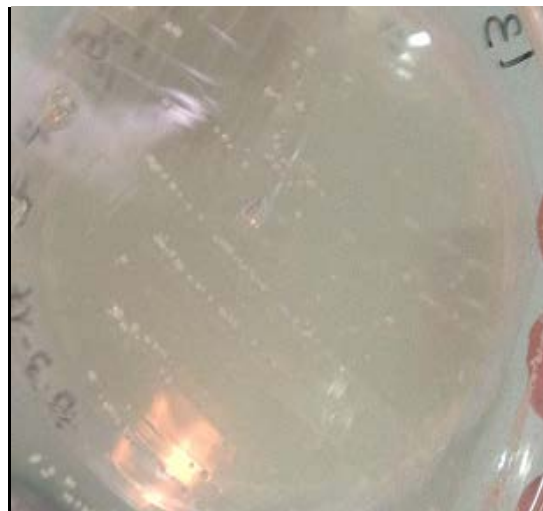


Photo 04: Colonies de lactocoques sur le milieu PCA.

5-Test de SHERMAN :

On note la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait. Les lactocoques réduisent le bleu de méthylène avec coagulation. Les lactocoques ont une aptitude à pousser en présence de bleu de méthylène.



Photo 05 : Test de SHERMAN.

6-Test du type fermentaire :

Absence de production de CO₂. Les lactocoques sont des bactéries lactiques homofermentaire. Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche.



Photo 06 : Test du type fermentaire.

7- Fabrication du beurre :

7-1-Dénombrement bactérien sur la crème fraîche pasteurisée :

D'après le dénombrement, il y a présence des colonies de la flore totale. La crème fraîche n'est pas stérile.

7-2-Démembrement bactérien sur la crème fraîche stérile :

Il n'y a aucune activité microbienne. Notre crème fraîche est stérile.

Après 15 h d'incubation, les résultats sont concluants avec une fermentation de la crème fraîche, il y a eu formation du babeurre avec une séparation du babeurre. Le produit obtenu est mis au réfrigérateur jusqu'à cristallisation du gras du beurre. On récupère le beurre qui est pesé, et on mesure le volume du babeurre.

le poids du beurre est de 700g et la volume du babeurre est de 100#ml

7-3-Recherche et démembrement de lactocoques dans le beurre préparé :



Photo 06: L'aspect de la colonie du lactocoque.

Ce résultat confirme la viabilité de nos lactocoques après les étapes technologiques de transformation et de conservation. Cette viabilité est utile à la bioconservation de notre beurre.

Conclusion :

Les bactéries lactique sont largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire afin d'exploiter leur aptitudes technologiques. Ces bactéries ont la capacité de synthétiser des substances à effet inhibiteur, ce qui a attiré l'attention des chercheurs dans les dernières années afin de les utiliser comme bio-conservateur des denrées alimentaires. Les lactocoques sont très largement étudiés et considérés comme microorganisme modèle des bactéries lactiques.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'aptitude technologique des isolats de lactocoques et la possibilité de les utiliser dans la fabrication du beurre artisanal. A partir de ces souches, deux types de beurres ont été préparés à partir du crème fraîche épaisse pasteurisée et stérile. Les deux crèmes fraîches ont été inoculées avec le levain préparé, les étapes de maturation, isolement, salage et de moulage ont été effectuées selon le modèle de fabrication artisanal du beurre.

L'évolution des aptitudes technologiques a mis en évidence l'existence de bonnes fonctionnalités technologiques chez les lactocoques. Les caractères technologiques de ces isolats sont satisfaisants pour une utilisation en industrie alimentaire. Ils possèdent une activité acidifiante importante, ne produisent pas d'arômes et sont dotés d'activité protéolytique. Cependant, ils présentent une faible activité lipolytique et produisent d'exopolysaccharide. L'appréciation du beurre est basé d'une part sur le teneur de la matière grasse et d'autre part sur les qualités microbiologiques et sensorielles observables.

Nos résultats ont permis de confirmer l'aspect technologique de nos isolats et ainsi leur utilisation comme levain lactique et en fin d'enrichir la collection en souches locales performantes nécessaires à la diversité de la gamme des produits laitiers locaux.

