

République algérienne démocratique et populaire



Université Abdelhamid Ibn
Badis de Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

MOKAREM Fatima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Exploitation des Ecosystèmes Microbiens Laitiers

THÈME

*Caractérisation et Evaluation des aptitudes
technologiques des Lactocoques isolés d'une crème
fraiche crue destinée à la transformation industrielle.*

DEVANT LE JURY

Président	Benbouziane	M.C.B U.Mostaganem
Encadreur	Homrani	M.C.A U.Mostaganem
Examineur	BENMILOUD	M .A.A U.Mostaganem
Co-encadreur	Dahou	Doctorant U.de Mostaganem

Thème réalisé au niveau du :

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale Université de Mostaganem
ainsi que la SARL HODNA LAIT M'SILA.

2015-2016

Remerciements

Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage, la santé, la patience et la volonté pour terminer ce travail.

Au moment où se termine ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de mémoire, m'ont dirigé, soutenu, aidé et encouragé.

Tout d'abord, ma profonde gratitude et vifs remerciements s'adressent à **Mr. Homrani**, qui a encadré ce travail et qui a apporté de l'aide et du soutien moral.

Je tiens particulièrement à remercier mon Co-encadreur **Mr. Dahou Amine**, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout au long de mon travail de mémoire, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie sincèrement **Mlle.Meghoufel N.L.**, pour son aide, ses précieux conseils, sa disponibilité, pour son partage de savoir et son encouragement.

Je tiens à remercier aussi :

Mr.Benbouziane d'avoir accepté de présider le jury

Mr.Benmiloud d'avoir accepté d'examiner ce travail

Mes remerciements s'adressent aussi à mes maitres **Mr.Medjahed** chef du département de biologie, **Mr.Mezardja.F**, **Mr.Bekada** et **Mme.Tahlaiti** pour ses conseils scientifiques judicieux et pour ses soutiens moraux.

En fin, je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce travail

A celui qui m'a voulue toujours et m'a aidée pour mieux avancer
Durant toute ma vie avec son amour, sa confiance, ses prières et ses

Encouragements

Le plus cher papa Mohammed

A ceux qui m'ont donné l'amour, la tendresse la compréhension et le
Courage et la femme dont l'affection, la grandeur d'âme et d'esprit
M'ont permis d'arriver à surmonter tous les objectifs pour pouvoir

Donner le meilleur de moi-même à toi

Ma très chère mère Rabia

Que dieu les protège et les garde pour moi.

A mes chers grands parents.

A ma chère sœur Hayet, je lui souhaite la réussite et la joie.

A mes chers frères Walid, Tayeb, Abdelkader, Oussama et islam, je

Leur souhaite une vie pleine de bonheur.

A ma très chère tante Zohra, je lui souhaite la belle vie.

A mon très cher oncle Bouabdellah.

A ma très chère amie que j'aime très fort Chahrazed, je lui souhaite un bon

Avenir.

Un très grand merci à tous et à toutes mes amies surtout

(Zahia,Safia,Hakima,Neserine,Fatima,Chafia,Amina,Mabrouka,Dalila,Rajaa,Houda,Noura...)

(Tawfiq et Bachir)

A toute la famille Mokarem et Abdali.

A ma promotion de microbiologie appliqué 2013 et ma promotion E.E.M.L 2015-2016.

Fatima.

Résumé

Le but de notre travail consiste à isoler et à identifier des bactéries lactiques à partir d'un produit frais dérivé du lait ; les crème fraiche crue. Trente-six souches ont été isolées à partir d'un échantillon de crème fraiche crue prélevé de la SARL HODNA LAITM'SILA.

L'identification a été réalisée en effectuant de nombreux tests microbiologiques et biochimiques qui ont mené à la détermination de deux genres suivants : *Lactococcus* et *Enterococcus*. L'analyse des résultats ont indiqué une dominance du genre *Lactococcus* parmi les isolats purifiés. L'analyse des résultats ont montré aussi que ces souches des *Lactococcus* isolées ayant des bonnes aptitudes technologiques acidifiantes et protéolytiques surtout pour les 04 souches suivantes (C3, C4, A2, C3").

Enfin, nous avons essayez d'utiliser ces isolats de *Lactococcus* dans la fabrication de la crème maturée dans le but d'améliorer sa texture, son épaisseur, son acidité et même son gout ensuite une analyse sensorielle a été effectuée pour évaluer le niveau d'acceptation de la qualité gustative de la crème fraiche après maturation par des dégustateurs du laboratoire puis ils ont jugés que cette crème maturée est bon.

Mots clés : bactéries lactiques, la crème fraiche crue, l'identification, *Lactococcus*, *Enterococcus*, aptitudes technologiques, crème maturée.

ملخص

الهدف من عملنا يرتكز على عزل و تمييز البكتيريا اللبنية من خلال منتج طازج مشتق من الحليب القشدة الطازجة. ستة و ثلاثون أصلة تم عزلها من خلال عينة القشدة الطازجة المأخوذة من الملبنة الصناعية حضنة مسيلة. تم تمييزها بتحقيق العديد من الفحوصات الميكروبيولوجية و البيوكيميائية التي أدت الى تحديد نوعين متتاليين : لاكتوكوز و اونتغوكوز.

تحليل النتائج بين سيادة نوع لاكتوكوز من بين الاصلات النقية. كذلك تحليل النتائج أوضح أناصلات اللاكتوكوز المعزولة لها كفاءة تكنولوجية جيدة من حيث الحموضة و اماهة البروتينات.

في الاخير، حاولنا استعمال اللاكتوكوز المعزولة في صناعة القشدة الياence بهدف تحسين بنيتها، سمكها، حموضتها و حتى ذوقها.

الكلمات المفتاحية :

البكتيريا اللبنية، القشدة الطازجة، تمييز، لاكتوكوز، اونتغوكوز، كفاءة تكنولوجية، القشدة الياence.

Abstract

The aim of our work is to isolate and identify lactic acid bacteria from produce frais be derived from milk cream fraichegrow. Thirty six strains were isolated from one sample of cream fraiche grow take it SARL HODNA MILK M'SILA.

The identification was carried out by performing many microbiological and biochemical tests that led to the identification of the following in two genera :*Lactococcus*and*Enterococcus*.

Analysis of the results showed a dominance of *Lactococcus*among isolates purified.as well as analysis of the results showed that strains of *Lactococcus*isolates have got good aptityd technological.

In the end, we have try use this isolates of *Lactococcus in* to making the cream mature.

Keywords : lactic acid bacteria, cream fraiche grow, The identification, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *aptityd* technological, cream mature.

Liste des abréviations

AOC : appellation d'origine contrôlée.

ANC : couverture des apports nutritionnels conseillés.

°C : degrés Celsius.

D° : degré Dornic.

DVI : Inoculation direct de la cuve de fermentation.

FTAM : flore mésophile aérobie totale

g : gramme.

g/l : gramme par litre.

h : heure.

H₂O₂ : eau oxygénée.

L : litre.

L.lactis subsp : Lactococcus lactis sub espèce.

LSTPA : laboratoire de recherche des sciences et techniques de production animale.

MG : matière grasse.

MRS : De Man, Rogosa et Sharpe.

MSE : Mayeux, Sandine et Elliker.

Na Cl : chlorure de sodium.

NR : nitrate réductase.

PCA : plate count agar.

pH : potentiel d'hydrogène.

ssp : sous espèce.

UFC /ml : Unité formant colonie par millilitre.

UHT : ultra haute température.

μl : microlitre.

μm : micromètre.

% : pourcentage.

Liste des figures

Figure 01: Du lait aux produits laitiers.....	08
Figure 02: Schéma général de la filière lait.....	09
Figure 03: Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés.....	11
Figure 04: Diagramme simplifié de la production du yaourt.....	12
Figure 05: Étapes essentielles de transformation du lait en fromage.....	13
Figure 06: Etapes de fabrication du beurre.....	16
Figure 07: process de fabrication de crème fraîche.....	19
Figure 08 : Principaux process de fabrication des crèmes de consommation.....	21
Figure 09 : Modes d'ensemencement traditionnel et direct : principales étapes de mise en œuvre par le producteur de ferments et par l'utilisateur.....	30
Figure 10 : Diagramme de production de ferments lactiques concentrés congelés ou lyophilisés.....	32
Figure 11 : aspect macroscopique des souches isolées sur milieu PCALait à 25C°.....	42
Figure 12 : observation microscopiques des souches des Lactocoques isolées après coloration de Gram (G×100).....	43
Figure 13 : Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C.....	44
Figure 14 : Exemple du résultat du test nitrate réductase : nitrate réductase négative.....	45
Figure 15: Exemples de résultat du type fermentaire.....	45
Figure 16 : Exemple des résultats du lait de Sherman.....	46
17: Exemple des résultats de test de croissance en présence de 6,5% de NaCl.....	46
Figure 18: Exemple des résultats de test de production d'acétoïne (résultat négative).....	47
Figure 19: Résultat de l'évolution du pH avec l'acidité Dornic des souches (C3'', A1', C3,' C4'', A2, C3).....	49-50

Figure 20: Exemples de résultats obtenus pour l'activité protéolytique.....	50
Figure 21 : Exemple de résultat obtenu pour l'activité lipolytique.....	51
Figure 22 : Exemple de résultat obtenu du pouvoir texturant.....	51

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre.....	04
Tableau 2 : Classification des protéines.....	05
Tableau 3 : Composition minérale du lait de vache.....	05
Tableau 4 : Classification des différents types de fromages et micro-organismes utilisés dans leur fabrication.....	14
Tableau 5 : Composition moyenne pour 100 g de beurre.....	17
Tableau 6 : Les différents types de crème et leurs dates limites de conservation.....	20
Tableau 7 : Apports nutritionnels d'une crème fraîche épaisse.....	22
Tableau 8 : Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière.....	25
Tableau 9 : Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches.....	41
Tableau 10 : résultats de test catalase et coloration de Gram et aspect Microscopique des souches.....	42-43
Tableau 11 : Caractéristiques biochimiques des isolats purifiés.....	48
Tableau 12 : résultat de notation sur l'impression globale.....	52

Table de matière

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale01-02

Chapitre I – Généralité sur le lait et les produits laitiers.

1)-le lait.....03

1-1)- Définition du lait.....03

1-2)-Composition du lait03

1-2-1)- Eau.....04

1-2-2)- Matières grasses.....04

1-2-3)-les protéines.....05

1-2-4)- Lactose.....05

1-2-5)- Minéraux.....06

1-2-6) –Vitamines.....06

1-2-7)-Enzymes.....06

1-3)- Les caractéristiques physico-chimiques du lait.....07

1-3-1)- Densité.....07

1-3-2)- L'Acidité de titration ou acidité Dornic.....07

1-3-3) Le point de congélation.....07

1-3-4)-Le pH.....07

1-4)-Intérêt nutritionnel et diététique du lait.....08

1-5) –les produits laitiers.....08

1-5-1)-La filière des produits laitiers.....08

1-5-2)-produits laitiers fermentés.....09

1-5-3)-Lait fermenté.....10

1-5-3-1)-L'ben.....11

1-5-3-2)-Raib.....11

1-5-2-1)-yaourt.....11-12-13

1-5-2-2)-Fromage.....	13.-14-15
1-6)-Les corps gras.....	16
1-6- 1)-Beurre.....	16
1-6-1 -1)-Fabrication du beurre standard.....	16
1-6-1-2)-Procédé de fabrication de beurre.....	17
1- 6-1-3)-Valeur nutritionnelle.....	18
1-7)-la crème fraîche	18
1-7-1)-Histoire.....	19
1-7-2)-Fabrication de crème fraîche.....	19-20
1-7-3) les différents types de crèmes.....	20-21
1-7-3-1)-Fabrication des crèmes de consommation.....	22-23
1-7-4)-La crème : une source de micronutriments.....	23-24
1-7-5) – La crème : une matière grasse mettre en valeur.....	24
1-7-6)-Réglementation.....	25
1-7-6-1)-Diversité des taux de matières grasses.....	25
1-7-6-2)-Traitements thermiques appliqués.....	25

Chapitre II : les ferments lactiques et leurs utilisations

1)-Généralité sur les ferments lactiques.....	26
1-1)-Définition.....	26
1-2)- Taxonomie des microorganismes utilisés dans l'industrie laitière.....	27
1-2-1)- Levures.....	27
1-2-2)- Moisissures.....	27
1-2-3)- Bactéries.....	27
1-2-3 -1) Les lactocoques : taxonomie et caractéristiques générales.....	28-29
1-2-3-2)- Ferments lactiques.....	29-30
1-3)- Rôle des ferments.....	30
1-4)- Types des ferments.....	31
1-4-1)- Ferments artisanaux.....	31

1-4-2)- Ferments commerciaux.....	32
1-5)- Technologie de production des ferments commerciaux.....	33
1-5-1)- Modes d'ensemencement.....	33
1-5-2)-Diagramme général de production.....	34-35-36
1-5-3)-Conservation des ferments.....	36-37
1-5-4)-Fonctionnalités technologiques.....	37-38
1-6)- Utilisation industrielle des ferments lactiques.....	38-39
1-6-1)-Avantages de l'utilisation des ferments concentrés.....	39
1-6-2)-Problèmes liés à l'utilisation des ferments lactiques.....	39-40

CHAPITRE III : Matériels et Méthodes

1)- Objectif de l'étude.....	41
2)- Matériel.....	41
2-1)-Origine de l'échantillon.....	41
2-2)- Milieu de culture.....	41
3)- Méthodes.....	41
3-1)- Isolement et purification des bactéries lactiques.....	41
3-1-1)-Préparation des dilutions décimales.....	41
3-1-2)-Isolement et purification des isolats.....	42
3-2)- Analyse préliminaire des isolats (pré identification).....	42
3-2-1)- L'aspect macroscopique.....	42
3-2-2)- Recherche de la catalase.....	42
3-2-3)- L'aspect microscopique.....	42
3-2-4)- Dénombrement de la flore totale (FTAM).....	42
3-3)- Caractérisation biochimique des isolats obtenus.....	43
3-3-1)- Nitrate réductase.....	43
3-3-2)- Culture à 45°C.....	43
3-3-3)- Test de type fermentaire.....	43

3-3-4)- Croissance sur le lait de Sherman.....	43
3-3-5)- Croissance en présence de 6,5% de NaCl.....	44
3-3-6)-Production d'acétoine.....	44
3-4)- Etude des aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées.....	44
3-4-1)-Pouvoir acidifiant.....	44
3-4-2)-Pouvoir protéolytique.....	44
3-4-3)- Pouvoir lipolytique.....	44
3-4-4)- Pouvoir texturant.....	45
3-5)- Procédé de maturation de crème fraîche par les isolats purifiés.....	45
3-6)- Conservation des souches isolées.....	45
-Conservation à longue durée.....	45

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1)-Pré - identification des souches.....	46
1 -1)-Etude macroscopique.....	46-47
1-2)-Etude microscopique.....	48-49-50
1-3)- Dénombrement de la flore totale (FTAM).....	51
2)-Identification physiologique et biochimique des isolats lactique.....	51
2-1)- Nitrate réductase.....	52
2-2)-Test de température de croissance à 45C°.....	52
2-3)-Test de type fermentaire.....	52
2-4)-Test de croissance sur le lait de Sherman.....	53
2-5)-Test de croissance en présence de 6,5% de NaCl.....	53-54
2-6)-Test de production d'acétoine.....	54
3)- Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées.....	56
3-1)- Pouvoir acidifiant.....	56
3-2)- Pouvoir protéolytique.....	57
3-3)-Pouvoir lipolytique.....	58

3-4)-Pouvoir texturant.....	58
3-5)-Procédé de maturation de crème fraîche par les isolats purifiés.....	58-59
-Conclusion.....	60
-Références bibliographiques.....	61
-Annexes.....	71

Introduction

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes de grade alimentaire qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles occupent des niches écologiques extrêmement variées. Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré, de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exo-polysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer au développement des caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (Mozzi et al., 2010).

Le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Huyghebaert., 2006). Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (10³ germes par ml). Il s'agit de germes saprophytes et parmi eux, on trouve les Streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et les Lactobacilles. Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants :

Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Leuconostocs et Lactobacillus(Bekhouche, 2006).

Parmi les dérivés du lait ; la **crème** est un produit laitier, un concentré issu du lait riche en matière grasse. Elle est obtenue soit mécaniquement par centrifugation, soit naturellement par décantation du lait. Les origines de la crème sont liées au lait, l'homme pratique l'agriculture et l'élevage, Jusqu'à la fin du XIX^{ème} siècle, l'obtention de la crème nécessitait beaucoup de patience. Le processus de fabrication n'a donc pas changé. La seule modification, hormis les progrès de l'hygiène, vient de la technologie (invention d'une écrémeuse centrifuge) qui a su reproduire industriellement les gestes ancestraux de la fabrication. C'est d'abord le lait des chèvres, puis des brebis, et enfin celui des vaches à échelle familiale.

Actuellement dans les pays aux pratiques d'hygiènes soumis à des normes spécifiques, la majorité de la crème commercialisée est maintenant de provenance industrielle, Il existe plusieurs types de productions crémières utilisant des méthodes d'obtention différentes

donnant des produits finis distincts. Ces différences sont d'ordres sensoriels, nutritives, de stabilité, de conservation.

L'utilisation de la flore lactique caractérisée essentiellement par les lactocoques vise à donner à la crème fraîche une acidification de conservation due aux acides organiques libérés et participe à la formation d'une texture et à l'élaboration d'un goût de diacetyl caractéristique **(Christian. M ,2012)**.

C'est dans ce contexte que notre étude se propose de caractériser et évaluer les aptitudes technologiques des Lactocoques isolés d'une crème fraîche crue pour une utilisation dans la transformation industrielle. A ce titre, notre étude a été répartie en quatre parties principales. la première partie est une synthèse bibliographique ; faisant le point sur le lait et les produits laitiers, les ferments lactiques et leurs utilisation. La seconde partie représente le matériel et les méthodes basées sur l'isolement et caractérisation des Lactocoques isolés d'une crème fraîche crue. La troisième partie est consacrée à la description des souches isolées et la description de certaines propriétés technologiques sur la partie résultats et discussions. Enfin une dernière partie qui est consacrée aux conclusions et aux perspectives.

1)-Le lait**1-1)-définition**

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant «Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum» (**POUGHEON et GOURSAUD, 2001**).

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. (**ABOUTAYEB, 2009**).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes).

Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**FREDOT, 2006**).

JEANTET et coll. (2008) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

1-2)-La composition du lait :

FRANWORTH et MAINVILLE (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes. Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à l'espèce et à la race animale qui l'a produit (**MITTAINE, 1980**).

Selon **FAVIER (1985)**, le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup

plus riches en gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E.

1-2-1)-Eau

D'après AMIOT et coll. (2002), l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

Le tableau 1 donne la composition moyenne en % pour différentes espèces.

