



DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Boubekeur Mariya

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: Production et Transformation Laitières

THÈME

**Revivification et contrôle des aptitudes
technologiques des souches lactiques
thermophiles**

Soutenu publiquement le 07/07/2018

DEVANT LES MEMBRES DU JURY

Président	Mr BOUCHERF Djilali	Docent	U.Mostaganem
Examinatrice	Mme TAHLAITI Hafida	Maitre Assistante	U.Mostaganem
Encadreur	Mr DAHOU A.El-Amine	Maître Assistant	U.Mostaganem
Co-encadreur	Mme RECHIDI SIDHOUM Nadra	Maitre Assistante	U.Mostaganem

Remerciements

Avant tout je remercie Dieu, le tout puissant, de m'avoir donné, le courage, la force, la santé et la persistance.

Je voudrais dans un premier temps remercier, mon encadreur **M DAHOU A. EL AMINE** qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour ses conseils judicieux, qui ont contribué à alimenter ma réflexion et surtout le temps qu'il m'a consacré.

Ma reconnaissance à **Mme RECHIDI SIDHOUM**, mon Co-encadreur, pour sa précieuse assistance et ses orientations à la réalisation de mon mémoire.

Mes remerciements pour le Président du Jury **M BOUCHERF** et Mme l'examinatrice **Mme TAHLAITI**.

Un remerciement très particulier à notre Ingénieur de laboratoire pour son soutien et son infinie gentillesse.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande importance.

Enfin, je remercie mes amis et toute ma famille pour leurs encouragements et leurs compréhensions.

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Dédicaces

Je dédie ce travail

Qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limites de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que Dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

A mes chères sœurs Phaiza, Zineb et Sophia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes chers grands parents, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A ma chère cousine Nabila qui m'a chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A tous mes proches et mon fiancé, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir du début jusqu'à la fin de mon travail.

A tous mes amis, pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

Merci !

Résumé

Le présent travail vise la mise en évidence des aptitudes technologiques chez quatre souches lactiques thermophiles qui ont été déjà isolées à partir de fromages du terroir (camembert du Tessala). Ces aptitudes technologiques ont concerné, le pouvoir acidifiant, protéolytique et lipolytique; la production d'acétoïne et d'EPS; et le profil fermentaire. Parmi ces souches, deux espèces sont des coques appartenant au genre *Streptococcus thermophilus* (St1 et St2) et les deux autres, sont des bacilles appartenant au genre *Lactobacillus acidophilus* (Lb1 et Lb2). Un essai de culture mixte est réalisé pour un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle stabilisée « le camembert ». Les souches (Lb1 et Lb2) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquable, avec des quantités très élevées en acide lactique [9,1g/l à 9,8g/l]. L'activité protéolytique s'est révélée intéressante chez les 02 souches de lactobacilles. Ces souches révèlent de bonnes propriétés technologiques (texture, aromatisation et coagulation) qui ont donné satisfaction à l'essai de fabrication du fromage camembert stabilisé. De même, leurs qualités microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles ont été très appréciées.

Mots clés : Souches lactiques thermophiles, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* , aptitudes technologiques

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تبسيط الضوء على القدرات التكنولوجية التي تتميز بها أربع سلالات لبنية حرارية و التي تم عزلها من أجبان محلية. هذه الخاصيات هي الخاصية الحمضية، الخاصية المحللة للبروتين و للدسم، إنتاج الأستون و البوليسترين الموسع (EPS) و الجانب المخثر. تنتمي سلالتان إلى النمط ستربتوكوكوس ترموفيلوس (St1 و St2)، و سلالتان إلى النمط لاكتوباسيلس ترموفيلوس (Lb1 و Lb2). لقد تم محاولة زراعة سلالات مختلطة لغرض صناعة جبن ذي عجينة طرية مستقرة "كاممبير". السلالتان (Lb1 و Lb2) هما السلالتان الأكثر فعالية من حيث الخاصية الحمضية حيث تمتلكان كميات كبيرة من الحمض اللبني (9.1g/1-9.8g/1). السلالتان اللتان تنتميان إلى نمط لاكتوباسيل تمتلكان خاصية نوعية محللة للبروتين. تمتلك هذه السلالات خاصيات علمية من حيث التركيب، التخثر و النكهة، حيث كانت جيدة في صناعة جبن الكاممبير المتميز بجودة ميكروبيولوجية، فيزيائية و كيميائية، و ذوقية جد قيمة.

الكلمات المفتاحية:

سلالات لبنية حرارية، لاكتوباسيلس أسيدوفيلس، ستربتوكوكوس ترموفيلوس، القدرة التكنولوجية

Abstract

The aim of this work is to identify the technological aptitudes of four thermophilic lactic strains that have already been isolated from local cheeses, namely: The acidifying, proteolytic, and lipolytic power; the production of acetoin and EPS; and the fermentation profile. 02 strains are shells belonging to the genus *Streptococcus thermophilus* (St1 and St2) and 02 strains of bacilli belonging to the genus *Lactobacillus acidophilus* (Lb1 and Lb2). A mixed culture test shall be carried out for a test for the manufacture of a stabilised soft cheese "Camembert". The strains (Lb1 and Lb2) are the most efficient with remarkable acidifying power, including very high quantities of lactic acid [9.1g/l-9.8g/l]. Proteolytic activity was interesting in the 02 strains of lactobacilli. These strains reveal good technological properties (texture, flavouring, and coagulation) that have given satisfaction to the manufacturing test of Camembert cheese stabilized with the highly appreciated microbiological, physico-chemical and sensory qualities.