A

ALAIS C., (1984). Science du lait : principes des techniques laitières, 4^{ème} édition, Paris, 814 p

AMMOUR M. S.2004.écosystème microbien d'un atelier fermier de salaison Identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse doctorat Agrocampus Rennes.

ANGERS P. 2010. Beurre et fractions de matière grasse laitière. Dans : VIGNOLA C.L. Science et Technologie du Lait. Fondation de technologie laitière, Presses internationales polytechnique : Québec, p. 323-347.

B

BENADI R. 2012. Étude de l'effet antagoniste d'une souche lactique *Lactococcus lactis* subsp *lactis* vis-à-vis des bactéries nuisibles. Thème de Master#Université Tlemcen

BENKERROUM N., TAMIME A.Y. 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Iben, jben and smen) to small industrial scale. Journal of Food Microbiol, vol. 21, p. 399-413.1

BOUTONNIER J.L. 2007. Matière grasse laitière – crème et beurre standard. Villefranchede- Rouergue, France : Techniques de l'ingénieur, p. 1-16.

C

Cocaign-Bousquet M., Garrigues C., Loubière P., Lindley N.D. 1996 Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcus lactis* . Antonie van Leeuw. 70: 253-26.

CARR F.J., CHILI D., MAIDA N., 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. Critical Rev. Microbiol, vol. 28, n°4, p. 281-370.

D

De Roissart, H. et Luquet, F.M. 1994. Les bactéries lactiques. riage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286.

DAOUDI A. 2006. Qualité d'un fromage local à base de lait de chèvre . Thème de Magistère. Université Chlef .

DACHET F.2009. Analyse du transcriptome d'une association de lactocoques par affichage différentiel. Thèse doctorat. Université Laval.

F

FREDOT E. 2005. Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris: TEC & DOC, Lavoisier, p. 295-304.

G

Gevers.D. 2002.Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented drysausages.Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium

GUIRAUD JP. 1998. Microbiologie alimentaire, Edition : DUNOD, 615p.

GUIRAUD J.P. 2003. Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p. 387-433.

H

Holzappel, w.h.,haberer, p., geisen, r., björkroth, j. and schillinger, u. (2001). taxonomy and important features of probioticmicroorganisms in food and nutrition. Am. J.Clin. Nutr. 73(suppl): 365s–73s

HASSAINE O. 2013. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran-Essenia, p. 57-102.

I

IDOUI T. 2008. Les bactéries lactiques indigènes: Isolement, identification et propriétés technologiques. Effet probiotiques chez le poulet de chair ISA15, le lapin de souche locale et le rat Wistar. Thèse de Doctorat d'Etat : Université d'Oran : Algérie, p.179.

J

JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCKM P., BRULE G. 2008. Science des aliments: tome 2, technologie des produits alimentaires. Paris : Tec & Doc, Lavoisier, p. 58-59.

K

KONNINGS.1994.Mécanisme de transport des nutriments dans les bactéries lactiques in« Bactéries lactiques ». Ed. Loriga Lavoisier. PP 198-218.

KONNINGS W. N.(1996).The proteolytic systems of lactic acid bacteria. Antonie VanLeewenhoek, 70: 187 –221.

KORNACKI J.L., FLOWERS R.S., ROBERT L., BRADLEY J.R. 2001. Microbiology of butter and related products. Dans: MARTH E.H., STEELE J.L. Applied dairy Microbiol, 2eme édition, revised and expanded, p.128.

M

MAHAUT M., JEANTET R., BRULÉ G. 2000. Les produits laitiers. LONDRES-PARIS-NEW YORK : Lavoisier, Tec & Doc

MAKHLOUFI K.M. 2011. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat : université Pierre et Marie Curie : France, p. 08-10.

MERIGAUD J., LEMOINE T., AGUER D. 2009. *Lait et produits laitiers*. Élaborée par le Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition, p. 12-13.

MOHR J., BAUR. K. 1949. Aspects scientifiques de la fabrication continue du beurre. France : hal-00928086. Le Lait, 1953vol. 33. p.142-152.