Tableau 1 : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre (JENSEN, 1995).

<i>Composants</i>	<i>Vache</i>	<i>Femme</i>	<i>Brebis</i>	<i>Chèvre</i>
<i>Protéines</i>	3.4	1.0	2.9	5.5
<i>Caséines</i>	2.8	0.4	2.5	4.6
<i>lipides</i>	3.7	3.8	4.5	7.4
<i>Lactose</i>	4.6	7.0	4.1	4.8
<i>Minéraux</i>	0.7	0.2	0.8	1.0

1-2-2)-Matière grasse

JEANTET et coll. (2008) rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 μ m et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme:

- Une très grande variété d'acides gras (150 différents),
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes;
- Une teneur élevée en acide oléique (C18:1) et palmitique (C16:0),

- Une teneur moyenne en acide stéarique (C18:0),

1-2-3)-Protéines

Selon **JEANTET et coll. (2007)**, le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes:

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales,
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales.

La classification des protéines est illustrée dans le tableau 2.

Tableau 2: Classification des protéines (**BRUNNER, 1981 cité par POUGHEON, 2001**).

<i>NOMS</i>	<i>% des protéines</i>	<i>Nombre d'AA</i>
CASEINES	<i>75-85</i>	
Caséine α_{S1}	<i>39-46</i>	<i>199</i>
Caséine α_{S2}	<i>8-11</i>	<i>207</i>
Caséine	<i>25-35</i>	<i>209</i>
Caséine k	<i>8-15</i>	<i>169</i>
Caséine g	<i>3-7</i>	
PROTEINES DU LACTOSERUM	<i>15-22</i>	
β -Lactoglobuline	<i>7-12</i>	<i>162</i>
α -Lactalbumine	<i>2-5</i>	<i>123</i>
Sérum-albumine	<i>0.7-1.3</i>	<i>582</i>
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	<i>1.9-3.3</i>	<i>-</i>
Protéoses-peptones	<i>2-4</i>	<i>-</i>

1-2-4)-Lactose

MATHIEU(1999) évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule C₁₂H₂₂O₁₁, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache.

Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (**HODEN et COULON, 1991**).

1-2-5)-Minéraux

Selon **GAUCHERON(2004)**, le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (Tableau 3).

Tableau 3: Composition minérale du lait de vache (**JEANTET et coll., 2007**)

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg ⁻¹)
Calcium	240
Magnésium	49
Phosphate inorganique	380
Citrate	756
Sodium	253
Potassium	469
Chlorure	435

1-2-6)-Vitamines

Selon **VIGNOLA(2002)**, les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser.

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (**JEANTET et coll. 2008**).

1-2-7)-Enzymes

POUGHEON(2001) définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile.

1-3) Les caractéristiques physico-chimiques du lait

1-3-1) La densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Vierling, 2008**).

1-3-2)L'acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**CIPC lait,**

1g d'acide lactique par litre de lait=10°D

2011).

1-3-3) Le point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54 °C et - 0,55°C (**Mathieu, 1998**). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C (**Goursaud, 1985**).

1-3-4) Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium

(H_3O^+) et donc une diminution du pH, car : $pH = \log 1/[H_3O^+]$ A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle +acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (**CIPC lait, 2011**).

1-4)- Intérêt nutritionnel et diététique du lait

L'intérêt nutritionnel de lait est double :

- Apport en protéines d'excellentes valeurs biologiques.
- Apport en calcium fournissant en outre des vitamines A, D et B2 (**DUPIN, 1973**).

Pour les protéines, la caséine est à plus forte raison, le complexe protidique du lait, elle contient en bonne proportion tous les acides aminés indispensables à la croissance et à l'entretien, les glucides composé du lactose qui joue un rôle important dans l'entretien d'une flore digestive lactique et dans l'absorption du calcium.

Le lait peut contenir des facteurs de croissance qui sont des polysaccharides (**ALAIS, 1975**).

Pour le calcium mieux assimilé dans l'intestin que celui de toute autre source, car le lait contient d'autres éléments favorable à cette assimilation, mieux utilisées dans l'organisme car le lait apporte en même temps du phosphore en bonne proportion et un peu de vitamines D. (**ALAIS, 1975**).

1-5)-Les produits laitiers

Grâce à la richesse de sa composition et la variété de ses constituants, le lait donne naissance par transformation à une très vaste famille de produits telle que : Crème, beurre, fromage frais, fromage, yaourt...etc.

1-5 -1)-La filière des produits laitiers

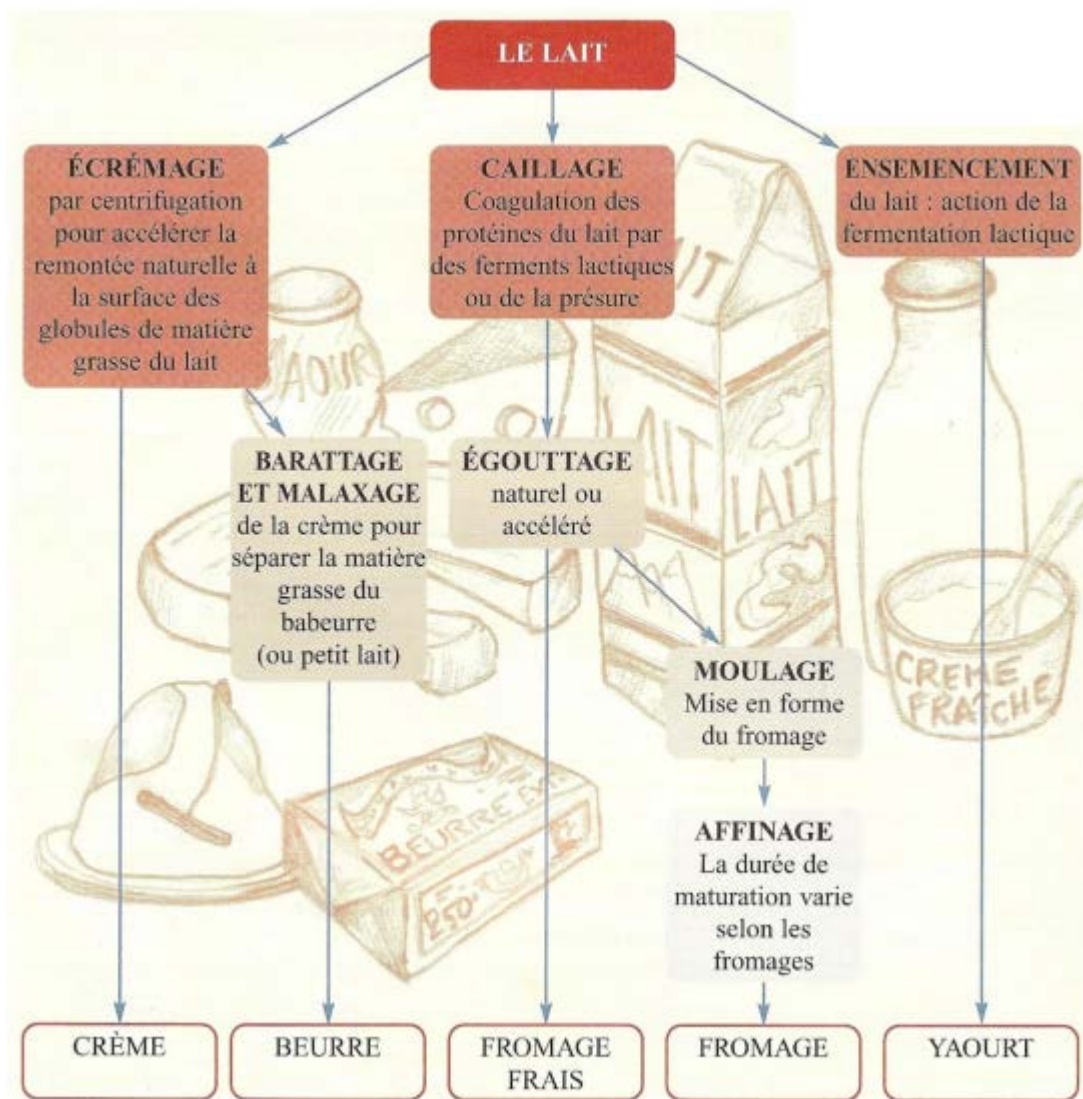


Figure 1 : Du lait aux produits laitiers

1-5-2)- Produits laitiers fermentés

Une large gamme de produits laitiers fermentés est commercialisée à travers le monde. Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs pays et qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation.

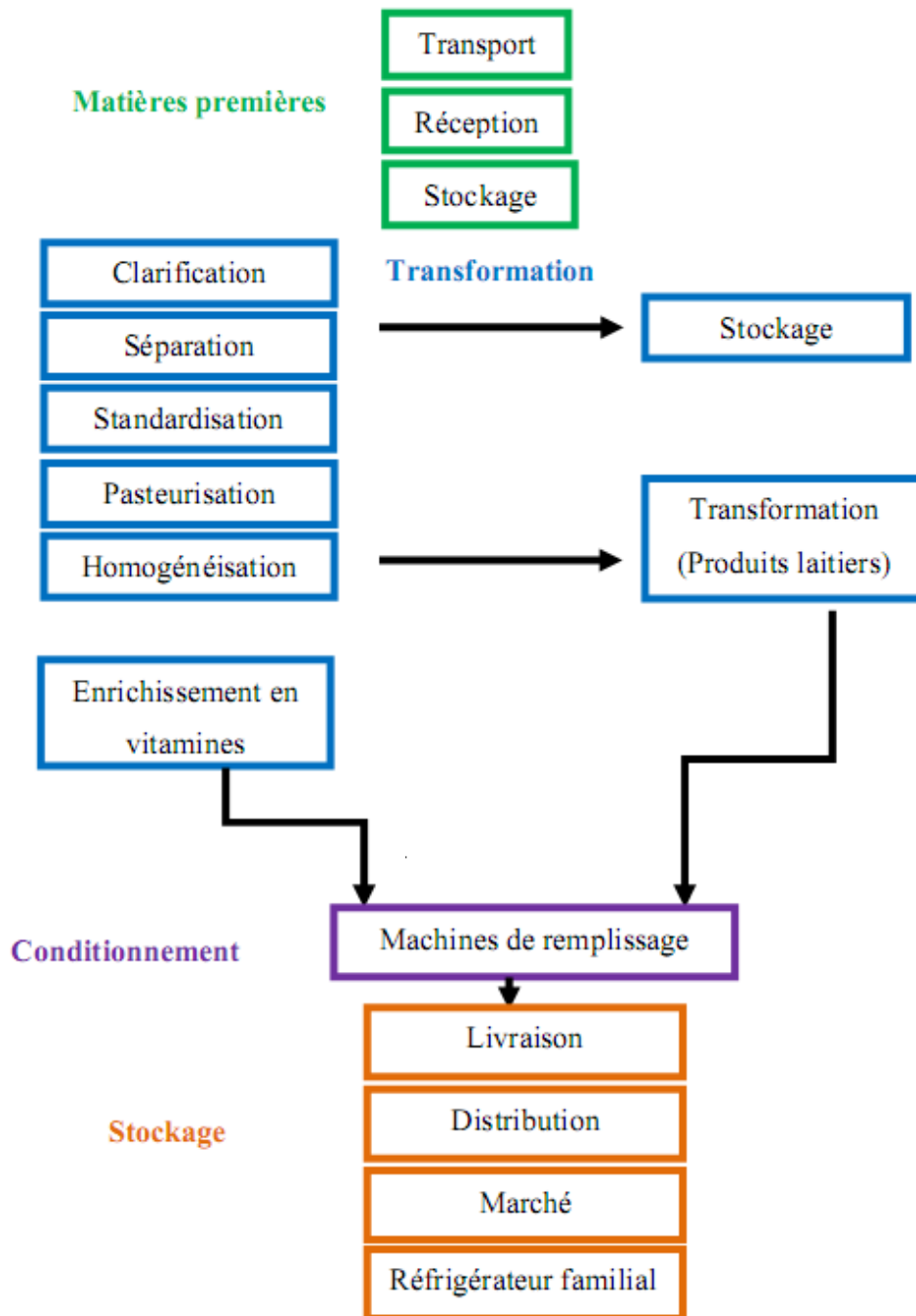


Figure2: Schéma général de la filière lait (Chisti, 2004).

1-5-3)- Lait fermenté

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait (Béal et Sodini, 2012). Les laits fermentés algériens sont le L'ben et le Raïb.

1-5-3-1)- L'ben

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (Ouahghiri, 2009 ; Benkerroum et Tamime, 2004).

Le L'ben est produit également à l'échelle industrielle. C'est un lait pasteurisé fermenté.

L'acidification est provoquée par ensemencement des ferments lactiques mésophiles. Le lait qui sert à la préparation du L'ben est reconstitué. Il subit une pasteurisation à 84°C pendant 30 secondes, puis refroidi à 22°C etensemencé de levain lactique (*Streptococcus cremoris* ; *Streptococcus lactis* et *Streptococcus diacetylactis* ; *Leuconostoc dextranicum*, *Leuconostoc citrovorum* et *Leuconostoc mesenteroides*) (Benkerroum et Tamime, 2004).

1-5-3-2)- Raïb

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben (lait écrémé fermenté). Le Raïb a une très ancienne tradition en Algérie; il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (Mechai et Kirane, 2008). Contrairement au L'ben, le Raïb ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier.

1-5-2-1)- Yaourt

Le yaourt est un lait fermenté obtenu exclusivement par la coagulation du lait sous l'action de deux bactéries : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Quiberoni et al., 2010 ; Iyer et al., 2009) .

Ces bactéries doivent être vivantes dans le produit et leur nombre doit dépasser dix millions par gramme de yaourt à la date limite de conservation (Hols et al., 2005; Pfeiler et Klaenhammer, 2007; Champagne et al., 2009).

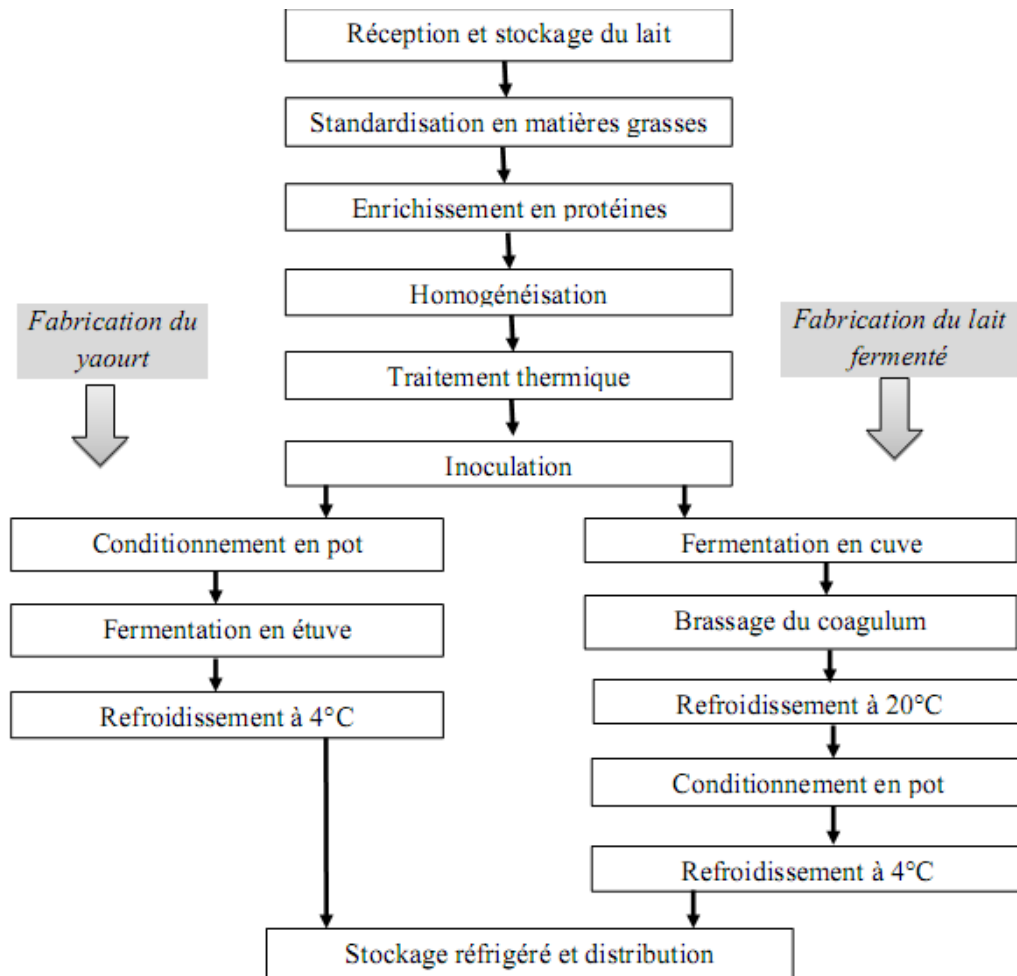


Figure 3: Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés (Béal et Sodini, 2012).

Les deux principaux types de yaourt sont le yaourt brassé et le yaourt ferme.

Les Figures 3– 4 montrent les différentes étapes de production des yaourts et laits fermentés et des deux types de yaourt respectivement.