Keywords: *Thermophilic lactic* strains, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, technological

Sommaire

Abréviations, sigles et acronymes

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Introduction	11
Première partie. Étude bibliographique	12
Chapitre I. Bactéries lactiques	13
Chapitre II. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques	36
Deuxième partie. Recherche Expérimentale	43
Chapitre I. Matériel et méthodes	43
Chapitre II. Résultats et discussion	51
Conclusion et perspectives	65
Annexes	68
Liste des références	72
Table des matières	89

Abréviations, sigles et acronymes

BRM : Brio réacteur a membrane

CaCl₂ : Chlorure de calcium

CO₂ : Dioxyde de Carbone

D° : Degré dornic

EPS: Exo-polysaccharides

F.I.L : Fédération international du lait

h : Heure

H₂O : Eau

H₂O₂ : Eau oxygénée

Lb: Lactobacillus

M.G : Matière grasse

N : Normalité

NaOH : Hydroxyde de sodium

P.C.A : Plate count agar

P.T.L : Production et transformation laitière

pH : Potentiel d'hydrogène

Sp: Espèces

Str : Streptococcus lactiques

Subsp: Sous espèces

T°: Température

U.F.C : Unité formant une colonie

V : Volume

V : Volume

VP : Voges proskauer

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux Genres de bactéries lactiques (Matamoros, 2008).-----	15
Tableau 02 : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi M, 2005).-----	17
Tableau 03 : Températures optimales de croissance des bactéries lactiques (Monnet et al., 2011) -----	18
Tableau 04 : Principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière. Lb. : <i>Lactobacillus</i> . (Kandler et al., 1986)-----	29
Tableau 05 : Rôle de quelques espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière (Lamontagne.,2002) -----	39
Tableau 06 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des souches --	44
Tableau 07 : Critères morphologiques d'identification des genres présumés des souches lactiques -----	45
Tableau 08 : Evolution de la composition du camembert en cours d'affinage-----	50
Tableau 09 : Moyenne des diamètres de lyse en millimètre chez les souches étudiées après 48 heures d'incubation-----	54
Tableau 10 : Résultats du test de lipolyse des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation.-----	55
Tableau 11 : Evolution du pH –Acidité dornic en fonction du temps d'incubation par rapport à chaque souche. -----	56
Tableaux 12 : Evolution physico-chimiques et microbiologiques des fromages en affinage -----	61
Tableau 12.1 : Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au démoulage et après salage. -----	61
Tableau 12.2 : Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au jour J+3 et au jour J+7.-----	61
Tableau 12.3 : Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au jour J+10. -----	62
Tableau 13 : Résultats du test de dégustation à J+10 pour notre fromage à base de souche thermophile par rapport au témoin avec des souches mésophiles à J+16-----	63

Liste des figures

Figure 01 : Lactobacillus Rosell-11 observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (référence électronique 1).-----	16
Figure 02 : Morphologie cellulaire de <i>S.thermophilus</i> observée par microscopie electronique (Durso et Hutkins , 2003)-----	20
Figure 03 : Principales voies du métabolisme des sucres chez <i>S. thermophilus</i> (Hols et al., 2005).-----	23
Figure 04 : Le protocole à suivre pour la réalisation du test acidité. -----	47
Figure 05 : Troubles constatés après revivification des souches lactiques utilisées -----	52
Figure 06 : Examen macroscopique des souches lactiques étudiées.-----	53
Figure 07.1 : <i>Streptocoques</i> lactiques (grossissement x100) -----	53
Figure 07.2 : <i>Lactobacilles</i> (grossissement x100)-----	53
Figure 08 : Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation.-----	54
Figure09 : Résultats du test de lipolyse des quatre souches lactiques Lb1–Lb2 et St1-St247 -----	56
Figure 10 : Evolution de L'acidité en °D des souches utilisées -----	57
Figure 11 : Evolution du pH des souches utilisées -----	57
Figure 12 : Pouvoir aromatisant des souches lactiques étudiées. -----	58
Figure 13 : Pouvoir non texturant des souches lactiques étudiées -----	59

Introduction

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, et sont très utilisées en industrie alimentaire, surtout laitière où elles sont impliquées dans la production de divers produits laitiers fermentés.

En effet la production d'acide lactique est essentielle à la fabrication des produits laitiers et leur confère une saveur typique (Labaoui *et al.* 2005). Ces bactéries contribuent aussi par leurs activités enzymatiques variées, à la production de composés volatils qui participent au développement de l'arôme, de la saveur, et de la texture de plusieurs produits laitiers.

Certaines bactéries lactiques produisent des exo polysaccharides qui jouent un rôle important dans le développement de la texture de plusieurs produits laitiers (Labaoui *et al.* 2005).

Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaire (Hikmate *et al.*,2012), sous forme de ferments lactiques commerciaux (Axelsson, 2004 ; Streit *et al.*; 2007).

Actuellement, on définit les ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, et les fromages (Leroy et De Vuyst., 2004 ; Mäyrä-Mäkinen et Bigret ., 2004) .

Ces bactéries présentent un grand intérêt dans l'industrie laitière (Bakhouche et Baoulahrouf, 2005). Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaires (Hikmate *et al.*,2012).