N

Novel, G. 1993. Les bactéries lactiques. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris, pp: 170374.

NEHAL F. 2007 : isolement et caractérisation de souches de lactococcus lactis a partir de différents laits dans le périmètre du moyen cheliff. Thème de Magistère. Université Chlef.18-30 p

NGASSAM TCHAMBA C. (2007).Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal : cas de la zone des niayes. Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de Dakar.6p.

P

PAUL A. 2010, beurre et fractions de matière grasse laitière, Dans: VINGOLE C.L. *Science et Technologie du lait*, presses polytechnique, n°5, p. 323-347.

Prescott et al 2003. microbiologie.2ème Edition française. Traduction de la 5ème Edition américaine par Claire-Michelle-Bacq-Calberg et Jean Dussart. Edition de Boeck

Palomares I.C., Pérez-Morales R. et Acedo-Félix E., 2007. Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **49**(3-4) : 46-54.

Pan D. et Mei X., 2010. Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis subsp. lactis* 12. *Carbohydr. Polymers.* **80** : 908-914.

Pan W.H., Li P.L. et Liu Z., 2006. The correlation between surface hydrophobicity and adherence of *Bifidobacterium* strains from centenarians' faeces. *Food Microbiol. Anaerobe.* **12** : 148-152.

Patterson C.A., 2008. Probiotiques : bienfaits au-delà des fonctions nutritionnelles de base. *AAFC.* #4

R

Raynaud. (2006).Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries Toulouse N° d'ordre : 26 pages : 309.

ROISSARTH. and LUQUET F.M. Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques

S

SCHLEIFER K.H., KRAUS J., CVORAK C., KILPPER-BALZ R., COLLINS M.D. et FISCHER W.(1987). Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. Nov. *System. Appl. Microbiol.*, **6**: 183-195.

T

THAPA N., PAL J., TAMANG J. P. 2006. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fish products of the eastern himalayas. *International J Food Microbiol*, vol. 107, n°1, p. 8-33.

Thompson J., Gentry-Weeks C.R. (1994) Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : *Bactéries lactiques*, Vol. I, p 239-290 (Editeurs : De Roissart H., Luquet

V

Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., De Vos, P., Kersters, K. and Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* **60**: 407.

VIERLING E. 2003. Chapitre X les corps gras. Dans: *Aliments et boissons : Filières et Produits*, 3ème édition : Doin, p.191, 192.

VILAIN A.-C. 2010. Qu'est-ce que le lait. Revue française d'allergologie : Elsevier Masson, vol. 50, p. 124–127.

Vizoso Pinto M.G., Franz C.M.A.P., Schillinger U. et Holzapfel W.H., 2006. Lactobacillus spp.

with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. Int. J. Food Microbiol. **109** : 205-214.

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

W

WALSTRA P., GEURTS T.J., NOOMEN A., JELLEMA A., VAN BOEKEL M.A.J.S.

1999. Dairy technology, principles of milk properties and processes. Food science and technology. New York-Basel: Marcel Dekker Inc, p. 325-515.

Walling E.G., Indreau E. et Lonvaud-Funel A., 2001. La biosynthèse d'exopolysaccharide par#des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de

Annexe I : Composition des milieux de culture, réactifs

milieu MRS (pH = 6,2 ± 0,2) (CONDA Pronadisa) (De Man et al., 1960)

- Peptone

pH 7,2

Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes

Guiraud, 2003

Milieu Gibson-Abdelmalek (pH 6.5)

Extrait de levure 2.5g

Glucose 50g

Jus de tomate .. 100ml

Lait 800ml

Gélose nutritive ordinaire 200ml

Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.

L'agar au triglycérade:

Extrait de levures : 1g /100ml

Agar 3g

Triglycérade 50ml

Après autoclavage à 121c /15min

Eau physiologique

Chlorure de sodium 8,5 g

Eau distillée qsp 1000 mL

Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes

Annexe II : Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

0 Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;

0 Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;

0 Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;

0 Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;

0 Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;

0 Laver à l'eau ;

0Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).
Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.