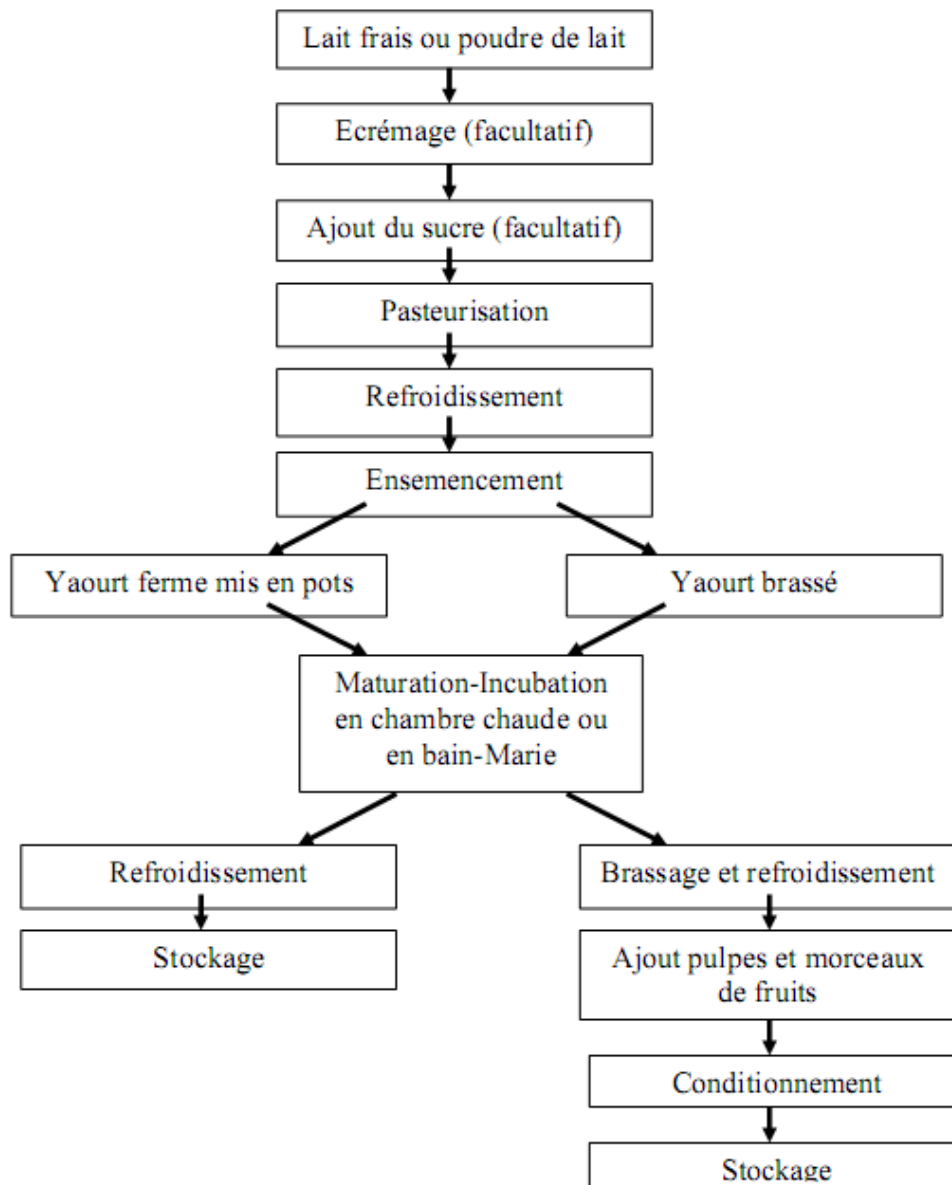


Figure 4: Diagramme simplifié de la production du yaourt (Yıldız, 2010).

1-5-2-2)-Fromage

Le but de l'industrie fromagère est de transformer le lait en un produit d'utilisation prolongée et de goût différent grâce à diverses actions microbiennes et enzymatiques (Leroy et De Vuyst, 2004; Hui, 1993). La coagulation du lait et l'égouttage du caillé obtenu, représentent, en effet, une sorte de concentration, qui constitue un moyen de conservation auquel il faut ajouter l'acidification provoquée par la fermentation lactique, qui s'oppose à l'envahissement du fromage par les bactéries de putréfaction (Yıldız, 2010; Iyer et al., 2009; Keohane et al., 2009; Parente et Cogan, 2004). Ce double principe de dessiccation et d'acidification va se retrouver, plus ou moins prononcé dans la préparation de tous les

fromages (Leroy et De Vuyst, 2004). La transformation du lait en fromage comporte quatre étapes essentielles (voir Figure 5). Dans le cas d'un fromage frais, la fabrication est terminée après l'égouttage (Yıldız, 2010; Parente et Cogan, 2004).

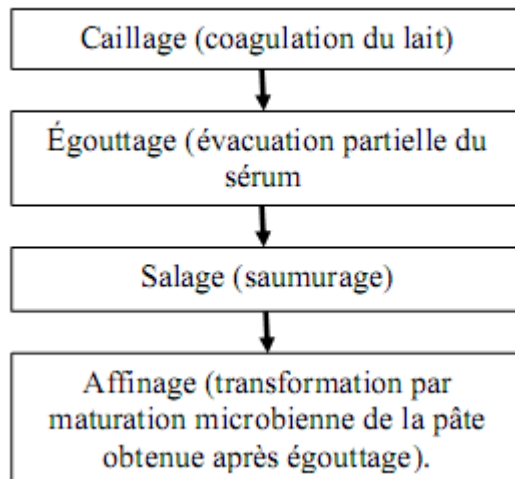


Figure 5 : Étapes essentielles de transformation du lait en fromage (Parente et Cogan, 2004).

Il existe environ 4000 variétés de fromages dans le monde, toutes élaborées en quatre étapes selon un même procédé. Les interventions particulières que l'on effectue à certaines étapes déterminent telle ou telle variété. Par conséquent, on a pu classer les fromages en un nombre restreint de catégories.

Il y a eu plusieurs classifications parmi lesquelles celle de Keilling (1947) est la plus appropriée, tant elle est simple et pratique (Yıldız, 2010). Cette classification repose sur des différences technologiques qui déterminent les catégories de fromages décrites dans le (Tableau 4).

Tableau 4: Classification des différents types de fromages et micro-organismes utilisés dans leur fabrication.

leur justification

Type de fromage	Description	Micro-organismes utilisés	Références
<i>Fromages à pâte fraîche</i>	Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidification).	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis diacetylactis</i> .	Chamba et Irlinger, 2004
<i>Fromages à pâte ferme</i>	Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue : - <i>les fromages à pâte ferme non cuite</i> (Edam, Saint-Paulin, etc.) - <i>les fromages à pâte ferme cuite</i> (Gruyère, Conti, etc.)	<i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , levures, moisissures diverses.	Parente et Cogan, 2004 Yildiz, 2010
<i>Fromages à pâte molle</i>	Fromages ayant subi un affinage relativement prolongé (protéolyse et lipolyse intenses par la flore de surface) après une fermentation lactique (ex. Camembert).	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Brevibacterium linens</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Penicillium camemberti</i> , levures.	Branger, 2012 Yildiz, 2010
<i>Fromages à pâte persillée</i>	Fromages affinés, à moisissures interne (ex. Roquefort). Il y'a développement interne de <i>Penicillium roqueforti</i> grâce à l'action de <i>leuconostoc</i> et des levures qui produisent une ouverture et une petite quantité d'éthanol.	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactococcus lactis cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Penicillium roqueforti</i> , levures.	Settanni et Moschetti, 2010
<i>Fromages fondus</i>	Constitués d'un mélange de fromage(s), de beurre, de crème et de lait, pasteurisé (95°C) ou stérilisé (125°C). Appelés aussi <i>fromages remaniés</i> , ils sont de nombreux types dont certains sont obtenus après récupération des fragments de fromages à pâte ferme tel que le Gruyère et qui présentent certains défauts. En réalité, il s'agit plus d'une dissolution suivie d'une dispersion de protéines dans l'eau que d'une fonte qui, correspond au sens physico-chimique du terme, à la désintégration d'une structure solide cristalline par l'apport d'énergie thermique ou l'exercice d'une pression.	Pas d'ajout de ferments lactiques	Boutonnier, 2012

Les ferments du fromage sont constitués essentiellement par des Lactocoques, Leuconostocs, Lactobacilles et Streptocoques. Les cultures starter comprennent également des propioni bactéries, brevibactéries et des espèces de moisissure *Penicillium*. Ces derniers organismes

sont utilisés en conjonction avec des bactéries lactiques pour donner au fromage des caractéristiques particulières.

1-6)-Les corps gras :

1-6-1)- Beurre

D'après les normes du Codex Alimentarius, la dénomination de terme –beurre-est appliqué pour «un produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau dans huile» (**Luquet et Corrieu, 2005**). Il est obtenu à partir de barattage de la crème du lait (Rayeb).

Le beurre frais est obtenue après le barattage du lait fermenté Rayeb, occasionnellement une quantité d'eau tiède (40-50C°) est ajoutée (environ 10%), à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules gras et l'augmentation du rendement en Zebda. Lors du barattage mécanisé les globules gras flottent sur la surface du Lben. Ce gras est séparé par une cuillère perforée ; Le beurre fais ainsi obtenu a une forte odeur de diacétyle, et possède une consistance molle à cause de la forte teneur en eau (**Tantaoui ELaraki et ELmarakchi, 1987**), l'excès du beurre produit est transformé en beurre rance (Smen) pour la préservation. Le beurre frais est lavé dans une eau tiède, puis cette eau est remplacée par une saumure, l'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une eau claire ce qui indique que le beurre est dépourvu du Leben résiduel, le beurre après est salé (8-10g /100g) puis conditionné.

1-6-1-1)- Fabrication du beurre standard

Le beurre est un produit alimentaire exclusivement d'origine laitière, obtenu à partir de la crème. À l'inverse de celle-ci, il se présente généralement sous forme solide et c'est une émulsion de type eau dans l'huile. Cet état nécessite une inversion des phases présentes dans la crème qui peut s'opérer de différentes manières, mais qui nécessite toujours des chocs mécaniques pour aboutir. Le beurre occupe une place particulière au sein de la famille des corps gras alimentaires solides, encore appelés graisses alimentaires. En effet, c'est un produit naturel, obtenu à partir de crème fraîche, de ferments lactiques et éventuellement de sel (**Jean-Luc BOUTONNIER, 2007**).

1-6-1-2)- Procédé de fabrication de beurre :

La fabrication du beurre par procédé industriel se fait comme indiqué dans la figure suivante :

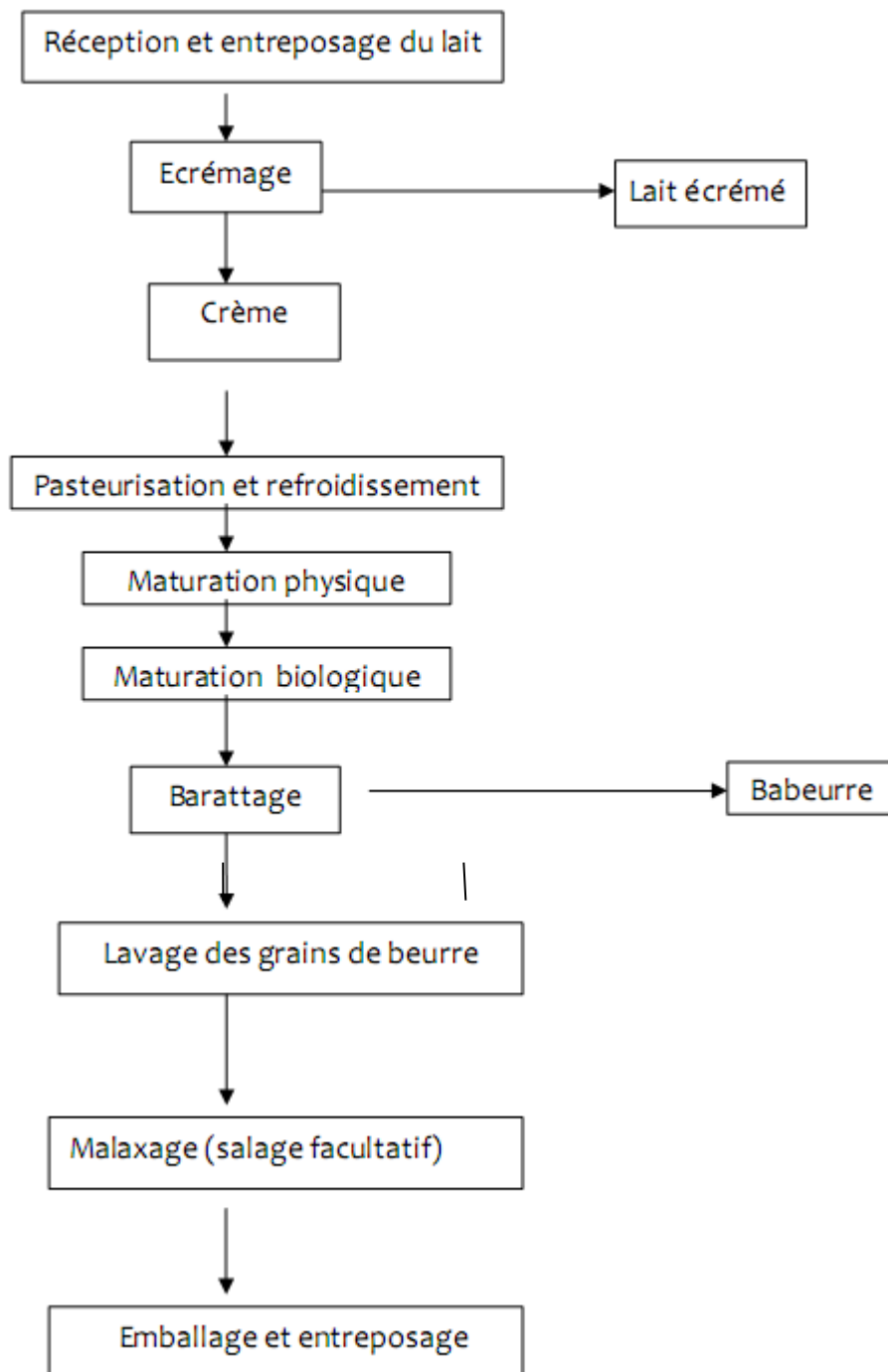


Figure 06 : Etapes de fabrication du beurre (Angers, 2002).

1-6-1-3)-Valeur nutritionnelle:

Le beurre est un aliment énergétique constitué principalement de glycérides (Tableau 05). Il est solide à la température ambiante (**Charles et Guyl, 1997**).

Tableau 05 : Composition moyenne pour 100 g de beurre (**Apfelbaum, Romon, Dubus, 2009**).

Composants	Valeurs
Energie	3155 Kjoules, 755 Kcalories
Lipides	83 g dont :
Acide gras saturés	52.6 g
Acides mono-insaturés	23.5 g
Acide gras polyinsaturés	2 g
Protéines	1 g
Glucides	1 g
Eau	15g
Cholestérol	250 mg
Vitamine A	900 µg à 1 mg
Vitamine D2	5 µg

1-7)-La crème fraîche :

Est une émulsion (suspension) de matière grasse laitière dans l'eau : les particules de matière grasse sont dispersées en gouttelettes dans la phase aqueuse.

C'est à partir de la crème fraîche liquide que l'on obtient la crème fraîche épaisse, en l'ensemencant avec des ferments qui provoquent la précipitation des protéines et l'épaississent.

La crème est particulièrement appréciée pour son onctuosité (**Cathy et Valentine, 2011**).

1-7-1)-Histoire :

La crème fut appréciée très tôt par de nombreux peuples, tant par les populations nomades d'Asie que les celtes ou les vikings.

La crème fraîche, ingrédient majeur d'accompagnement depuis le XVIIIème siècle :Il faut attendre le XVIIIème siècle pour voir son usage se généraliser. La crème est un ingrédient clé pour la préparation de sauces, de farces, d'omelettes et de desserts. Elle est également servie en accompagnement des viandes et volailles.

La crème fraîche s'impose définitivement en cuisine au XIXème siècle, grâce, entre autres, au grand cuisinier **Antonin Carême**, surnommé « le cuisinier des rois et le roi des cuisiniers », qui en a fait la base de nouvelles sauces et l'a associée en particulier aux pommes de terre.

De nos jours, il existe une offre étendue de crèmes fraîches, selon leur teneur en matière grasse (crème entière, légère...) et leur texture (épaisse, liquide...). (**Cathy et Valentine, 2011**).

1-7-2)- Fabrication de crème fraîche :

Le lait entier est le seul ingrédient nécessaire à la fabrication de la crème fraîche. Seul du lait écrémé et des ferments peuvent y être ajoutés.

La fabrication de la crème comprend deux premières étapes essentielles : l'écémage du lait et la pasteurisation.

L'écémage : est le procédé par lequel on sépare la crème des autres composants du lait. Le lait, chauffé à environ 60°C, alimente en continu la cuve de l'écémeuse-centrifugeuse qui le soumet à une rotation très rapide. La force centrifuge accélère la séparation des composants du lait : les plus denses gagnent les parois extérieures tandis que les plus légers, les corps gras, se rassemblent au centre. C'est la crème.

La pasteurisation : est appliquée à toutes les crèmes, sauf à la crème dite « crue ». Elle consiste à éliminer les germes pathogènes éventuellement présents par chauffage contrôlé à une température de 80°C à 100°C pendant 10 à 50 secondes.

On est ainsi assuré de la destruction des germes pathogènes, tout en préservant les qualités organoleptiques et nutritionnelles (vitamines...) de la crème. (**Cathy et Valentine, 2011**).

LA FABRICATION DE LA CRÈME FRAÎCHE

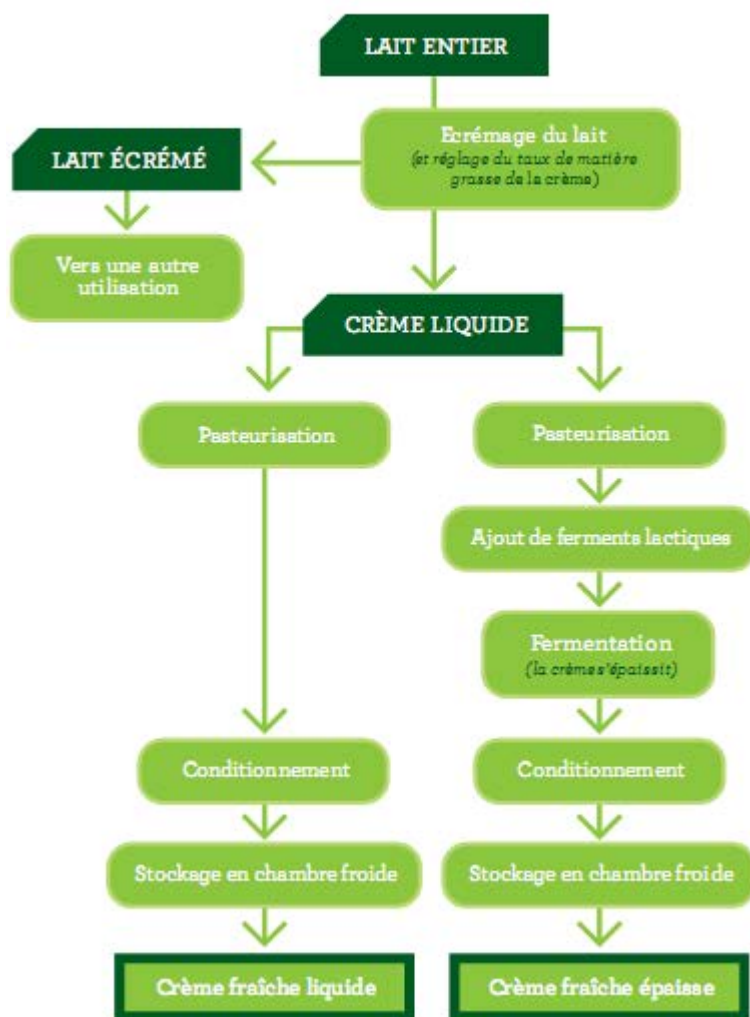


Figure 7 : process de fabrication de crème fraîche (Cathy et Valentine, 2011).

1-7-3)-Les différents types de crème :

Les différents types de crèmes fraîches se distinguent les une des autres selon des critères de teneur en matière grasse et de consistance (liquide ou épaisse). En combinant ces critères, on obtient une large palette de produits.