De par leurs aptitudes technologiques acidifiantes, protéolytiques, lipolytiques, aromatisantes, texturantes et antimicrobiennes, ces agents microbiens laitiers jouent un rôle essentiel dans la fabrication d'une gamme variée de produits laitiers.

En industrie laitière, les bactéries lactiques sont à l'origine des processus de transformation conditionnant la texture et la qualité organoleptique des produits laitiers. (Ganzele *et al.*, 2000 ; Delgado *et al.*, 2001 ; Tailleux.,2001)

Cette étude s'intercale dans l'objectif de faire la revivification et purification de bactéries lactiques thermophiles (*Lactobacillus* et *Streptococcus*), d'étudier leurs aptitudes technologiques, de les utiliser dans un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle stabilisée de type camembert et de le comparer par une analyse sensorielle à un même fromage de type traditionnel.

Ce manuscrit est structuré en quatre chapitres, le premier est consacré à une synthèse bibliographique articulée autour des généralités et la classification des bactéries lactiques, le second chapitre présente les aptitudes technologiques des bactéries lactiques et leurs intérêts dans le domaine industriel. Le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail. Les résultats obtenus et leurs discussions sont rassemblés dans le quatrième chapitre.

Première partie

Etude

bibliographique

Chapitre I
Les bactéries
lactiques

1. Bactéries lactiques

1.1. Historique et généralités

Les bactéries lactiques sont connues depuis le début du XXe siècle par Orla-Jensen (1919), et sont définies comme des microorganismes GRAS, ce sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart., 1986).

Leur métabolisme est strictement fermentaire elles fermentent le lactose en acide lactique et selon le produit final de cette fermentation lactique, elles sont dites homolactiques si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétéro lactiques si d'autres composées sont aussi présents comme l'acide acétique, éthanol, et CO₂ (Leveau et Bouix.,1993 ; Pilet *et al* .,2005).

Les bactéries lactiques sont Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négative, oxydase négative, généralement nitrate réductase négative, et ce sont des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio *et al.*, 1994 ; Hogg, 2005).

1.2. Habitats des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, elles peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique (De Roissard et Luquet., 1994).

Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux, et peuvent aussi coloniser le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau et Bouix., 1993).

1.3.Taxonomie des bactéries lactiques

La taxonomie des bactéries lactiques ne cesse d'évoluer depuis leur description par Orla Jensen en 1919, ou il a décrit une première classification selon le métabolisme fermentaire des carbohydrates, ce qui a permis de les classer en deux groupes selon le type de la fermentation lactique : Le groupe homofermentaire, et hétérofermentaire (Dellaglio *et al.*,1994).

Cependant, la caractérisation phénotypique et biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire, de ce fait, et selon la morphologie cellulaire, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (Forme en bâtonnet: *Lactobacillus et Carnobacterium*) et coques (forme en cocci : *lactococcus, streptococcus ...etc.*). (Collins *et al.*, 1993 ; Ho *et al.*, 2007).

La classification des bactéries lactiques peut se faire aussi selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. (Vandamme., 1996 ; Stiles et Holzopfel., 1997 ; Ho *et al.*, 2007).

Tableau 01 : Principaux Genres de bactéries lactiques (Matamoros, 2008).

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L(+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétéro-fermentaire	D(-), L(+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Ln. mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Oe. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L(+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L(+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D(-)	<i>We. viridescens</i>

1.4- Caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries possèdent une réponse positive à la coloration de Gram, immobiles, asporulées, au point de vue enzymatique catalase et oxydase et nitrate réductase négative, anaérobies ou aéro-tolérantes (Laurent *et al.*, 1998). Les bactéries lactiques ont des formes différentes des cocci ou des bâtonnets (Bourgeois et Larpent, 1996). Elles ont des besoins complexes en facteur de croissance : vitamine B, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques. Certaines B.L ont été isolées de nombreux milieux naturels végétaux et animaux tels que le lait cru, l'environnement, les cavités bucales et vaginales (Luquet, 1986). Elles se caractérisent par un métabolisme exclusivement fermentaire qui les conduit à produire à partir du glucose des quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO₂, autres acides organiques). Elles ont une capacité de biosynthèse faible et formes différentes (Luquet, 1986).

I.5- Classification

La première classification des B.L basée sur les propriétés observables à savoir les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques a été établie en **1919 par OrlaJensen**. Les marqueurs chimio-taxonomiques tels que les compositions des acides gras et les constituants de la membrane cellulaire, ont été aussi utilisés pour la classification (Krieg, 2001). Les nouvelles techniques pour l'identification et la classification des B.L remettent couramment en cause et/ou complètent les approches phénotypiques anciennement utilisées (Garrity *et al.*, 2008), qui sont pour identifier les espèces à l'intérieur des genres (Vandamme, 1996; Stiles et Holzopfel, 1997; Ho *et al.*, 2007; Hadaf, 2012).