- Pour être qualifiée de « fraîche », la crème ne doit subir qu'une seule pasteurisation et être conditionnée sur le lieu de production dans les 24h00.

• La crème peut également avoir subi une stérilisation en étant portée à très haute température pendant seulement quelques secondes. Tous les micro-organismes sont alors détruits. Cela permet de conserver la crème plus longtemps à température ambiante tant que le conditionnement n'est pas ouvert. Ces **crèmes stérilisées** n'ont évidemment pas droit à l'appellation "crème fraîche".

• Pour obtenir **une crème fraîche épaisse**, après pasteurisation, la crème estensemencée avec des ferments, microorganismes sélectionnés de type *Lactococcus*, *Streptococcus* ou *Leuconostoc*. Cette étape de maturation dure entre 16 et 20 heures et s'effectue entre 12 et 23°C. L'action des ferments épaissit la crème, augmente légèrement son acidité et agit sur son goût.

• **La crème liquide** est tout simplement réfrigérée et stockée en chambre froide. Les modalités de stockage et de conservation (durée et température) sont bien encadrées (la température doit toujours se situer en dessous de 6°C et la date limite de consommation est courte pour que le produit garde toute sa fraîcheur). La crème fraîche est un produit laitier frais soit une crème qui n'a pas fermenté (**Cathy et Valentine, 2011**).

Tableau 6 : Les différents types de crème et leurs dates limites de conservation

Appellations	Traitements	Conservations
Crème crue	Crème n'ayant subi aucun traitement	Utilisation la plus rapide
Crème fraîche pasteurisée épaisse (dite crème double)	Crème ayant subi la pasteurisation puis une maturation (ensemencée avec des ferments lactiques spécifiques)	30 jours max.
Crème pasteurisée liquide ou « fleurette »	Crème ayant subi une pasteurisation et qui n'a pas étéensemencée.	30 jours max.
Crème stérilisée liquide	Crème stérilisée à 115°C pendant 15 à 20 secondes	8 mois max. économat
Crème UHT liquide	Crème stérilisée à 150°C pendant 2 secondes	4 mois max. économat
Crème légère	Crème utilisée en cuisine minceur qui contient entre 12 et 30% de matière grasse, pasteurisée ou stérilisée	30 jours à 4 mois

La température de conservation préconisée pour les crèmes pasteurisées se situe entre 0°C et 8°C tandis qu'on utilise pour les crèmes stérilisés des conditionnements variés en briques (avec des contenances de 0,2L, 0,25L et 1L), dans des pots aseptiques (de contenance variantes de 0,1 à 1L), et des fois en seaux (de 5L).

- **La crème Fouettée :** La crème fouettée est une crème fraîche battue jusqu'à obtention d'une mousse. Pour qu'elle prenne facilement, il faut l'entreposer au réfrigérateur au moins une heure avant utilisation.

1-7-3-1)-Fabrication des crèmes de consommation

Les crèmes de consommation se distinguent en fonction :

- de leur richesse en matière grasse : de 15 % pour les allégées et jusqu'à plus de 35 % pour la crème d'appellation d'origine contrôlée AOC d'Isigny ;
- du traitement de stabilisation thermique qui leur a été appliqué : pasteurisation, stérilisation, stérilisation UHT, congélation, surgélation ;
- des fonctionnalités attendues par l'utilisateur qu'est le consommateur : liquide, épaisse, sucrée, aromatisée, à fouetter, conditionnée en bombe (emballage métallique sous pression)...

Par conséquent, elles font appel à différentes opérations et traitements a fin d'atteindre les objectifs fixés (figure 2).

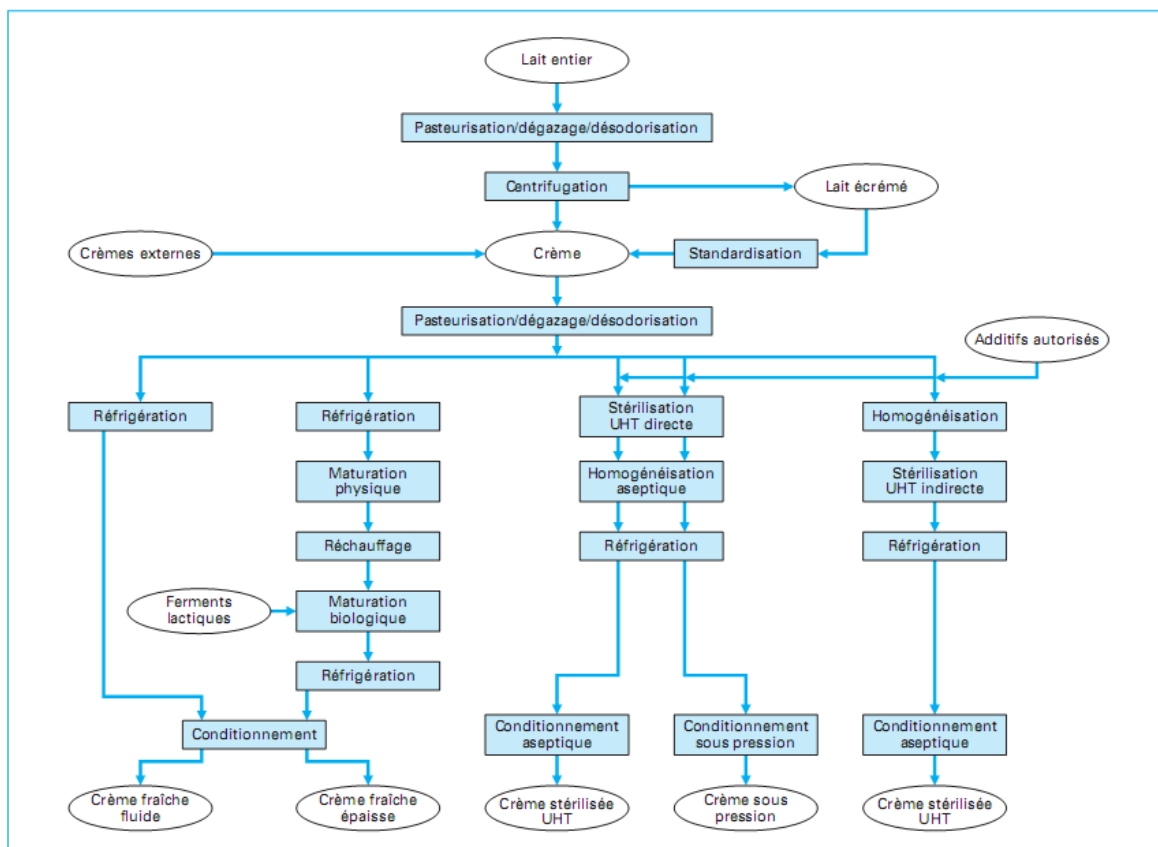


Figure 8 : Principaux process de fabrication des crèmes de consommation (Jean-Luc BOUTONNIER, 2007).

1-7-4)-La crème : une source de micronutriments

Comme le montre le tableau 1 ci-contre, la crème apporte une variété de minéraux et de vitamines, en particulier de la vitamine A. La consommation de 30g d’une crème fraîche épaisse(qu’elle soit légère avec 12-20% MG ou à plus de 30% MG)couvre 8 à 12% des apports nutritionnels conseillés pour un enfant (de 7 à 9 ans) ou pour un adulte(Cathy et Valentine, 2011).

Tableau 7 : Apports nutritionnels d’une crème fraîche épaisse.

COUVERTURE DES APPORTS NUTRITIONNELS CONSEILLÉS (ANC) PAR 30g DE CRÈME FRAÎCHE ÉPAISSE³

TABLEAU 1 (Source : Table Ciquai 2008)

	Apport pour 30g de crème fraîche (équivalent d'une cuillère à soupe)		% ANC d'un homme 18-65 ans	
	30% MG ou plus	12-20% MG	30% MG ou plus	12-20% MG
Calcium	28,4 mg	30,9 mg	3%	3%
Phosphore	27,0 mg	22,2 mg	4%	3%
Iode	3,3 µg	3,2 µg	2%	2%
Vitamine A	62,2 µg ER*	62 µg ER*	8%	8%
Vitamine B2	0,05 mg	0,1 mg	3%	4%
Vitamine E	0,2 mg	0,1 mg	2%	1%

ER = équivalent rétinol

	% ANC d'une femme 18-55 ans		% ANC d'un enfant de 7 à 9 ans	
	30% MG ou plus	12-20% MG	30% MG ou plus	12-20% MG
Calcium	3%	3%	3%	3%
Phosphore	4%	3%	5%	4%
Iode	2%	2%	3%	3%
Vitamine A	10%	10%	12%	12%
Vitamine B2	3%	5%	4%	5%
Vitamine E	2%	1%	2%	1%

³ 30g de crème fraîche épaisse correspondent à une cuillère à soupe bombée

1-7-5)-La crème : une matière grasse à mettre en valeur

Sa richesse en eau, son apport énergétique modéré et sa contribution aux apports en vitamine A font de la crème une matière grasse très intéressante sur le plan nutritionnel. Une qualité qui se cumule avec son intérêt gustatif et culinaire. La crème fraîche devrait occuper une plus grande place dans nos habitudes alimentaires quotidiennes (**Cathy et Valentine, 2011**).

1-7-6)-Réglementation**1-7-6-1)-Diversité des taux de matières grasses**

En France, la dénomination « crème » est réservée au produit résultant de l'écémage du lait entier contenant au moins 30g de matière grasse pour 100g. Les produits issus de l'écémage du lait contenant au moins 12g de matière grasse pour 100g ont droit à l'appellation « crème légère». Le taux exact de matière grasse doit être précisé sur l'emballage.

Il existe sur le marché des produits avec des teneurs en matière grasse plus faibles que la crème légère. Ces produits ne peuvent pas être appelés crème» (**Cathy et Valentine, 2011**).

1-7-6-2)-Traitements thermiques appliqués

Les mentions « **crème fraîche** » ou « **crème légère fraîche** » s'appliquent à des crèmes n'ayant subi qu'une pasteurisation et conditionnées sur le lieu de production dans les 24 heures suivant celle-ci.

Remarque : lorsque la crème a subi une stérilisation de type UHT, elle ne peut plus être qualifiée de « fraîche » (**Cathy et Valentine, 2011**).

1)-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; Hylckama Vliega et Hugenholtz van, 2007; Pfeiler et Klaenhammer, 2007; Wildman, 2007; Salminen et al., 2004). 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; Makarova et al., 2006; Badis et al., 2005; Parente et Cogan, 2004).

Les adjonctions de ferments sont des cultures choisies pour des buts autres que la formation d'acide, qui est une tâche exclusivement réservée aux cultures starters primaires (Carminati, 2010; Robinson, 2002). Les adjonctions de ferments peuvent être employées en tant que cultures de maturation (i.e. pour accélérer la maturation ou produire des saveurs souhaitables), ou elles peuvent également contribuer à la sûreté microbienne ou pour offrir d'autres effets bénéfiques pour la santé. La forme non-starter des ferments est largement utilisée au cours de la maturation de la plupart des variétés de fromages pendant la maturation des fromages (Carminati, 2010; Mozziet al., 2010; Yıldız, 2010; Chamba et Irlinger, 2004; Robinson, 2002).

1-1)- Définition

Un ferment lactique 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; Leroy et De Vuyst, 2004). 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 et Giudici, 2009; Chamba, 2008; Makarova et al., 2006; Parente et Cogan, 2004).

1-2)- Taxonomie des micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière**1-2-1)- Levures**

Les levures sont des micro-organismes largement utilisés aux procédés de production de produits laitiers notamment les fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, fromages à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées). Et pour la production de certains laits fermentés (**Candida kéfir, Torulopsis kéfir**). Les levures interviennent essentiellement par production d'éthanol (**Branger, 2012**).

1-2-2)- Moisissures

Les moisissures sont utilisées également pour la production d'une large gamme de fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées) (**Ray et Bhljnia, 2008; Baduel, 2002; Robinson, 2002**). Les espèces les plus couramment utilisés sont *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti* (**Branger, 2012**).

1-2-3)- Bactéries

Les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière sont restreints à cinq genres principaux (voir Tableau 8): *Lactococcus lactis ssp. lactis et cremoris*; *Streptococcus thermophilus*; *Leuconostoc espèces lactis, mesenteroides ssp. (cremoris et dextranium) et pseudomesenteroides*; *Enterococcus faecalis et faecium*; et plusieurs espèces de *Lactobacillus*, notamment, *delbruekii ssp. bulgaricus, casei, brevis, helveticus, rhamnosus, acidophilus, fermentum, curvatus, johnsonii, et gasseri* (**Shetty et al., 2006**).

Tableau 8: Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière (Robinson, 2002 ; Ray et Bhljnia, 2008).

	Microflore traditionnelle	Espèces bactériennes incorporées aux ferments lactiques
Genres	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Lactococcus</i> - <i>Leuconostoc</i> - <i>Pediococcus</i> - <i>Streptococcus</i> - <i>Lactobacillus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bifidobacterium</i> - <i>Enterococcus</i> - <i>Propionibacterium</i> - <i>Brevibacterium</i> - Levures - Moisissures

Le genre dominant dans la crème fraîche c'est les Lactocoques :

1-2-3-1)- Les lactocoques : taxonomie et caractéristiques générales

Ce sont des microorganismes mésophiles, à Gram positif, sans activité catalase, non mobiles et se présentant sous forme de coques disposés en paires ou en chaînettes. Leur métabolisme est homofermentaire, de l'acide lactique (L+) étant produit par la voie des hexoses. Le genre *Lactococcus* comprend 6 espèces : *L. garviae*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* et *L.lactis*, *L.chungangens*. Cette dernière espèce est divisée en trois sous-espèces : *L.lactis subsp. lactis*, *L .lactis subsp. cremoris* et *L .lactis subsp. Hordniae* (TORMO, 2010).

Le lait est un habitat privilégié des lactocoques (Dellaglio et al., 1994 ; Corroler et al., 1999). Les lactocoques se retrouvent fréquemment dans les laits crus à des niveaux pouvant varier de 10 à 10 000 ufc.ml-1, selon les études et les espèces laitières. Les niveaux sont supérieurs dans les laits de chèvre et de brebis, comparés au lait de vache (Desmasures et al., 1997a ;1997b., Michel et al., 2001 ; Tormo et al., 2006 ; Casalta et al., 2009 ; Mallet et al., 2010). Il est toutefois difficile de comparer les niveaux des lactocoques mentionnés dans les études car les méthodes de dénombrement différent souvent. Parmi les lactocoques, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus étudiée et la plus fréquemment détectée dans les laits crus (Corroler et al., 1998 ; Dalmaso et al., 2008).

Les lactocoques transforment le lactose en acide lactique. Ceci permet l'acidification du lait et contribue à la formation du caillé. Ces bactéries possèdent par ailleurs des protéases.

Selon (**Jeanson, 2000**), 2 types de protéases agissant sur les caséines (protéines impliquées dans la coagulation du lait) sont synthétisées :

- Type I : protéolyse de la caséine β ,
- Type II : protéolyse des caséines β , α_1 et κ .

Les lactocoques contribuent ainsi à la protéolyse primaire des fromages. Cette action est mineure, la protéolyse primaire étant principalement réalisée par les enzymes natives du lait ou celles de la présure (**Grappin et al., 1985**). D'autre part, l'autolyse précoce des lactocoques permet la libération d'autres enzymes intracellulaires telles que des protéinases, des peptidases, des lipases ou des estérases. Ces mécanismes d'autolyse dépendent des souches de lactocoques. De nombreuses études ont montré l'impact considérable de ces enzymes sur le développement de la texture et de l'arôme des fromages pendant l'affinage (**Carunchia Whetsine et al., 2006 ; Garde et al., 2006 ; Gutierrez-Mendez et al., 2007**).

L. lactis subsp. *Lactis*, subsp. *Cremoris* et biovar. *diacetylactis*, sont les trois bactéries les plus fréquemment citées pour leurs rôles majeurs différents, respectivement pour l'aptitude acidifiante (**Casalta et al., 1995, Lafarge et al., 2004**) et pour leur implication dans la formation du goût et de l'arôme pour les 2 dernières (**Corroler et al., 1999**).

1-2-3-2)- Ferments lactiques

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryote, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**Leveau et bouix, 1986**).

Les bactéries lactiques à gram+, généralement immobiles, jamais sporulées,

Anaérobies facultatives (**Leveau et Bouix, 1993**).

Par leur métabolisme et leur activité enzymatique variée, elles déterminent dans une large mesure l'arôme, la saveur et la texture de ces produits. Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la conservation et l'innocuité des dérivés laitiers, elles agissent même sur la

digestion en assurant une amélioration de l'équilibre microbiologique intestinal (**hassainya et al., 2006**).

Elles ne se développent pas en dessous de 8 à 10°C : la réfrigération bloque donc leur multiplication .elles sont détruites par la pasteurisation (**Anonyme, 2009**).

Le type des ferments lactiques utilisés est les ferments Mésophiles.

Ces ferments se présentent sous forme liquide, congelée ou lyophilisée (**Eck et Gillis, 1997**).

Il existe, en principe, deux méthodes d'ensemencement possibles qui sont très Largement employées dans l'industrie fromagère, d'après (**Hermier et al., 1992**):

L'ensemencement semi-direct : on utilise des levains ou lyophilisées ensemencés dans une cuve pour obtenir une culture régulière avec un nombre de cellules sensiblement plus grand que l'inoculum initial. Le PH doit être surveillé pour éviter un excès d'acide lactique qui va inhiber la croissance des levains, ce qui nécessiterait une neutralisation de l'acidité.

1-3)- Rôle des ferments

La pasteurisation du lait réduit fortement la microflore indigène, le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini (**Carminati et al., 2010; Mozzi et al., 2010; Saithong et al., 2010; Hylckama Vliega et Hugenholtzb van, 2007**). Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté (**Yildiz, 2010**). L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (**Hylckama et Hugenholtzb, 2007**). Les ferments sont utilisés en raison de leur capacité de production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, ils possèdent d'autres fonctions importantes comme l'inhibition des micro-organismes indésirables, l'amélioration des propriétés sensorielles et rhéologiques, en plus de leurs bienfaits prouvés pour la santé.

Etant donné que les ferments commerciaux comportent des souches choisies d'espèces prédéfinies ayant des propriétés métaboliques connues, l'introduction de ces ferments a significativement amélioré la qualité commerciale et hygiénique des produits laitiers fermentés et a contribué à l'harmonisation des normes de qualité (**Parente et Cogan, 2004**).

1-4)-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 et 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:

1-4-1)- 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**).

1-4-2)- 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; Marth et Steele, 2001**). Le ferment concentré est directement introduit dans la cuve, ce qui évite la contrainte de la propagation sur place. 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 : (1) les ferments purs, constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, (2) les ferments mixtes, dont la composition est partiellement ou non déterminée et (3) les ferments mixtes sélectionnés, qui contiennent plusieurs souches bien définies issues d'une ou de plusieurs espèces (**Carminati et al., 2010; Corrieu et Luquet, 2008; Robinson, 2002**).

- **Cultures pures:** Plusieurs ferments lactiques disponibles sur le marché sont composés d'une seule souche pure lyophilisée, il s'agit des cultures starters pures (**Leroy et De Vuyst, 2004; Parente et Cogan, 2004**).

- **Cultures à variétés mélangées partiellement ou non définies:** Pour beaucoup de fromages, les ferments artisanaux ont été remplacés par les ferments à variétés mélangées commerciales (Mixed Strain Starters, MSS). Ces préparations sont dérivées des meilleures cultures naturelles et produites dans des conditions contrôlées par des entreprises spécialisées (**Robinson, 2002**).

Bien que la composition des MSS soit non définie, leur production sous des conditions plus contrôlées réduit la variabilité intrinsèque liée à l'utilisation des ferments artisanaux (**Solieri et Giudici, 2009; Parente et Cogan, 2004; Limsowtin et al., 1996**).

1-5)- Technologie de production des ferments commerciaux

La production industrielle des ferments lactiques est généralement réalisée en cultures pures, discontinues ou continues, avec ou sans recyclage des cellules, à température et pH régulés et en anaérobiose. La fermentation est suivie des étapes de concentration (refroidissement, concentration par centrifugation ou ultrafiltration), de protection et de stabilisation (congélation ou lyophilisation). La conservation des ferments s'effectue à basse température, respectivement -45 °C pour les ferments congelés et 4°C pour les bactéries lyophilisées. Les bactéries sont ensuite utilisées en mélange, après décongélation ou réhydratation, pour la fabrication des produits fermentés. L'objectif visé par le producteur de ferments est d'obtenir des ferments lactiques concentrés d'une haute qualité, c'est à dire comportant un grand nombre de bactéries viables et présentant une activité métabolique la plus élevée possible. Cette problématique est complexe, du fait des caractéristiques génétiques et physiologiques variables des micro-organismes considérés, mais aussi des conditions de conduite des procédés (**Corrieu et Luquet, 2008**).

1-5-1)- Modes d'ensemencement

Traditionnellement, les ferments lactiques étaient fabriqués dans l'usine dans laquelle ils étaient ensuite utilisés. Ils étaient conservés sur milieux solides, ou liquides, soit à 4 °C, soit sous forme congelée. Avant leur utilisation, ils étaient propagés sur un milieu nutritif, en plusieurs précultures successives, pour atteindre le volume nécessaire à l'ensemencement des cuves de fabrication (Figure 9). Actuellement, ces précultures subsistent chez certains producteurs notamment en fromagerie, malgré des inconvénients liés à leur lourdeur de mise en œuvre, leur répétabilité incertaine et les difficultés de maintien de l'hygiène au sein de l'unité de production (sensibilité aux infections phagiques) (**Corrieu et Luquet, 2008**).

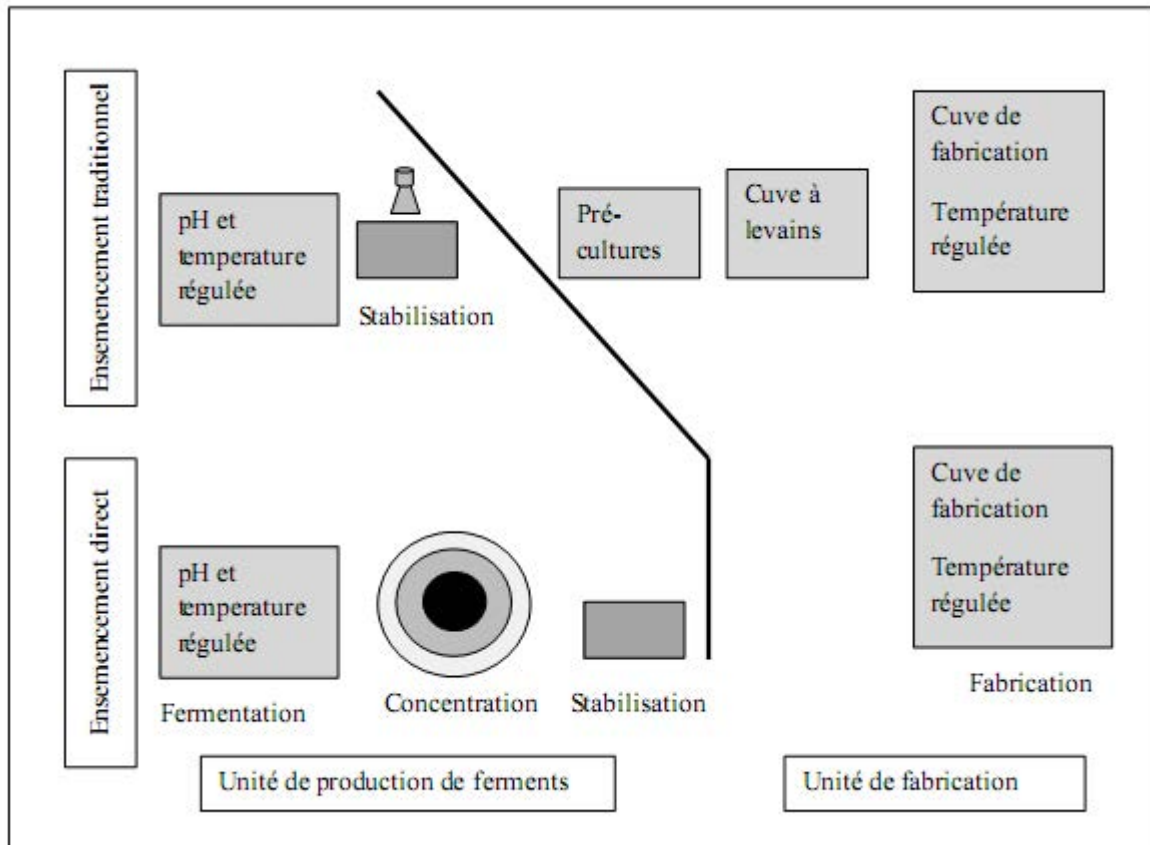


Figure 9 : Modes d'ensemencement traditionnel et direct : principales étapes de mise en œuvre par le producteur de ferments et par l'utilisateur (Corrieu et Luquet, 2008).

1-5-2)- Diagramme général de production

La production industrielle des ferments lactiques concentrés se déroule selon les étapes illustrées dans la Figure 10 :

1. Préparation du milieu de culture: la préparation des milieux fait intervenir en premier lieu un choix raisonné des matières premières, en fonction des besoins des micro-organismes, du coût des constituants et du savoir-faire du producteur;

2. Traitement thermique : le milieu de culture constitué doit être traité thermiquement afin de le débarrasser des micro-organismes contaminants, puis refroidi à la température de fermentation.

Son pH est ajusté à la valeur optimale pour la bactérie à cultiver ;

3. Inoculation ou Ensemencement: l'inoculum est constitué soit d'une préculture préalablement incubée, soit de bactéries congelées ou lyophilisées qui sont ajoutées directement dans le fermenteur. Quand les bactéries lactiques sont isolées pour être développées comme ferments, elles doivent démontrer une aptitude à être produites à grande échelle, pour résister au processus de lyophilisation et pour maintenir leur activité fonctionnelle (**Edward et al., 2010; Schwab et al., 2007**). La majorité des productions de ferments est effectuée en cultures pures, même si les cultures mixtes peuvent présenter un intérêt ;

4. Fermentation: la fermentation est généralement conduite en discontinu, dans des conditions contrôlées de température et de pH et sous une faible agitation. Une anaérobiose partielle ou totale peut être maintenue ;

5. Concentration et récolte: une étape de récolte et de concentration suit la phase de propagation des bactéries. Elle permet d'éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans les milieux de culture et d'aboutir à une concentration cellulaire élevée. Elle est réalisée par centrifugation ou filtration tangentielle (**Luquet et Corrieu, 2008; Salminen et al., 2004**) ;

6. Conditionnement: la concentration des cellules est suivie de l'addition de molécules de protection, dont le rôle est d'aider les cellules à survivre et à se maintenir dans un état physiologique actif, à l'issue des étapes de stabilisation et de stockage ultérieures ;

7. Stabilisation: la stabilisation des bactéries concentrées protégées est réalisée soit par congélation, soit par lyophilisation. Les conditions de réalisation de ces opérations sont définies de façon à limiter les dommages cellulaires qu'elles entraînent ;

8. Conditionnement final: le conditionnement final des concentrés bactériens intervient soit avant, soit après l'étape de stabilisation, en fonction des conditions dans lesquelles, celle-ci est réalisée. Il peut être précédé d'une étape de mélange de plusieurs souches ;

9. Stockage: le stockage des ferments concentrés stabilisés est réalisé à température contrôlée, pendant une durée au moins égale à trois mois, selon les spécifications du producteur (**Corrieu et Luquet, 2008; Salminen et al., 2004**).

Ces différentes étapes sont conduites, chez les producteurs industriels, avec un triple souci:

- Atteindre de fortes concentrations bactériennes en fin de culture afin d'accroître les productivités ;
- Accéder à une qualité (viabilité et propriétés technologiques) des produits suffisamment grands pour répondre aux exigences des utilisateurs ;
- Travailler dans des conditions de reproductibilité élevée afin de sécuriser les procédés et les conditions de travail des personnels (Corrieu et Luquet, 2008; Salminen et al., 2004).

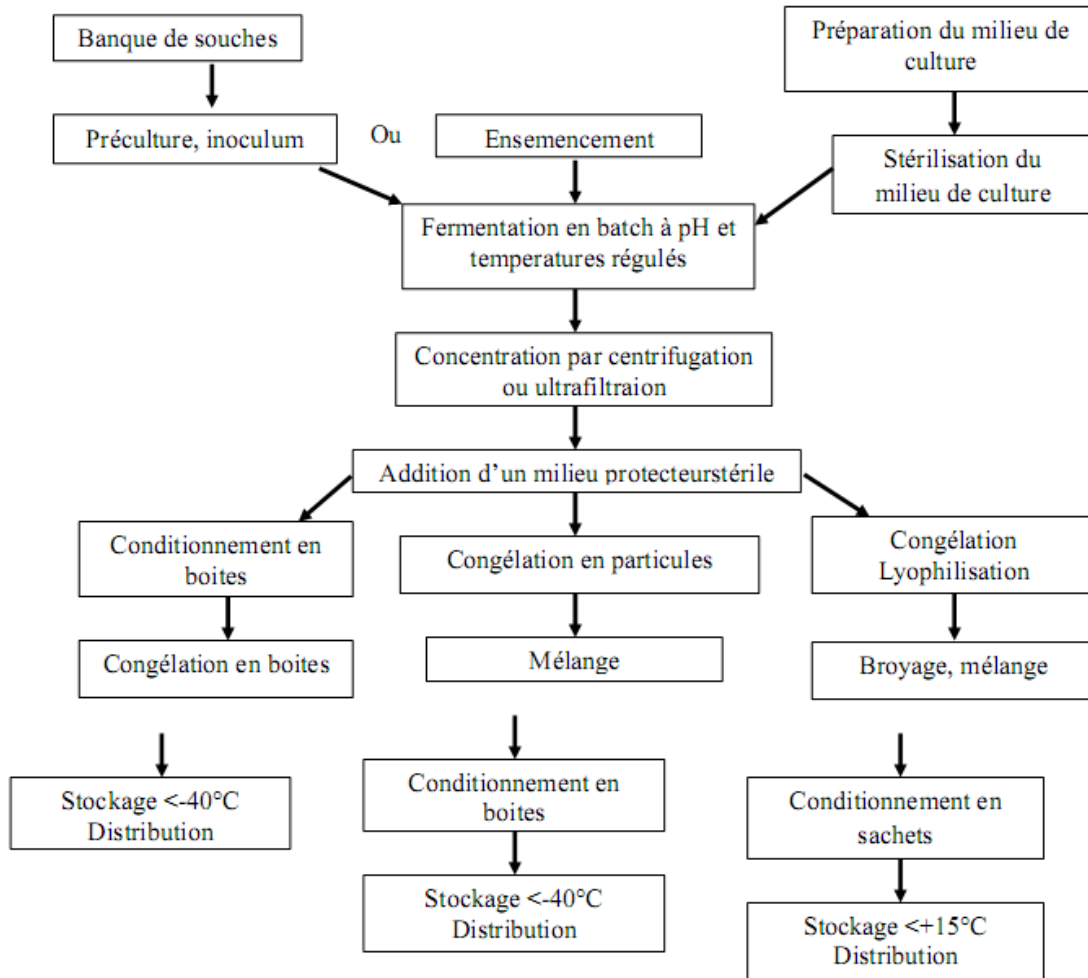


Figure 10 : Diagramme de production de ferments lactiques concentrés congelés ou lyophilisés (Corrieu et Luquet, 2008).

1-5-3)-Conservation des ferments

La commercialisation des ferments concentrés nécessite leur stabilisation préalable par congélation, soit par lyophilisation. Cette stabilisation permet de les conserver à la

température préconisée, pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois. Les cultures concentrées congelées doivent être stockées à une température inférieure à $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis décongelées, soit avant l'ensemencement, soit directement lors de fabrication (**Corrieu et Luquet, 2008**).

Les deux formes commerciales présentent chacune des avantages et des inconvénients. Les coûts de fabrication des ferments congelés sont inférieurs à ceux des ferments lyophilisés. En effet, ces derniers associent, à l'étape de congélation préalable, une étape de déshydratation sous vide, longue et coûteuse tant en équipement qu'en fonctionnement. En outre, la reprise d'activité des ferments congelés est généralement plus rapide, bien que ce critère soit très dépendant des souches et des conditions mises en œuvre lors de leur conservation (**Salminen et al., 2004**).

1-5-4)- Fonctionnalités technologiques

Les fonctionnalités technologiques des ferments lactiques relèvent les propriétés suivantes :

- **Activité acidifiante** : il s'agit, pour un ferment donné, de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Ce niveau d'acidité finale dépend des spécificités du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches ;
- **Métabolisme des sucres** : le choix d'un ferment est conditionné par son aptitude à produire, soit de l'acide lactique presque exclusivement (métabolisme homofermentaire), soit de l'acide lactique et d'autres produits finaux tels que l'éthanol et le CO_2 (métabolisme hétérofermentaire) ;
- **Propriétés protéolytiques et peptidasiques**: les bactéries démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée ;
- **Propriétés lipolytiques** : généralement faibles chez les bactéries lactiques, elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères ;
- **Activité gazogène** : certains ferments lactiques sont capables de produire du CO_2 à partir d'une source de carbone, participant ainsi à la formation d'ouvertures dans les fromages ;

- Production de composés d'arômes : cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurres, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne ;
- Production de polysaccharides exocellulaires : il s'agit de sélectionner des ferments capables de produire, en quantité et en qualité, des exopolysaccharides qui vont accroître la viscosité du produit (cas des yaourts brassés par exemple) ;
- Activité antimicrobienne : certains ferments sont capables de produire des bactériocines ou d'autres inhibiteurs de micro-organismes indésirables. Ces molécules sont particulièrement intéressantes pour l'élaboration de produits à partir de lait cru, donc susceptibles de contenir des micro-organismes indésirables, voire pathogènes ;
- Post-acidification : le choix de souches faiblement post-acidifiantes permet, lors de la fabrication des laits fermentés, de limiter les phénomènes d'acidification qui peuvent intervenir lors de leur stockage à basse température (4 à 6°C), modifiant ainsi leur qualité organoleptique. La sélection d'un ferment fait généralement appel à plusieurs de ces propriétés simultanément (**Corrieu et Luquet, 2008**).

1-6)- Utilisation industrielle des ferments lactiques

Les ferments lactiques ont été produits pour la première fois sous forme concentrée et congelée au cours des années 1965-1970, et commercialisés, sur le marché américain par les compagnies Boll-Hansen et Marshall-Miles (**MARUEJOULS et CAIGNIET, 1983**), permettant ainsi l'ensemencement semi-directe ou directe des cuves de fabrication. Ce type de ferment a commencé à être produit, en France à partir de 1978 par les sociétés BOLL-HANSEN et EUROZYME (**MARUEJOULS et CAIGNIET, 1983**).

L'utilisation industrielle des ferments lactiques se faisait autrefois grâce à la technique du « pied de cuve », où une partie du produit fermenté était conservée pour ensemer les fermentations suivantes. La nécessité d'un contrôle plus précis du procédé de fabrication et de la qualité finale du produit, ajoutée à une meilleure connaissance des propriétés technologiques des souches, a permis de développer, à partir des années 1920, la méthode d'ensemencement par précultures (**LEJARD et al., 1994**). A partir d'un échantillon liquide et en respectant les étapes successives de propagation, le ferment est multiplié jusqu'au volume

nécessaire pour l'inoculation du produit. Cette méthode a permis une amélioration significative dans la conduite du procédé et la standardisation du produit final, par comparaison à la méthode du pied de cuve. Par contre, elle présente des inconvénients, concernant le risque de contamination des cultures et de mutation des souches. De plus, son coût est élevé, car elle nécessite un personnel spécialisé ainsi que des installations permettant de faire le « scale up » des précultures (**BEAL et al., 2008 ; SMITH, 2001 ; TAMIME et ROBINSON, 1999**). De plus, selon (**TAMIME et ROBINSON, 1999**), cette méthode n'est pas appropriée dans le cas d'utilisation de cultures mixtes, car le maintien des proportions est difficile à conserver. Actuellement, les producteurs de ferments font appel à leur concentration.

1-6-1)- Avantages de l'utilisation des ferments concentrés

Les avantages de l'utilisation des ferments concentrés se résument ainsi :

- simplicité de leur utilisation ;
- amélioration du contrôle de la fabrication ;
- obtention de produits plus réguliers, due à la standardisation des cinétiques d'acidification, la régularité et la reproductibilité des productions ;
- limitation des risques de contamination et des infections phagiques ;
- flexibilité de l'organisation de la fabrication ;
- réduction et meilleure maîtrise des coûts de production ;
- possibilité de réalisation de mélanges précis entre les souches (**MAYRA-MAKIEN et BIGRET, 1998 ; BEAL et al., 2008**).

1-6-2)-Problèmes liés à l'utilisation des ferments lactiques

Le nombre limité de souches disponibles ayant une haute performance technologique et le risque constant des attaques de bactériophages justifient le besoin continu de rechercher des

nouvelles souches pour diversifier la gamme des produits laitiers (**Parente et Cogan, 2004**). L'utilisation des ferments industriels a réduit la diversité des produits laitiers fermentés. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que la disponibilité commerciale de nouveaux ferments intéressants est limitée.

Actuellement, des efforts sont fournis pour rechercher des nouveaux micro-organismes à partir de lait cru, des cultures non définies, ou des fromages traditionnels, qui démontreraient du potentiel pour être utilisés comme ferments (**Mozzi et al., 2010; Yıldız, 2010**).