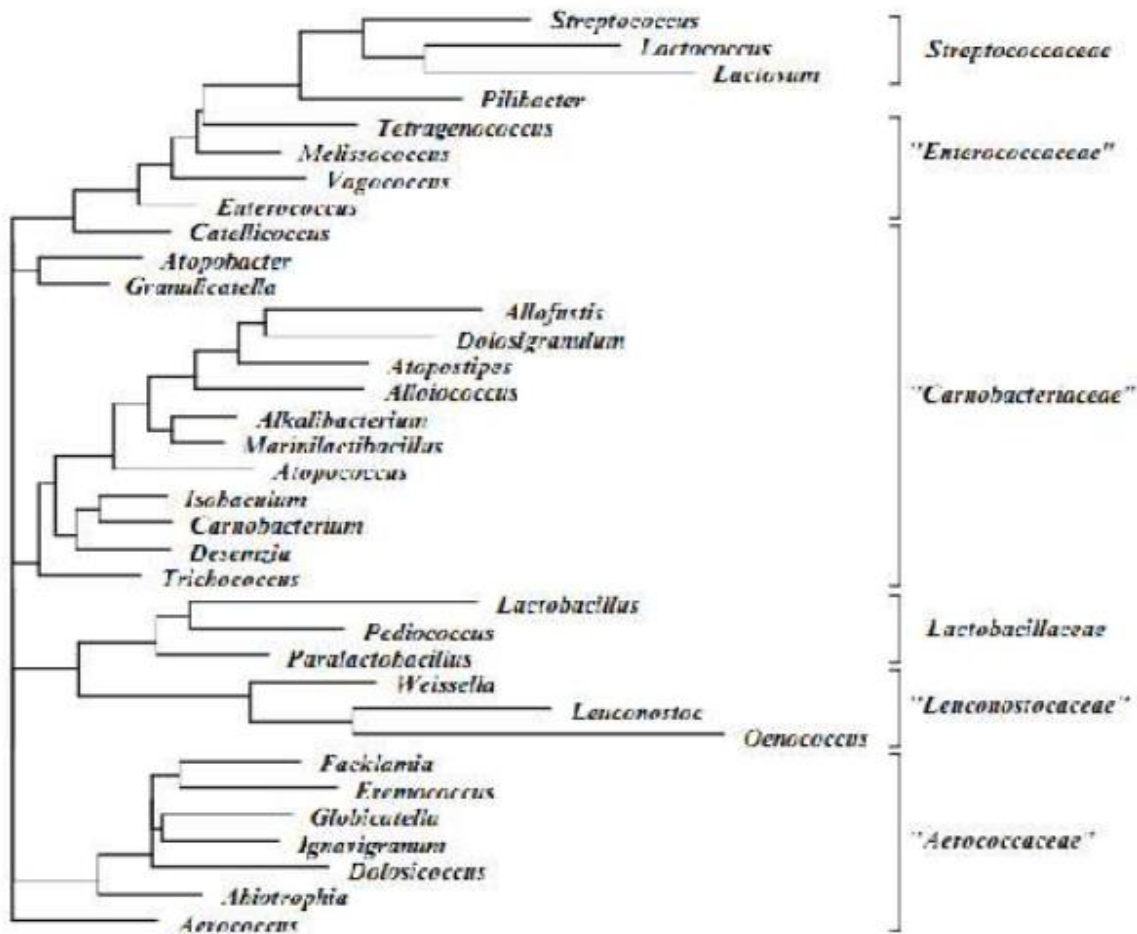


Figure 01: Arbre phylogénétique des principaux genres des bactéries lactiques de l'ordre Lactobacilles (De Vos *et al.*, 2009).

1.5.1- Les principaux genres des bactéries lactiques

Actuellement, les bactéries lactiques regroupent onze genres différents (Suttract et al., 1998). *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactobacoccus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *vagococcus* et *Bifidobacterium*.

Tableau 02 : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi M, 2005).

Genre	Morphologies	Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacillus	Homofermentaire ou Hétérofermentaire	Thermophilus ou mésophiles	Homme, Produits laitiers, carnés, végétaux...
<i>Carnobacterium</i>	Bacillus	Hétérofermentaire	Psychotropes, peu acidotolérants	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles, croissance à 10°C et non à 45°C	Produit laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles	Produit laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10°C, thermorésistance	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halotolérants	Bière, produits végétaux, saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halophiles	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits végétaux, produits laitiers
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers (Boudjema 2008)

1.5.2- Croissance des souches lactiques d'intérêt (température optimales de croissance)

La température influence de façon importante le métabolisme des bactéries car elle intervient dans la catalyse de nombreuses enzymes. Les BL regroupent des espèces mésophiles, dont la température optimale de croissance est proche de 30°C, et des espèces thermophiles, dont la température optimale est proche de 42°C. Le genre *Lactobacillus* comprend à la fois des

espèces mésophiles (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*....) et des espèces thermophiles (*Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*....) (Monnet et al., 2008). La température optimale de croissance est généralement inférieure à la température optimale de production d'acide lactique (Béal et al., 1989) mais, supérieure à la température préconisée pour la production de bactériocine (Lejeune et al., 1998). Quand la température du milieu se situe en haut ou en bas de température requise pour la croissance optimale, l'activité microbienne est réduite et le microorganisme peut éventuellement se détruire (Rosso et al., 1995).

Les valeurs de température optimale de croissance des principaux genres des BL sont présentées dans le tableau 03

Tableau 03 : Températures optimales de croissance des bactéries lactiques.(Monnet et al.,2005)

Genre ou espèce	Températures optimales
<i>Carnobacterium</i>	22 -30 °C
<i>Leuconostoc</i>	18-30 °C
<i>Vagococcus</i>	25-30 °C
<i>Lactococcus</i>	27-32 °C
<i>Pediococcus</i>	25-40 °C
<i>Lactobacillus</i> (mésophiles)	30-35 °C
<i>Enterococcus</i>	30-40 °C
<i>Streptococcus thermophilus</i>	42-43 °C
<i>Lactobacillus</i> (thermophiles)	40-45 °C

1.6- Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques thermophiles

Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnelle, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments (Luquet, 2005).