1. Objectif de l'étude

Notre travail consiste à isoler et identifier des bactéries lactiques à partir d'un produit frais dérivé du lait la crème fraîche crue.

2. Matériel

2.1. Origine de l'échantillon

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

La crème fraîche crue a été choisie comme un produit dérivé du lait frais faisant objet pour l'isolement des bactéries lactiques. Un échantillon a été prélevé aseptiquement dans un récipient de la SARL HODNA LAIT M'SILA et conservé à basse température jusqu'à la mise en œuvre des analyses expérimentales au laboratoire qui ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA).

2.2. Milieu de culture

Durant notre travail, nous avons utilisé les milieux de cultures favorables à la croissance des bactéries lactiques ; en prenant en considération les exigences nutritionnelles de ces dernières. Les milieux de cultures utilisés sont :

- 1- Le milieu MRS.
- 2- Le milieu M17.
- 3- Le milieu PCALait.
- 4- Le milieu PCA.
- 5- La peptone saline.

La composition des milieux est présentée en annexe I et II.

3. Méthodes

3.1. Isolement et purification des bactéries lactiques

3.1.1. Préparation des dilutions décimales

La solution mère a été préparée en réalisant à partir de crème fraîche une dilution primaire à l'aide d'une solution de citrate de sodium à 2% pour permettre une émulsion complète du gras puis en réalisant une dilution au dixième à l'aide d'une solution de peptone saline (annexe II). à partir de cette solution mère des dilutions décimales adaptées à l'échantillon ont été réalisées.

3.1.2. Isolement et purification des isolats

Des aliquotes de 100µl sont prélevées et étalées à la surface sur milieux MRS, M17 et PCA lait préalablement coulés et solidifiés dans des boîtes de pétri. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 24h à 48h en condition d'anaérobiose dans l'étuve.

Après 48h d'incubation, une croissance apparue des colonies dispersées. La purification des colonies bactériennes est faite par les techniques de repiquages successifs (prendre à chaque fois une seule colonie pour l'ensemencer dans le milieu PCA). Le but est de vérifier la pureté de nos souches. L'étude macroscopique et microscopique est nécessaire pour réussir cette étape.

3.2. Analyse préliminaire des isolats (pré identification)

Le pré-identification comporte des tests rapides permettant l'orientation de l'identification. Le pré-identification est fait par une étude morphologique des bactéries lactiques sur les plans d'ordre microscopique et macroscopique avec une recherche de la catalase.

3.2.1. L'aspect macroscopique

Cette caractérisation est basée sur l'observation macroscopique des colonies dans le but de déterminer la forme, le contour, le diamètre, la couleur, la texture des colonies.

3.2.2. Recherche de la catalase

Pour mettre en évidence l'activité de la catalase, on a émulsionné sur une lame une colonie de culture bactérienne dans 1 goutte d'eau oxygénée, ce dernier ne peut être dégradé que par une catalase microbienne selon la réaction suivante :



La présence de l'enzyme catalase se traduit par une effervescence qui indique le dégagement abondant des bulles gazeuses, ce qui signifie que la bactérie est catalase positive (**Marshall et al., 1982**). Les bactéries lactiques sont catalase négatives.

3.2.3. L'aspect microscopique

Les bactéries lactiques Gram positive présentent une enveloppe colorée en violet, par contre chez les Gram négatives l'enveloppe est colorée en rose.

3.2.4. Dénombrement de la flore totale (FTAM)

A partir des dilutions décimales allant de 10⁻³ à 10⁻⁶, on a porté aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

On a complété ensuite avec 12 à 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45 °C ± 1. Ensuite on a œuvré par des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. On a laissé solidifier sur la

paillasse, puis on a rajouté une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose, cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Puis Les boîtes seront incubées à 30 °C pendant 48 h.

Après 48h on a établi la lecture des boites dont Les colonies des FAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

3.3. Caractérisation biochimique des isolats obtenus

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basée sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Toutes les techniques d'identification ont été décrites par **Larparent (1997)** et **Gusils et al. (2010)**.

3.3.1. Nitrate réductase

Nous avons ensemencé les 26 isolats dans du bouillon nitraté à raison de 1%. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, nous avons ajouté quelque goutte de NR1 et de NR2. Après 10min si une couleur rouge apparait, ceci signifie un nitrate réductase positive. Si le contraire ; une couleur rouge persistante est observée après ajout de la poudre de zinc.

3.3.2. Culture à 45°C

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles. Après ensemencement sur milieu PCA lait par les cultures pures, les boîtes sont incubées pendant 24h à 48h à 45°C, au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux. Seules les bactéries thermophiles qui peuvent pousser à cette température.

3.3.3. Test de type fermentaire

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homofermentaires de celles hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO₂). Pour ce faire, on a suivi deux méthodes :

- Par inoculation du bouillon MRS par les cultures pures contenant des cloche de Durham puis les incubées pendant 24h à 30°C.
- Par le milieu Gibson-Abdelmalek qui est préalablement fondu, refroidi et solidifié à été ensemencé par les cultures pures aussi par piqûre centrale, en condition d'anaérobiose (par une couche de paraffine). L'incubation est faite à 30°C pendant 7 jours.

3.3.4. Croissance sur le lait de Sherman

Ce test indique l'aptitude des bactéries à se développer en présence du 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% et à 0.3%.

Après une incubation à 30°C pendant 24h à 48h, on note les observations relatives à la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait. Les lactocoques réduisent le bleu de méthylène avec coagulation.

3.3.5. Croissance en présence de 6,5% de NaCl

Les souches sontensemencées dans un bouillon de Naylor et Sharpe qui contient une concentration de 6,5% (P/V) de NaCl à l'aide d'une micropipette à raison de 100µl. L'incubation se fait à 30°C pendant 24h.

3.3.6. Production d'acétoïne

Ce test se fait par ensemencement des cultures pures dans le milieu Clark et Lubs à l'aide d'une micropipette à raison de 100µl et les incubées pendant 24h à 30°C, 2 gouttes des deux réactifs VPI et VPII ont été ajoutés à chaque tube positive (trouble), suivi d'une agitation intense. Après un délai de 10 minutes, une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol. Cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude (VPII) et se combine avec l' α -naphthol (VPI) en donnant un complexe rouge.

3.4. Etude des aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées

3.4.1. Pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité acidifiante 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'acidité totale par la soude.

On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 100 ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V /100V). après incubation à 30°C, à un intervalle du temps 0h, 2h, 6h, 8h et 24h ; 10ml du lait prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphthaléine, jusqu'au virage de couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (**Larpen, 1997**).

3.4.2. Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose MRS additionnée de lait écrémé à 10% 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 de 20µl d'une culture jeune. après une incubation à 30°C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques (**Veuillemard, 1986**).

3.4.3. Pouvoir lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur gélose aux triglycérides. Cette dernière a été coulée et solidifiée et des disques de papier Wattman stériles ont été déposés en surface de cette gélose, puis chaque disque reçoit 10µl d'une culture jeune. Après une incubation à 30°C

pendant deux jours, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des disques (Guiraud, 2003).

3.4.4. Pouvoir texturant

Détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosée et les souches à tester ont été ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosées déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C pendant 24h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies large et gluantes (Leveau et al., 1991).

3.5 Procédé de maturation de crème fraîche par les isolats purifiés

Pour la fabrication à échelle laboratoire de la crème fraîche maturée on a procédé comme suit :

On a Pasteurisé dans un bain marie la crème fraîche à 85°C pendant 30 secondes puis on a laissé refroidir à 30°C et on a ensemencé avec une culture mixte des Lactococcus isolés ayant un pouvoir acidifiant exemplaire (soit les 04 meilleurs isolats ayant des aptitudes technologiques contrôlées) ; Soit un ensemencement à raison de 1ml de culture mixte par 100 ml de crème fraîche, on a laissé maturé jusqu'à obtention d'une crème maturées texturante avec une acidité de 80°D (Un PH de 4,95 à 5,00).

Refroidir rapidement à 4°C pendant 8H et une appréciation a été faite par dégustation.

3.6. Conservation des souches isolées

Après l'identification et caractérisation des souches isolées on a essayé de conserver ces souches par la méthode :

- **Conservation à longue durée**

On a rempli les épaing d'orffes par 500µl de lait écrémé à 0% et 200 µl de bouillon MRS ensemencer par les souches isolées et 300µl de glycérol puis les agiter bien et après sont congelées à -20 °C et la culture peuvent conservée plusieurs mois.

Pré - identification des souches

Dans cette étude et en se basant sur de nombreuses données de la littérature (**Guiraud, 1988 ; Chammas et al., 2006 ; Bennama et al., 2012**), nous avons pris en considération la description macroscopique des isolats comme un test dans l'orientation de la pré-identification.

1-1-Etude macroscopique

A partir d'un échantillon de crème fraîche crue, trente-six souches ont été isolées et purifiées sur milieu PCALait et MRS gélosé, les colonies des isolats à catalase négative sont apparues de petite taille et de couleur jaune. Sur bouillon, les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques.

Les cultures obtenues sur boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (**Badis et al., 2006**). L'examen macroscopique des cultures sur milieux MRS et PCALait montre que toutes les colonies sont de couleur jaune et la plupart d'entre eux possèdent une taille petite jusqu'à très petites pour certaines.

Le résultat de l'examen macroscopique est illustré dans le tableau 09 suivant.

Tableau 09 : Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches

Code de la souche	Milieu d'isolement	Observation macroscopique
A	MRS 10-5 25°C	Jaune petite
A1	MRS 10-4 25°C	Jaune petite
A2	MRS 10-3 25°C	Jaune très petite
C	PCALait10-7 25°C	Jaune petite
C1	PCALait 10-8 25°C	Jaune petite
C2	PCALait 10-6 25°C	Jaune petite
C3	PCALait 10-5 25°C	Jaune petite
C4	PCALait 10-4 25°C	Jaune très petite
C5	PCALait 10-3 25°C	Jaune très petite

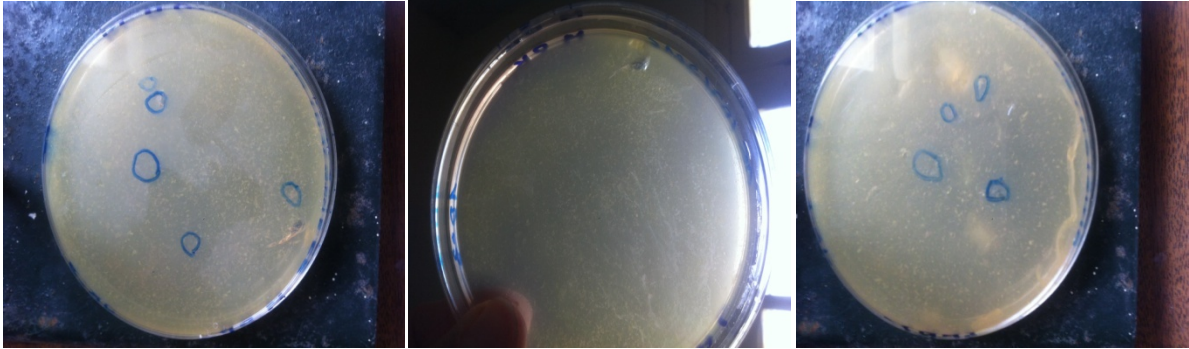


Figure 11 : aspect macroscopique des souches isolées sur milieu PCALait à 25C°.

1-2-Etude microscopique

Après la coloration de Gram, on est passé à l'observation microscopique au (Gx10), (Gx40) et (Gx100) avec l'huile à immersion, où on a pu observer que les bactéries étaient Gram positives et catalase négatif apparaissant généralement sous formes de Coques sauf une seule souche C1 qui apparaît comme étant de bacille, avec différents modes d'associations généralement en chaînette sous forme diplocoques ou bien isolées et ainsi en amas.

Le résultat de cet examen est résumé dans le tableau 10 ci-dessous.

Tableau 10 : résultats de test catalase et coloration de Gram et aspect Microscopique des souches.

Souche	Coloration de Gram	Catalase	Etat frais	
			Forme	Regroupement
A	+	-	Coque	diplocoques /amas
A1	+	-	Coque	Courte Chaînette/diplocoques
A2	+	-	Coque	diplocoques
C	+	-	Coque	Courte chaînes
C1	+	-	Bacille	En paires
C2	+	-	Coque	Courte chaînes
C3	+	-	Coque	Courte chaînes
C4	+	-	Coque	diplocoques
C5	+	-	Coque	Chaînette/diplocoques

+ : positif ; - : négatif.

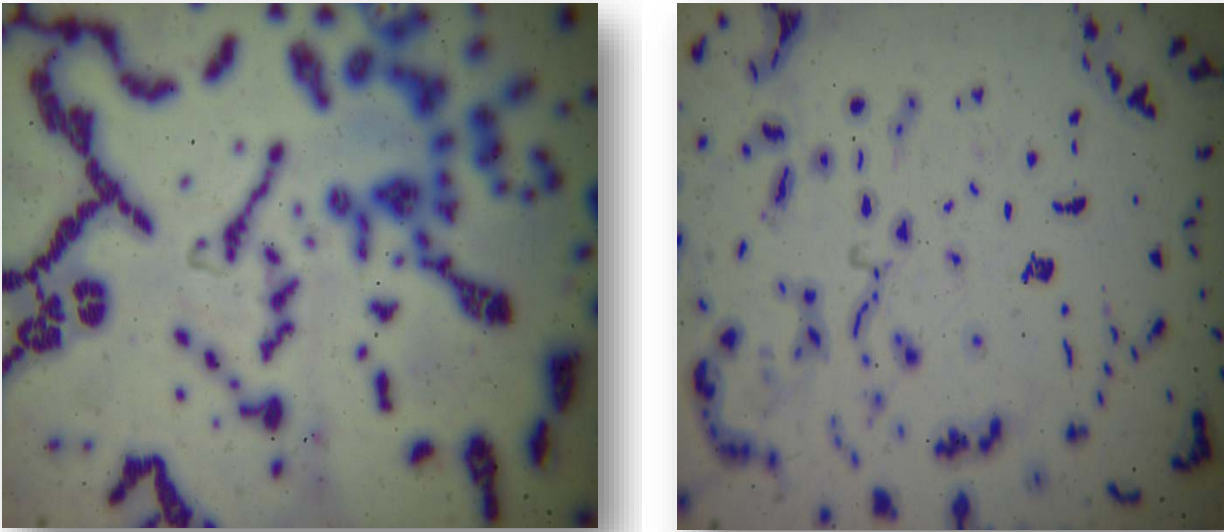
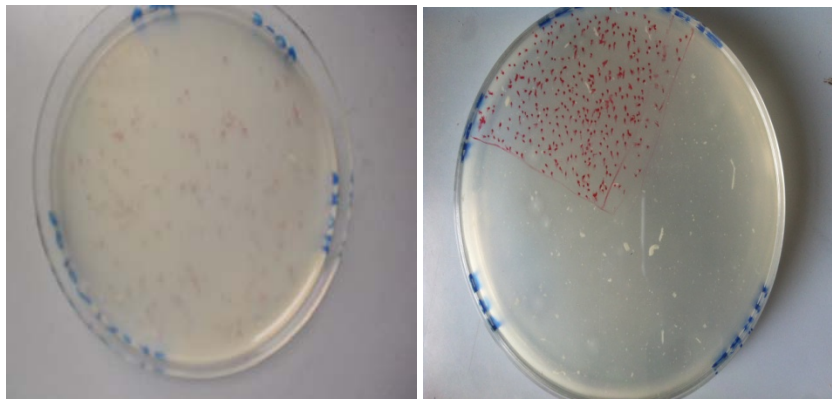


Figure 12 : observation microscopiques des souches des Lactocoques isolées après coloration de Gram (G×100).

1-3- Dénombrement de la flore totale (FTAM)

- En observant la figure 13 du dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C sur le milieu P.C.A, nous remarquons que la dilution 10^{-3} possède la plus grande charge microbienne (1400×10^6 UFC/g), puis la dilution 10^{-4} qui a une charge microbienne de 760×10^6 UFC/g, et enfin la plus faible c'est celle de la dilution 10^{-5} (283×10^6 UFC/g).

La moyenne générale pour la charge microbienne existant dans notre échantillon (la crème fraîche crue) est de $814,3 \times 10^6$ UFC/g.



- **Figure 13** : Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C.

2-Identification physiologique et biochimique des isolats lactique

En plus de ces tests basés sur la morphologie des bactéries nous avons utilisé des tests physiologiques et biochimiques pour déterminer le genre de nos isolats.

De nombreux tests biochimiques ont été mis en place pour l'identification des bactéries lactiques. Ces tests consistaient à utiliser des milieux de culture ou des galeries biochimiques selon les résultats préliminaires de la pré-identification.

Actuellement, il existe des systèmes rapides d'identification biochimiques, tels qu'API système. Pour les bactéries lactiques la galerie 50 CH est recommandée.

Malheureusement, ces moyens sont chers et nous n'avons pas eu la chance de les utiliser dans le présent travail.

Pour cela nous avons adopté une stratégie d'identification purement classique.

Le choix des tests a été effectué selon des travaux de recherches publiés par **Ayhan et al., 2005** ; **Ongol et Asano, 2009** ; **Bennama et al., 2012** ; qui ont fait appel à des techniques

classiques. Les résultats des tests biochimiques nous ont permis de réaliser une identification partielle des souches isolées. L'ensemble des résultats biochimiques est rassemblé dans le (Tableau 11). Cependant nous allons reporter quelques interprétations concernant chaque test.

2-1- Nitrate réductase

Après lecture du test, il s'est avéré qu'il y a un seul isolat à nitrate réductase positive ce qui signifie « isolat contaminant » et 25 isolats à nitrate réductase négative « isolats lactiques ».



Figure 14 : Exemple du résultat du test nitrate réductase : nitrate réductase négative.

2-2-Test de température de croissance à 45C°

Ce test facilite l'identification des souches thermophiles (**Guiraud, 1998**). Toutes les souches isolées sont des bactéries lactiques mésophiles car ils n'ont pas eu la capacité de se développer à 45C°, ce qui a indiqué l'absence des bactéries lactiques thermophiles dans la crème fraîche.

2-3-Test de type fermentaire

Les isolats à nitrate réductase négative ont subi le test de dégagement de gaz (CO₂) et

Après lecture de test, pour les deux méthodes suivies d'une inoculation du bouillon MRS et piqûre centrale dans le milieu Gibson-Abdelmalek les mêmes résultats sont obtenus :

Parmi les 25 isolats lactiques, 23 se sont avérés homofermentaires et 2 isolats (A2' et C2') sont des hétérofermentaires.

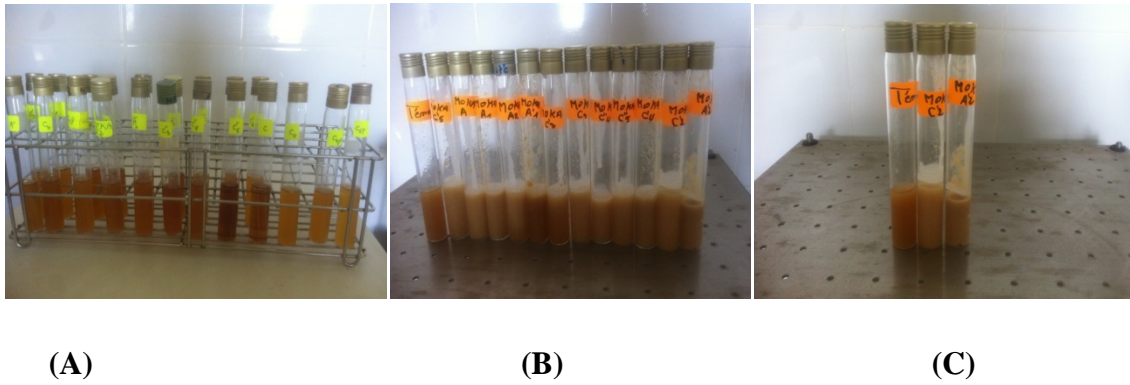


Figure 15:Exemples de résultat du type fermentaire.

(A) : Ensemencement dans le bouillon MRS, (B) : piqûre centrale dans le milieu Gibson-Abdelmalek(A, B : homo-hétérofermentaires).

(C) : hétérofermentaires (C2', A2').

2-4-Test de croissance sur le lait de Sherman

Toutes les 25 souches testées ont eu la capacité de réduire le bleu de méthylène et de coaguler le lait pour les deux concentrations 1% et 3%.

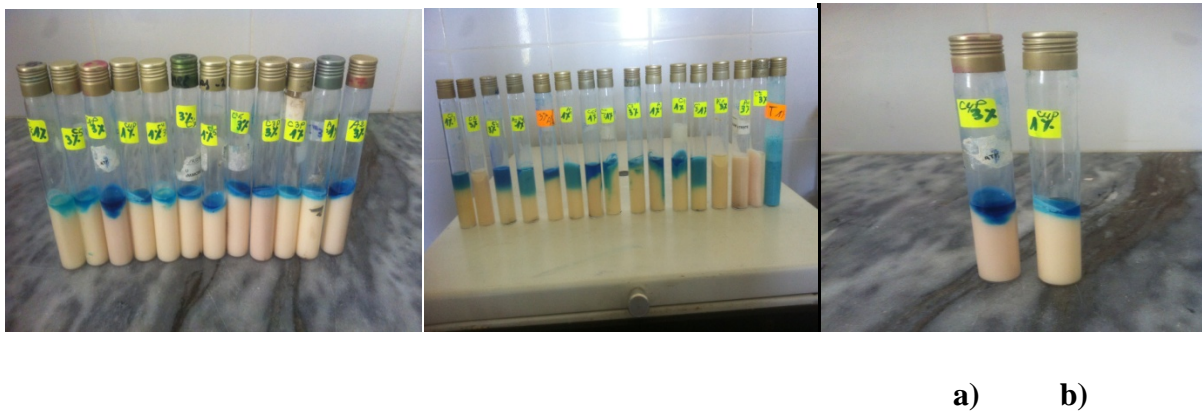


Figure 16 : Exemple des résultats du lait de Sherman.

a) réduction du bleu de méthylène à 3 %. b) réduction du bleu de méthylène à 1%.

2-5- Test de croissance en présence de 6,5% de NaCl

Ce test est appliqué pour l'identification des *Streptococcus* et les *Entérocooccus*.

La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble dans le tube (Ayhan et al ., 2005).

Après lecture de test, la plupart des souches (14 souches) n'ont pas eu la capacité de se développer à cette concentration de sel comme les représentés dans la figure 17(A).

Contrairement à d'autres souches (10 souches) qui ont présenté un pouvoir de résistance à 6,5% de NaCl. Les isolats positives appartiennent en général au genre *Entérocooccus* (Girrafa, 2003) figure 17(B).

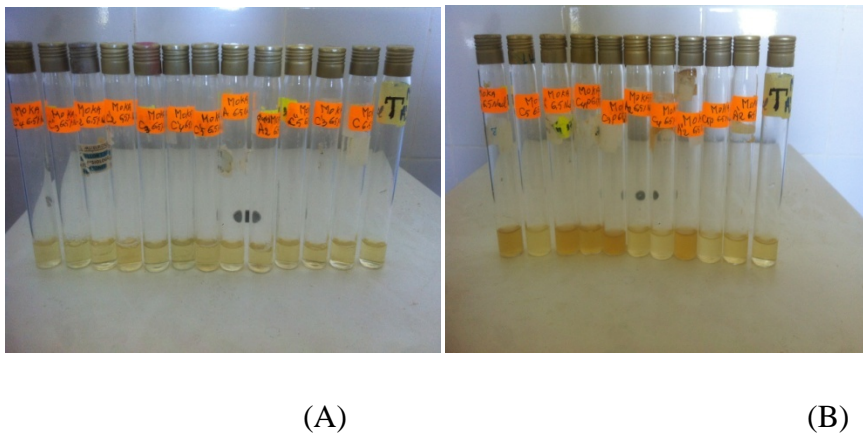


Figure 17: Exemple des résultats de test de croissance en présence de 6,5% de NaCl.

(A) : résultats négatives.

(B) : résultats positives.

2-6-Test de production d'acétoïne

Après lecture de test, toutes les souches (14 souches) n'ont pas eu la capacité de produire l'acétoïne ; car après l'incubation aucun trouble n'a été observé (pas de croissance) donc pas de couleur rouge après l'ajout de(VPI) et (VPII).

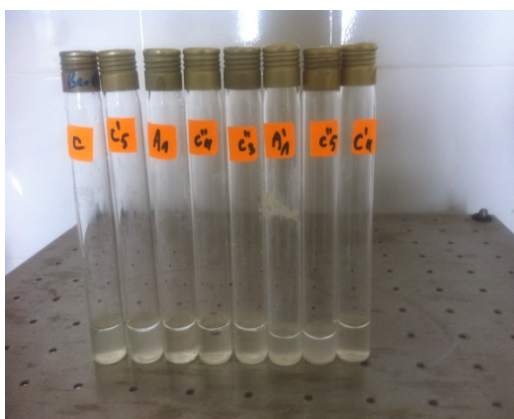


Figure 18: Exemple des résultats de test de production d'acétoïne (résultat négative).

Tableau 11 : Caractéristiques biochimiques des isolats purifiés.

+ : Positive.

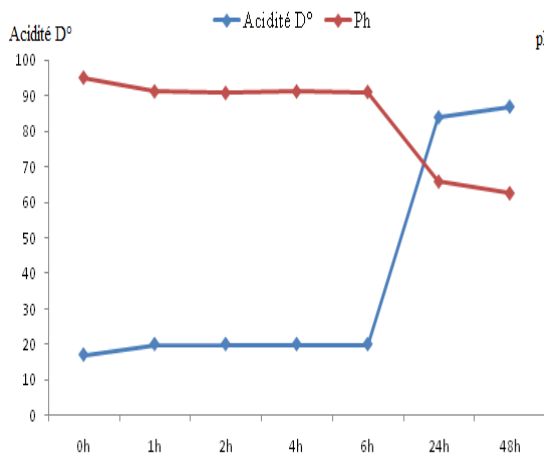
- : Négative.

Test Souche	Catalase	Gram	B .N	T 45C°	Homo /Hétéro	Lait de Sherman	6,5%NaCl	Acétoine
C5'	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C3'	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C5"	-	+	-	-	Homo	+	+	-
A1	-	+	-	-	Homo	+	+	-
A2	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C2	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C2'	-	+	-	-	Hétéro	+	+	-
C4"	-	+	-	-	Homo	+	+	-
A	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C4'	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C3	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C3"	-	+	-	-	Homo	+	+	-
A1'	-	+	-	-	Homo	+	+	-
C5	-	+	-	-	Homo	+	-	-
A2'	-	+	-	-	Hétéro	+	-	-

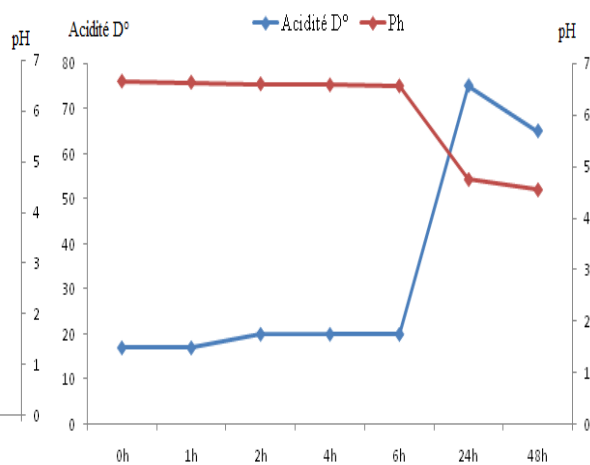
3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées

3.1. Pouvoir acidifiant

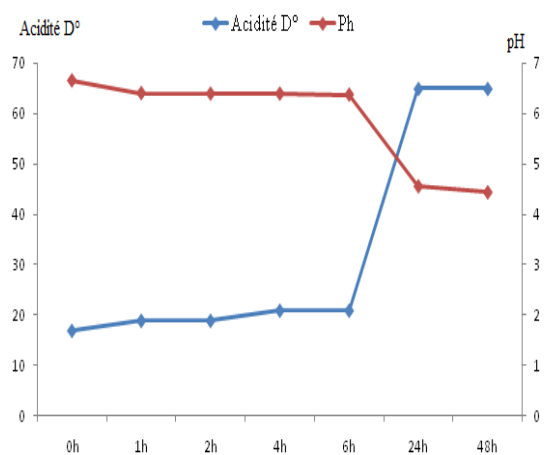
On a étudié le pouvoir acidifiant de (06) souches isolées, après une incubation à 24h et à 48h ; les résultats obtenues montrent la présence de cinq (05) isolats de Lactococcus contrôlés ayant un pouvoir acidifiant exemplaire qui nous ont permis de classer la totalité des souches testées dans la catégorie des meilleures souches acidifiantes ($87D^{\circ} > \text{Acidité} > 65D^{\circ}$).



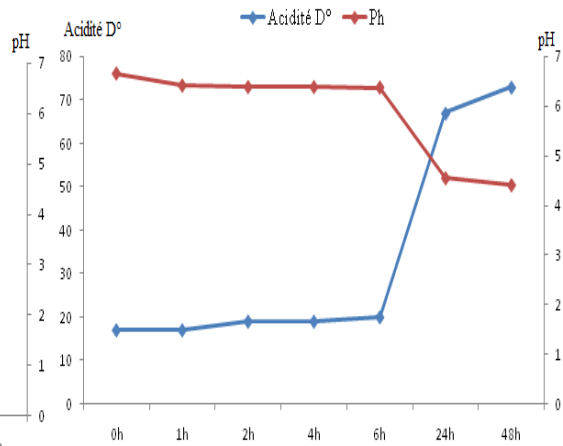
C3''



A1'



C3'



C4''

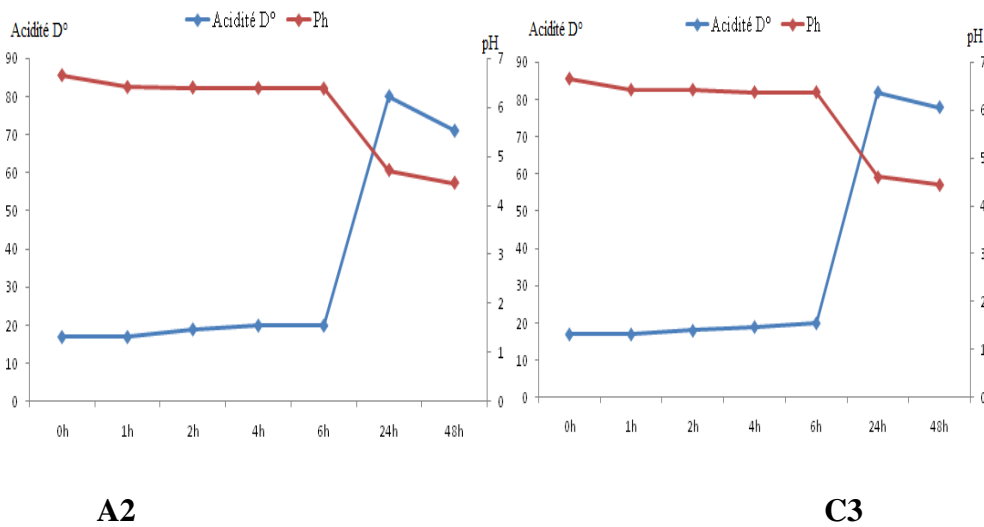
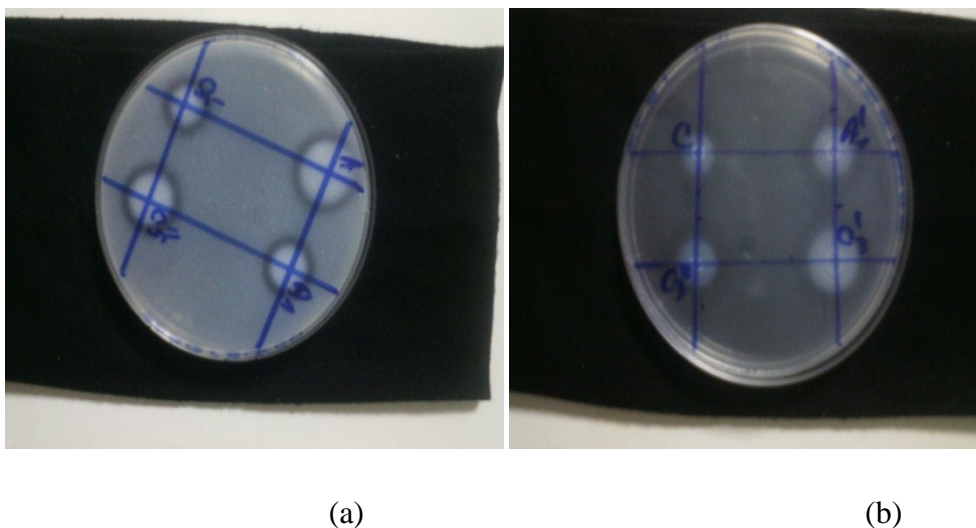


Figure 19: Résultat de l'évolution du pH avec l'acidité Dornic des souches (C3'', A1', C3,' C4'', A2, C3).

3.2. Pouvoir protéolytique

Après la lecture des résultats, on constate que tous les isolats ont eu une capacité importante à dégrader les caséines trouvées dans le milieu de culture utilisé. On a constaté aussi qu'il y a (06) souches (C3'', C4'', A2, C3', A1', C3) ayant un pouvoir protéolytique très important. Le diamètre de la protéolyse varie de 13 à 25 mm à 1% et de 10 à 24 mm à 2 %.



Figures 20: Exemples de résultats obtenus pour l'activité protéolytique.

(a) pour 2 % de lait écrémé ; (b) pour 1 % de lait écrémé.

3.3. Pouvoir lipolytique

Après une incubation à 37C° pendant deux jours, les résultats montrent aucune activité lipolytique chez les lactocoques testés sur gélose aux triglycérides; avec visuellement une activité négative.



Figure 21 : Exemple de résultats obtenus pour l'activité lipolytique.

3.4. Pouvoir texturant

Après lecture du test mis en œuvre, les résultats obtenus ne montrent aucune production de dextrane chez toutes les souches isolées de Lactocoques.

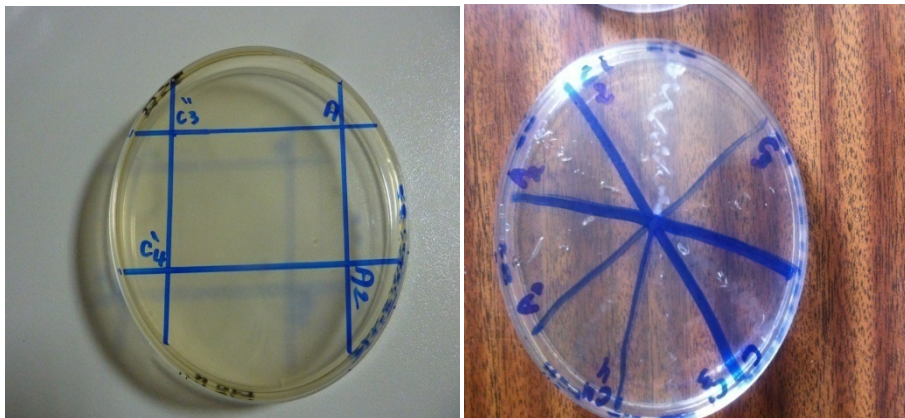


Figure 22 : Exemple de résultats obtenus du pouvoir texturant

3.5 Procédé de maturation de crème fraîche par les isolats purifiés

Afin de déterminer l'effet de l'addition d'une culture mixte des Lactococcus isolés ayant un pouvoir acidifiant exemplaire à influence directe sur les paramètres organoleptiques, une analyse sensorielle a été effectuée pour évaluer le niveau d'acceptation de la qualité gustative

de la crème fraîche après maturation par des dégustateurs du laboratoire.les résultats sont représentés sur le tableau 12 ci- dessous :

Tableau12 : résultatde notation sur l'impression globale.

produit	Notes de dégustateurs										Sommes des Rangs	Moyenne Des rangs
	Dégustateurs											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
(1)	10	4	6	6	6	2	8	2	2	6	52	5,2
(2)	10	4	4	6	6	6	4	4	4	8	56	5,6

(1) : Crème fraîche acheté (Témoin).

(2) : Crème fraîche mûré.

6 point : Très bon.

4 point : bon.

3 point : acceptable.

2 point : mauvais.

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation des aliments. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu.

Le but de cette étude a été de mettre en évidence une caractérisation et évaluation des aptitudes technologiques des souches des bactéries lactiques ayant des applications alimentaire. A l'issue de ce qui a été réalisé, Trent six (36) souches ont été isolées, purifiées et identifiées à partir d'un produit frais dérivé du lait la crème fraîche crue originaire de la SARL HODNA LAIT M'SILA.

L'identification des souches a été réalisée par la détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques. La totalité était des coques appartenant aux genres *Lactococcus* et d'autre des *Enterococcus* où Les résultats obtenus lors de notre étude montrent que la charge de la flore mésophile totale est très élevée dans notre échantillon.

D'après cette étude, nous avons pu déduire aussi que les souches des *Lactococcus* isolées ont de bonnes aptitudes technologiques concernant surtout les activités acidifiantes et protéolytiques.

Les résultats de cette modeste étude permettent d'avoir de nouvelles perspectives.