1.6.1 Les glucides

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes.

Premièrement, le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire. Deuxièmement, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides (Desmazeaud, 1983).

Deux types de métabolismes fermentaires sont rencontrés. Un métabolisme aboutit de façon quasi-exclusive à la production d'acide lactique (caractère homofermentaire). L'autre peut produire de l'acide lactique, mais également de l'éthanol et de l'acide acétique suivant les conditions de cultures (caractère hétérofermentaire)

1.6.2 L'azote

Les bactéries lactiques exigent aussi l'apport exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables, pour la plupart, d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple (Desmazeaud, 1983).

Elles ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres, ou des peptides courts (peptidases, dipeptidases). Leur nutrition azotée exige donc l'hydrolyse des grandes protéines du lait, et notamment les caséines, par des enzymes (les protéases) situées dans la paroi extérieure de la cellule (Desmazeaud, 1998).

1.6.3 Les vitamines

Les vitamines jouent dans le métabolisme cellulaire le rôle irremplaçable de coenzyme. Les bactéries lactiques sont, à quelques exceptions près, incapables de synthétiser des vitamines (Dellaglio et *al.*, 1994), d'où l'importance d'un apport exogène de vitamines au milieu de culture (Holzapfel et *al.*, 2001).

1.6.4 Les minéraux

La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes (Brennan et *al.*, 2002).

Du point de vue transport, le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules chelatrices. Il augmente la croissance et la production d'acide

lactique pour les streptocoques et une carence en cet élément donne lieu à une diminution de ce même acide (Monnet et *al.*,2008).

Le potassium K, quant à lui, est un cofacteur pour plusieurs enzymes bactériennes et un niveau élevé de K⁺ dans le cytoplasme est requis pour la synthèse protéique. De plus, le système du K apparaît être très important pour contrôler le pH cytoplasmique (Desmazaud, 1983).

1.6.5 L'oxygène

Les bactéries lactiques sont communément appelées micro aérophiles. Ainsi, elles tolèrent de petites quantités d'oxygène, mais de trop grandes teneurs en ce gaz peuvent leur être néfaste. La relation des bactéries lactiques avec l'oxygène a probablement un lien avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit dans la cellule en présence d'air. Il faut éliminer le H₂O₂, car son accumulation devient toxique.

I.7- Streptococcus thermophilus : un streptocoque atypique

I.7.1- Généralités :

S.thermophilus est l'une des bactéries lactiques thermophiles, largement employées en tant que levain dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés tel que le yaourt (**en culture mixe avec *lb.bugaricus***) et es fromages a pate cuite (**en culture mixe avec *lb.helveticus***), notamment la mozzarella (Hols et *al.* .2005 ;Delorme , 2008). Elle est connue par une forte production d'arôme tel que l'acetaldehyde , et par sa capacité de produire l'acide folique et des exopolysaccharide (chaves et *al.* 2002 ; delorme , 2008) . cette espèce est caractérisée par l'utilisation du glucose seul à partir du lactose, ayant pour résultat des produits fermentes contenant du galactose résiduel (Hols et *al.* . 2005) .

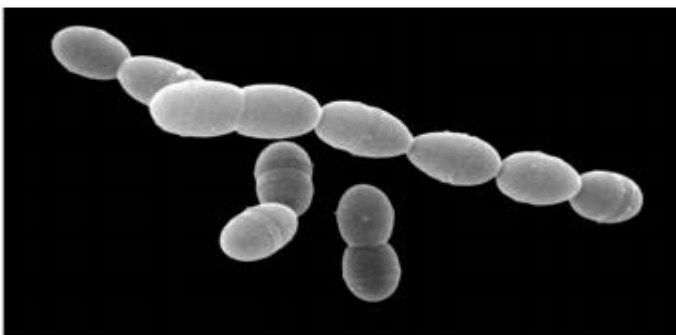


Figure 02 :- Morphologie cellulaire de *S.thermophilus* observée par microscopie electronique (Durso et Hutkins , 2003)

S.thermophilus est la seule espèce non pathogène du genre streptococcus, appartenant au groupe des bactéries ayant un intérêt industriel et nutritionnel reconnu sous le nom GRAS (generally recognized as safe) (Dellaglio et al .1994 ;Hols et al.2005) . Pourtant, elle est liée à d'autres streptocoques pathogènes tels que *S. pneumoniae* et *S.pyogenes* . Les gènes de virulence (VRGs) sont absents du génome de *S. Thermophilus* ou sont présents seulement comme pseudo gènes (Hols et al.2005) .

S.Thermophilus possède un pourcentage en G+C (37-40 %) proche de celui des *enterocoques* et des *lactocoques* (Dellaglio et al.1994). Des études moléculaires portant sur le séquençage du gène ARNr 16S ont démontré que *S.thermophilus* est une espèce très distincte des *S.salivarius* et des *entérocoques* (Delorme, 2008).*S.thermophilus* appartient au groupe des « streptocoques viridans ». Ce groupe est subdivisé en cinq sous-groupes qui sont :

- (i) le groupe des mutans ;
- (ii) le groupe des sanguins ;
- (iv) le groupe des mitis et (v) le groupe des salivarius (Fecklam, 2002).