Pour compléter ce travail d'exploitation de la flore lactique du crème fraîche crue nous proposons :

- L'utilisation des techniques moléculaires pour une meilleure précision et signification de la microflore présente.
- Exploitation de la flore lactique locale dans les industries laitières algériennes.
- proposer une crème de grande qualité sanitaire, organoleptique et nutritionnelle.
- Tracer les courbes de croitre et varie la Température 28C°,30C°.

Références Bibliographiques

A

- **Aboutayeb., 2009.**Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- **Alais C., 1975.** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
- **Alais C. Charles et Linden Guy., 1997.** Abrégé de biochimie alimentaire. 4 éditions. Paris: Maisson. 248 p.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. ISBN. p.3-25-29.
- **Angers, P., 2002.**Chapitre 5: beurre et fractions de matière grasse laitière. In: Vignola Carole-L., Science et technologie du lait: Transformation du lait, Ed. Presse internationales polytechnique, Montréal, p. 325,327.
- **Anonyme., 2009.** Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1 édition.France Agricole, institut de l'élevage : 554p.
- **Ayhan K.,Durlu-Özkaya .,Tunail., 2005.**Commercially important characteristics of Turkishorigindomesticstrains of *Streptococcus thermophilus*and *Lactobacillus* ssp.Bulgaricus.58 :15-157.

B

- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et 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, 23 :30-37.
- **Béal C. ; Marin M. ; Fontaine E. ; Fonseca F. et Obert J. P., 2008.** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In Corrieu, G. et Luquet, F.-M. (ed.). Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec&Doc Lavoisier, Paris,pp. 661-785.
- **Béal C. et Sodini I. 2012.** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur f6315, Paris-France, 16 p.

- **Benkerroum N., Tamime A. Y., 2004.** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food. Microbiol.* 65 :1-15.
- **Bennama R., Fernandez M., Ladero V., Alvarez M.A., Rechidi-Sidhoum N. & Bensoltane A., 2012.** Isolation of an exopolysaccharides-producing *Streptococcus thermophilus* from Algerian raw cow milk. *European food research technology*. 234 :119-125.
- **Branger A., 2012.** Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p. 17.
- **Brunner J., 1981.** Cow milk proteins: twenty five years of progress. *J dairy Sci*, 1981, 64 : 1038-1054. In **POUGHEONS.**, Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).

C

- **Cathy B. et Valentine B., 2011.** La crème fraîche. Syndifrais. Paris. pp :04-06-08-10.
- **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., 2010.** Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations, In Mozzi F. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications*, Wiley-Blackwell Publishing, USA, 393 p.
- **Casalta. E., Sorba. J.M., Aigle. M., Ogier. J.C., 2009.** Diversity and dynamics of microbial community during the manufacture of Calenzana an artisanal Corsican cheese. *International Journal of Food Microbiology* 133. 243-251.
- **Chen G. Q., 2010.** *Plastics from bacteria 'Natural functions and applications'*, Springer, Microbiology Monographs, Volume 14, Münster, Germany, 450 p.
- **Chammas, G.I., Saliba, R. and Béal, C. 2006.** Characterization of the fermented milk "Laban" with sensory analysis and instrumental measurements. *J. Food. Sci.* 71: S156-S162.
- **Chamba J. F., 2008.** Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), *Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris, p. 787-815.

- **Chamba J.- F., et Irlinger F., 2004.** Secondary and adjunct cultures. In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, p. 191-206.
- **Champagne C. P., Gagnon D., St-Gelais D. et Vuillemand J. C., 2009.** Interactions between *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus* strains in Cheddar cheese processing conditions, *International Dairy Journal* 19:669–674.
- **CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles ., 2011.** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.
- **Coulon J-B., Hoden A., 1991.** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod.Anim.*, 4 (5).pp: 361-367.
- **Corrieu G. et Luquet F-M., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques, édition Tec. et Doc. Lavoisier, Paris France, 307 p.
- **Corrieu G. et Luquet F-M., 2008.** Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments, édition Tec. et Doc. Lavoisier, Paris France, 849 p.

D

- **Dalmasso.M., Prestoz.S., Rigobello.V., 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.
- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C., 1994.** Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1 : 25-114.
- **Delorme C., 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 126:274–277.
- **Desmaures N, Bazin F, Guéguen M., 1997a.** Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. *J. Appl. Microbiol.* 83, 53-58.
- **Desmaures N, Opportune W, Guéguen M., 1997b.** *Lactococcus* spp., yeasts and *Pseudomonas* spp. On teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. *Int. Dairy J.* 7, 643-646.

- **De Vuyst L. et Tsakalidou E., 2008.***Streptococcus macedonicus*, a multi-functional and promising species for dairy fermentations. *Int. Dairy J.* 18:476-485.
- **Dupin H., 1973.** Alimentation et nutrition humaine, presse universitaire de France. Paris.

E

- **Eck A et Gillis J-C., 1997.** le fromage de la science à l'assurance –qualité. 3ème Edition, Tec et Doc Lavoisier. Paris. 891p.
- **Edward V. A., Huch M., Dortu C., Thonart P., Egounlety M., Van Zyl P. J., Singh S., Holzappel W. H. et Franz C. M. A. P., 2010.** Biomass production and small-scale testing of freeze-dried lactic acid bacteria starter strains for cassava fermentations. *Food Control*, 22(3-4): 389-395.

F

- **Favier J.C., 1985.** Composition du lait de vache-Laits de consommation, <http://www.horizon.documentation.fr>.
- **Franworth E. et Mainville I., 2010.** Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>.
- **Fredot E., 2006.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Lavoisier: 25(397pages).

G

- **Gaucheron F., 2004.** Minéraux et produits laitiers, Tec et Lavoisier: 783(922pages).
- **Goursaud J., 1985.** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- **Guiraud J., 1998.** Microbiologie alimentaire Ed *DUNOD*. PP :19-24,281-290.
- **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie alimentaire. Édition *DUNOD* Paris France. pp 431,652.
- **Gusil C., Chaia A.P., Olivier G et Gonzalez S., 2010.** Microtechnique for identification of lactic acid bacteria. *Methods in molecular biology*, Vol.268 : Public Health Microbiology : Methods and Protocols. *Humana Press*. Totowa. PP :453-458.

- **Guy G, (1997).** Les plantes à parfum et huiles essentielles à Grasse. Édition L'Harmattan paris.

H

- **Hassainya J, Padilla M et Tozanli S., 2006.** Lait et produits laitiers en Méditerranée, des filières en pleine restructuration. Edition Karthala : 384p.
- **Hermier J, Lenoir F et Weber F., 1992 .**les groupes microbiens d'intérêt laitier, Ed : CEPIL, Paris : 559p.
- **Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D. et Leblond-Bourget N., 2005.** New insights in the molecularbiology and physiology of *Streptococcus thermophilus*revealed by comparative genomics. *FEMS MicrobiologyReviews*, 29:435–463.
- **Hui Y. H., 1992.**Dairy Science and TechnologyHandbook, Wiley-VCH VerlagGmbH Edition, 1150 p.
- **HylckamaVliega J. E. T. et Hugenholtzb van J., 2007.**Miningnaturaldiversity of lacticacidbacteria for flavour and healthbenefits, *International Dairy Journal*, 17:290–1297.

I

- **Iyer R., Tomar T. R., Maheswari T. U. et Singh R., 2009.***Streptococcus thermophilus*strains: Multifunctionallacticacidbacteria. *International Dairy Journal*, 20:133–141.

J

- **Jean L.B., 2007.**Matière grasse laitière –crème et beurre standard. Techniques de l'ingénieur. Saint-Denis. pp : 04-05-07.
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G., 2007.** Science des aliments, Biochimie, Microbiologie, Procédés, produits. Vol 2, Technologie des produits alimentaires, TEC & DOC, Paris, pp : 456.
- **Jeantet, R., Croguennec, T., Schuckm, P., Brulé, G., 2007.** Science des aliments: tome 2, technologie des produits alimentaires.Ed. Tec& Doc Lavoisier. Paris, p.58, 59.
- **Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Mahaut, M.Brulé, G., 2008.** Les produits laitiers. 2 éditions, Éd. Tec& Doc Lavoisier, Paris, p. 75.

K

- **Keohane J., Ryan K. et Shanahan F., 2009.** Lactobacillus in the gastrointestinal tract. In: Ljungh, A., Wadstrom, T. (Eds.), *Lactobacillus MolecularBiology: FromGenomics to Probiotics*. CaisterAcademicPress, Norfolk, p.169-181.

L

- **Larpent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. Tec & doc, Lavoisier.Paris.PP :10-72.
- **Leroy F. et De Vuyst L., 2004.** Lacticacidbacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15:67–78.
- **Leveau-J-Y., BouixMrielle,DeRoissart H.,1991.** la flore lactique In *Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire* .Bourgeois C.M., Leveau J-Y. *Tec & Doc*, Lavoisier ,pp :152-186.
- **Leveau, J.Y. et Bouix, M. ,1993.** Les levures. Dans : *Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêt industriel*. Eds.Tech. et Doc. Lavoisier. Paris, pp : 2-39.
- **Limsowtin G. K. Y., Powell I. B. et Parente E., 1996.** Types of starters. In *Dairy Starter Cultures*, ed. T.M. Cogan and J. - P. Accolas, New York, USA: VCH. p.101 – 129.

M

- **Makarova K., Slesarev A., Wolf Y., Sorokin A., Mirkin B. et Koonin E., 2006.** Comparative genomics of the lacticacidbacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 429(103) :15611–15616.
- **Mallet .A., Guéguen.M., Desmasures.N., 2010.** Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative des laits crus normands destinés à la transformation fromagère.8^{ème} Congrè National de la SFM.2-4 juin 2010. Marseille.
- **Marchal N., Oobre A., Buttion R., Boudon JL and Richar CL., 1982.** LES Milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des Bactéries. DOIN, 2eme Ed. Paris.
- **Marth E. H. et Steele J. M., 2001.** *Applieddairymicrobiology*, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc, New York, USA, 744 p.
- **Marth, E. H. et Steele, J. L., 2001.** *Applieddairymicrobiology*. Marcel Dekker, Inc., New York.

- **Maruejouis A. et Caigniet A., 1983.** Les cultures concentrées congelées. La Technique Laitière 976, pp.38-43.
- **Mathieu J., 1998.** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA.Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- **Mathieu J., 1999.**Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190(220pages).
- **Mayra-Makinen A. et Bigret.T, 1998.**Industrial use and production of lacticacidbacteria. In Salminen, S. et Von Wright, A. (ed.). Lacticacidbacteria: microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.73-102.
- **Mechai A. et Kirane D., 2008.**Antimicrobialactivity of autochthonouslacticacidbacteriaisolatedfrom Algerian traditionalfermentedmilk “Raïb”. African Journal of Biotechnology, 7 (16) : 2908-2914.
- **Michaylova M., Minkova S., Kimura K., Sasaki T. et Isawa K., 2007.** Isolation and characterization of *Lactobacillus delbrueckii*sp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*from plants in Bulgaria. *FEMS MicrobiologyLetters*, 269:160–169.
- **Michel V, Hauwuy A, Chamba JF., 2001.** La fore microbienne des laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. Lait 81, 575 - 592.
- **Mittaine J., 1980.**Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono).
- **Mozzi F., Raya R.R et Vignolo G.M., 2010.**Biotechnology of lacticacidbacteria : Novel applications.Blackwell.Publishing.13.
- **Mozzi F., Raya R. R. et Vignolo G. M., 2010.**Biotechnology of LacticAcidBacteriaNovel Applications, Wiley-BlackwellPublishing, USA. 393 p.
- **Mozzi .F., Torino M.I.et Valdez.G.F.,2001.**Identification of exopolysaccharide-producinglacticacidbacteria .Methods in biotechnology, vol 14 : Food Microbiol.Protocols.Humanapress.Totowa. 183-190.

O

- **Ongol MP., Asano K., 2009.**Main microorganismsinvolved in the fermentation of Ugandan ghee .International Journal of Food Microbiology.133(3) :286-91.
- **Ouadghiri M., 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d’origine marocaine, thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie

Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. 132 p.

P

- **Parente E. et Cogan T. M., 2004.** Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T. M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, p.123-148.
- **Pfeiler E. A. et Klaenhammer T. R., 2007.** The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, 15(12):546-553.
- **Pougheon S. et Goursaud J., 2001.** « Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques », In : DEBRY, G. *Lait, nutrition et santé*, Tec & Doc, Paris, 342 p.
- **Pougheon S., 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

Q

- **Quiberoni A., Moineau S., Rousseau G. M., Reinheimer J. et Ackermann H-W., 2010.** *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *International Dairy Journal*, 20:657-664.

R

- **Ray B. et Bhajania A., 2008.** *Fundamental food microbiology*, fourth edition Taylor & Francis Group CRC Press, 492 p.
- **Robinson R. K., 2002.** *Dairy Microbiology Handbook*, third Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York USA, 764 p.

S

- **Salminen S., Wright A. et Ouwehand A., 2004.** *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, Third Edition, Marcel Dekker, Inc. USA, 628 p.
- **Saithong P., Panthavee W., Boonyaratanakornkit M. et Sikkhamondhol Ch., 2010.** Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaasom, a Thai fermented fish, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(5):553–557.

- **Shetty K., Paliyath G., Pometto A. et Levin R. E., 2006.** Food biotechnology, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 1982 p.
- **Schwab C., Vogel R. et Gänzle M. G., 2007.** Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying, *Cryobiology* 55:108–114.
- **Smith D., 2001.** Provision and maintenance of micro-organisms for industry and International research networks. *CryoLetters* 22, pp. 91-96.
- **Solieri L. et Giudici P., 2009.** *Vinegars of the World* Springer-Verlag Italia, 297 p.

T

- **Tamime A. Y. et Robinson R. K., 1999.** Preservation and production of starter cultures. In Tamime, A. Y. et Robinson, R. K. (ed.). *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead publishing limited, Cambridge, England, pp.486-514.
- **Tamime A., 2005.** *Probiotic Dairy Products*, Dairy Science and Technology Consultant Ayr, UK, Blackwell Publishing Ltd., 216 p.
- **Tantaoui ELaraki A., EL marakchi A., 1987.** Study of the marocain dairy products *Lben* and *smen Mircen*. 3 :211-220.
- **Tormo .H., Ali haimoud-Lekehal.D., Laithier.C., 2006.** Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre : principaux reservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage. 13^{ème} Rencontre Recherche Ruminants. Institut de l'Élevage-INRA, 305-308.
- **TORMO H., 2010** .Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 238 pages.

U

- **Uchida K., Urashima T., Chanishvili N., Arai I. et Motoshima H., 2007.** Major microbiota of lactic acid bacteria from Matsoni, a traditional fermented milk in Georgia. *Anim. Sci. J.* 78:85-91.

V

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

- **Vierling, E., 2003.** 3^e édition .Chapitre X les corps gras. In: Aliments et boissons : Filières et produits, ed.Doin, p.191, 192.
- **Vierling E., 2008.** Aliments et boissons filières et produits. 3^eme édition Biosciences et techniques. Paris. pp : 15-16.
- **Vignola C. ,2002.** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

W

- **Wildman R. E. C., 2007.**Handbook of Nutraceuticals and FunctionalFoods, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 541 p.

Y

- **Yıldız F., 2010.**Developpement and manufacture of yougurt and otherdairyproducts, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.

Annexe I

I-Composition des milieux de cultures

1. Milieu MRS (Mano,rogosa et Sharpe, 1962)

• Peptone.....	10g
• Extrait de viande.....	08g
• Extrait de levure déshydraté.....	04g
• Acétate de sodium.....	05g
• Phosphate di potassique.....	02g
• Citrate d'ammonium.....	02g
• Sulfate de magnésium, 7H ₂ O.....	0.2g
• Sulfate de manganèse, 4H ₂ O.....	0.05g
• Glucose.....	20g
• Tween 80.....	01ml
• Agar.....	15g

pH=6.9

2. Milieu M17 (Terzaghi et sandine ,1977)

• Peptone tryptique de caséine.....	2.5g
• Peptone pepsique de viande.....	2.5g
• Peptone papainique de soja.....	05g
• Extrait de levure déshydraté.....	2.5g
• Extrait de viande.....	05g
• Glycérophosphate de sodium.....	19g
• Sulfate de magnésium, 7H ₂ O.....	0.25g
• Acide ascorbique.....	0.5g
• Glucose.....	05g
• Agar.....	15g

pH=7,1-7,2

3. Milieu PCA (Plate Count Agar)

• Tryptone.....	5g
• Extrait de levure.....	2.5g
• Glucose.....	1g
• Agar agar.....	12g

pH=7,5

4. GéloseHypersaccharosée (MSE : Mayeux, Sandine et Elliker, 1962)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....10,0 g
- Gélatine.....2,5 g
- Extrait autolytique de levure.....5,0 g
- Saccharose.....100,0 g
- Glucose.....5,0 g
- Citrate de sodium.....1,0 g
- Azide de sodium.....75,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

pH=6,9

5. PCAL modifier (PCAlait) utilisé pour l'isolement.**Annexe II****II-Composition des bouillons****1. Bouillon MRS**

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone.....10,00 g
- Extrait de viande.....10,00 g
- Extrait autolytique de levure.....5,00 g
- Glucose.....20,00 g
- Tween 80.....1,08 g
- Phosphate dipotassique.....2,00 g
- Acétate de sodium.....5,00 g
- Citrate d'ammonium.....2,00 g
- Sulfate de magnésium.....0,20 g
- Sulfate de manganèse.....0,05 g

pH=6,4

2. Milieu de dilution (peptone-sel)

- Peptone.....01g
 - Chlorure de sodium (NaCl).....8.5g
 - Eau distillée.....1000ml
- Autoclavage durant 15min à 121C°.

3. Milieu Naylor et Sharpe (6,5 NaCl)

- Peptone.....10g
- Glucose.....05g
- Extrait de viande.....10g
- Extrait de levure.....03g
- Chlorure de sodium (NaCl).....65g

pH=7

4. Milieu Sherman

- Lait UHT.....09ml
- Bleu de méthylène.....100µl

5. Milieu Clarck et Lubs

- Peptonetrypsique.....5g
- Glucose.....2g
- Phosphate bi potassique.....10g
- Eau distillée q.s.p.....1000ml

6. Citrate de sodium (Na) à 2%

- Citrate de sodium (Na).....2g
- Eau distillée.....100ml

Annexe III

III-Coloration de Gram

1. Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au **Violet de Gentiane** laissé agir pendant 1 minute.
2. Rejeter le colorant et recouvrir de **Lugol** pendant 30 secondes.
3. Rejeter le **Lugol**.
4. Recouvrir d'alcool en inclinant la lame jusqu'à l'obtention des premières gouttes incolores, rincer à l'eau distillée.
5. Recouvrir la **fuschine**, laisser agir 30 secondes.
6. Rincer à l'eau distillée.
7. Sécher la lame, ainsi la lame est prête à l'observation.