Toutes les espèces du groupe « streptocoques viridans » sont commensales, elles sont trouvées dans les cavités buccales, gastro intestinales et dans les tractus génitaux des mammifères (Fecklam,2002) , à l'exception de *S.thermophilus* . Cette espèce appartient au groupe des salivarius. Ce groupe comprend à son tour trois espèces, *S.salivarius* ,*S.vestibularis* et *S.thermophilus* . Cette espèce diffère des autres coques lactiques homofermentaires par des caractères majeurs, telle que son incapacité à fermenter le maltose et à hydrolyser l'esculine.

1.7.2-Propriétés métaboliques et physiologiques de *S. thermophilus*

1.7.2.1 Métabolisme des sucres

La fonction première de *S. thermophilus* dans la fermentation des produits laitiers industriels est la conversion du lactose en lactate à des températures élevées. Cette espèce a une capacité limitée à utiliser les hydrates de carbone. Seulement cinq différents sucres sont fermentés par *S. thermophilus* : le glucose, le lactose, le saccharose, le galactose et le fructose. Ce dernier est utilisé par un nombre limité de souches. *S. thermophilus* préfère le lactose au glucose comme première source de carbone et d'énergie. Il co-métabolise le saccharose et le lactose, en utilisant un système Phosphotransférase (PTS) et un non-PTS substrat respectivement. L'utilisation de ces hydrates de carbone n'est pas hiérarchiquement contrôlée. *S. thermophilus* est incapable de métaboliser le galactose, qui est expulsé dans le milieu au cours du

catabolisme du lactose (Mora et *al.* 2002; Vaillancourt et *al.* 2004). Les gènes impliqués dans le métabolisme du galactose et du lactose sont situés sur un seul locus, sur le chromosome de *S. thermophilus*, dans l'ordre lac SZ et gal MKTE (Vaillancourt et *al.* 2004; van den Bogaard et *al.* 2004).

Dans la littérature (Bolotin et *al.* 2004 ; Hols et *al.* 2005), 10% des gènes de *S. thermophilus* sont non-fonctionnels ou possèdent une faible activité, ils sont appelés pseudo- gènes. En outre, la grande majorité de ces gènes est dédiée pour le transport des sucres dont quatre codants pour les systèmes PTS, qui sont pseudo- gènes chez *S. thermophilus* à savoir: ptsG (glucose), fruA (fructose), bglP (β - glucoside) et trP (tréhalose).

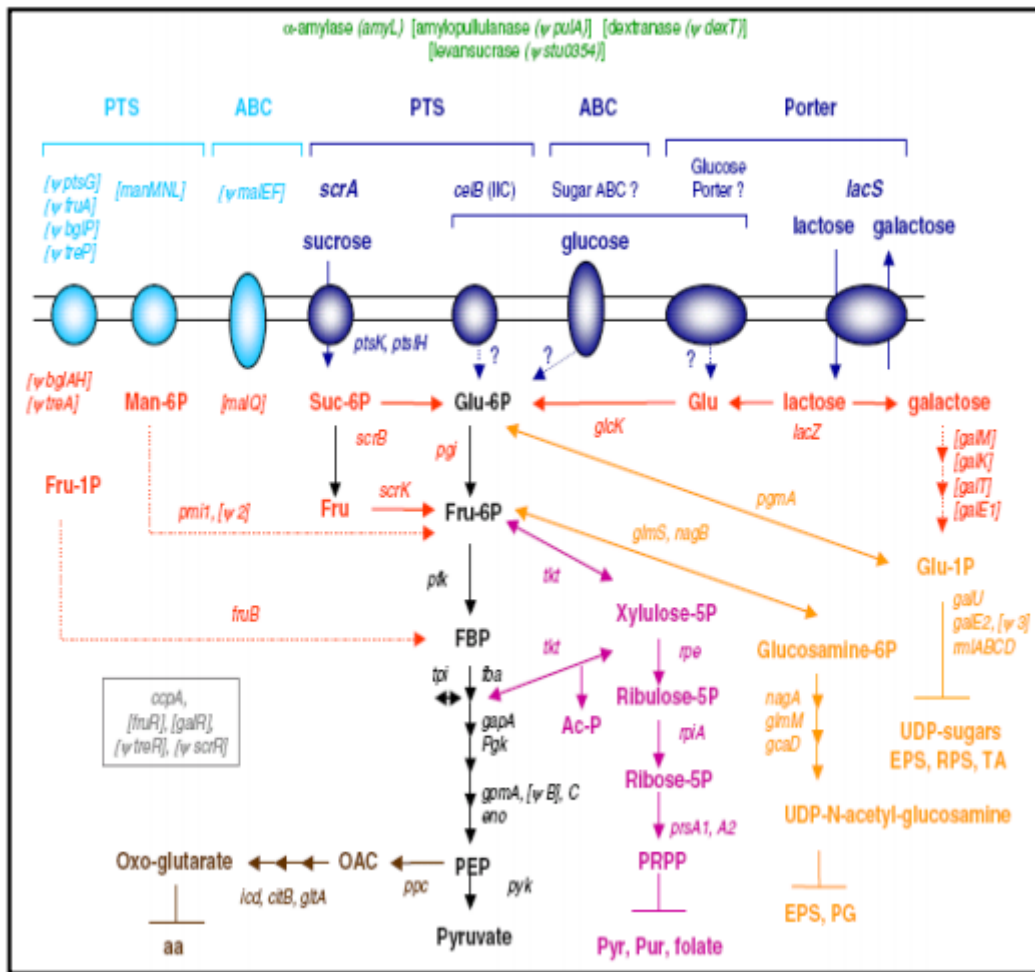


Figure 03 :-Principales voies du métabolisme des sucres chez *S. thermophilus* (Hols et al. 2005).

→ Les flèches en trait continu correspondent à une activité enzymatique active.
 ----> Les flèches en trait discontinu correspondent à une activité enzymatique inactive.
 Les gènes entre parenthèses sont des pseudo- gènes (ψ ou -tr).

- métabolisme des carbohydrates complexes,
- catabolisme des sucres
- glycolyse
- biosynthèse de nucléotide,
- voie phosphate de pentose
- régulation du métabolisme des sucres
- biosynthèse d'Oxoglutarate

Bien que la plupart des souches de cette espèce poussent faiblement sur le glucose, des recherches ultérieures réalisées ont révélé la présence des deux systèmes PTS du glucose (glu-PTS) chez *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius* :

- Le premier système appelé man-PTS catalysant la phosphorylation PEP dépendante du glucose, du mannose et du fructose ;
- Le second système appelé glu-PTS spécifique au glucose et l' α - méthylglycoside.

En plus des activités PTS, *S. mutans* et *S. sanguis* possèdent des mécanismes de transport actif, ATP- dépendants permettant l'accumulation du glucose dans la cellule (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

Chez les streptocoques thermophiles, le lactose est transporté dans la cellule par l'intermédiaire d'une perméase (LacS), et son métabolisme comprend l'hydrolyse par la β -galactosidase (LacZ), puis le catabolisme en glucose et en galactose selon les voies de la glycolyse et de Leloir respectivement. Par ailleurs, le transport du lactose est facilité par un mécanisme de transport secondaire impliquant deux modes :

1. le système galactoside-proton (Lactose/H⁺), si la bactérie est mise en culture dans un milieu contenant du lactose grâce à la force proton motrice.
2. le système antiport lactose/galactose indépendant de la force proton motrice pour rejeter le galactose issu de l'hydrolyse du lactose dans le milieu externe, car la plupart des souches de *S. thermophilus* sont de phénotype galactose négatif (gal-) (Poolman, 1993; Konings et al. 1994; Vaillancourt et al. 2004). La culture en batch limitée en lactose a révélé que certaines souches de *S. thermophilus* utilisent le galactose, de manière incomplète (Petit et al. 1991) et par la mesure de l'activité enzymatique.

Chez *S. thermophilus*, la régulation du métabolisme des sucres a été étudiée par (Hemme et al. 1980). Le pH est un facteur prépondérant de régulation, il module l'activité de l'hexokinase.

1.7.2.2 Activité protéolytique

S. thermophilus contient un système protéolytique similaire à celui trouvé chez d'autres bactéries lactiques. Il est composé : (i) d'une protéase extracellulaire capable d'hydrolyse la caséine, (ii) d'un ensemble de systèmes de transport d'acides aminés et de peptides, (iii) d'un ensemble de peptidases intracellulaires impliquées dans l'hydrolyse des peptides dérivés de la caséine et l'entretien du métabolisme domestique (**house-keeping**) (Hols et al. 2005). Bien

que *S. thermophilus* soit potentiellement équipé de plus de 20 enzymes protéolytiques, son système protéolytique reste mal caractérisé (Iyer et al. 2010).

S. thermophilus possède une protéase extracellulaire "PrtS" liée à la paroi cellulaire. La PrtS est présente dans seulement quelques souches de *S. thermophilus* et sa présence est associée à une croissance et un taux d'acidification rapide dans le lait. La PrtS est essentielle pour la croissance optimale des *S. thermophilus* lorsqu'ils sont cultivés seuls dans le lait. Toutefois, en cas de co-culture avec *Lb. bulgaricus* protéinase-positif, *S. thermophilus* est capable de croître de façon optimale en utilisant les peptides libérés par *Lb. Bulgaricus* (Courtin et al. 2002). Cette coopération pourrait expliquer l'absence de PrtS dans de nombreuses souches de *S. thermophilus* (Hols et al. 2005).

1.7.2.3 Métabolisme des acides aminés

Le lait contient une faible quantité d'acides aminés et de peptides et la croissance optimale de *S. thermophilus* dans le lait nécessite :

- soit une dégradation de la caséine en peptides et en acides aminés,
- soit la biosynthèse de nouveaux acides aminés nécessaires à cette croissance.

La conservation relativement élevée des gènes fonctionnels dans la biosynthèse des acides aminés dans *S. thermophilus*, pourrait refléter l'importance de la synthèse des acides aminés pour la croissance dans le lait. Ceci est compatible avec la fréquence faible des pseudo- gènes associés à la biosynthèse des acides aminés (Hols et al. 2005 ; Iyer et al. 2010).

L'activité glutamate déshydrogénase qui produit par trans-amination des acides aminés, le α -keto-glutarate un composé aromatique, très répandue chez les souches de *S. thermophilus* par rapport à d'autres bactéries lactiques, mais le niveau de l'activité est souche- dépendante. En outre, des dérivés de composés aromatiques de la leucine, la phénylalanine, et la méthionine sont également produits par cette activité (Helink et al. 2004). L'arôme typique du yaourt est principalement l'acétaldéhyde, il est essentiellement produit par le catabolisme des acides aminés (Ogawa et al. 2000; Chaves et al. 2002). En effet, la production d'acétaldéhyde s'effectue de deux manières, soit directement du métabolisme du lactose par la décarboxylation du pyruvate, soit indirectement par la conversion des acides aminés en passant par le pyruvate. Dans le cas de *S.thermophilus*, la thréonine et la glycine peuvent directement être converties en acétaldéhyde par l'activité de la thréonine aldolase (Ott et al. 2000; Chaves et al. 2002).

1.7.2.4 Activité uréasique

Le lait contient naturellement des quantités variables en urée (0,2-0,4g/L). Cette quantité peut altérer le processus de fermentation dans l'industrie laitière. Ce qui pourrait engendrer des risques imprévisibles d'acidification et augmenter le risque de contamination (Monnet et al. 2005) La dégradation de l'urée produit de l'ammoniac, qui agit comme un tampon provoquant une diminution temporaire de la vitesse d'acidification et une augmentation du temps de fermentation. Cette réaction affecte en quelque sorte la texture et l'humidité des produits fermentés. Un retard dans l'acidification pourrait augmenter le coût du processus de fermentation dans l'industrie laitière qui se traduit par une augmentation du risque de contamination.

S. thermophilus est la seule bactérie lactique qui possède une activité uréasique. Autrement dit, qui possède une enzyme appelée uréase qui convertit l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone (CO₂). La production de l'uréase par *S. thermophilus* a été considérée comme préjudiciable à tout ce qui a trait à la production du yogourt et du fromage (Monnet et al. 2005).

Des chercheurs travaillant sur ce sujet ont pu caractériser les gènes responsables de cette activité uréasique. (Mora et al. 2004 ; Iyer et al. 2010).

L'identification des gènes responsables dans l'activité uréasique semble être d'une grande importance permettant de mieux relever le défi de l'acidification qui cause un certain problème à l'échelle industrielle (Chen et al. 2000 ; Mora et al. 2005).

1.7.2.5 Biosynthèse des folates

Le folate est un composé nutritionnel très important. Il est impliqué dans plusieurs voies métaboliques, principalement la biosynthèse des bases purines et pyrimidine et dans l'inter-conversion des acides aminés. Le déficit en folate chez l'homme provoque plusieurs problèmes, tels que le cancer, les maladies cardio-vasculaires et des anomalies du tube neural chez le nouveau-né. L'apport exogène d'acide folique est nécessaire pour prévenir les carences nutritionnelles (Ames, 1999). *S. thermophilus* est une espèce spécifique capable de produire une grande quantité de folate (excrété dans le lait) comparativement aux autres bactéries lactiques (Crittenden et al. 2003). La présence de *S. thermophilus* dans le lait augmente considérablement la quantité du folate pendant la fermentation. Cependant, chaque souche de *S. thermophilus* produit une quantité différente en acide folique. Certaines souches retiennent le folate à l'intérieur de la cellule, tandis que d'autres le secrètent complètement à

l'extérieur de la cellule. Les quantités du folate formées dans le yogourt varient de 2 à 15 µg par 100g, ce qui représente la dose journalière recommandée en acide folique

1.7.2.6 Production de bactériocines

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites entre-autres, les bactériocines qui sont des métabolites aux propriétés antibactériennes. Il s'agit de peptides ayant la capacité d'inhiber la croissance des bactéries pathogènes. Les souches de *S. thermophilus* produisent des bactériocines connues sous le nom de thermophiline. Ces bactériocines sont thermostables et actives à différents pH contrairement à une bactériocine appelée la nisine (elle n'est pas utilisée dans les aliments acides). Les bactériocines issues de *S. thermophilus* sont considérées comme sécuritaire en raison de leur statut GRAS (**Generally Recognized As Safe**) . Seulement cinq (05) sur 347 bactériocines de différentes souches de *S. thermophilus* ont été caractérisées à savoir :

- a. Thermophiline A (Ward et SomKuti, 1995).
- b. Thermophiline T, produite par des souches isolées du fromage "Feta" (Aktypis et *al.* 1998).
- c. Thermophiline 13, une bactériocine séquencée (Marciser et *al.* 1997).
- d. Bactériocine de *S. thermophilus* 81 qui a un large spectre d'inhibition (Ivanova et *al.* 1998).
- e. Bactériocine produite par la souche *S. thermophilus* Adria 91 L 580, isolée à partir d'un fromage à pâte dure inhibe le *Clostridium tyrobutyricum*.

1.8-Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques (Ait-Belgnaoui et *al.*, 2005), leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre de coccobacilles aux bacilles fines et allongés .On rencontre des *Lactobacillus* dans la flore intestinale et la flore vaginale.

Selon (Desmazeaud , 1998) Le genre *Lactobacillus* se subdivise en trois groupes:

•**Groupe1** :*Thermobacterium*

•**Groupe2** :*Streptobacterium*

•**Groupe3** :*Betabacterium*

Les *lactobacilles* sont des bacilles Gram positif, non mobiles, non sporulant, se développant dans des conditions micro aérophiiles à strictement anaérobies. Bien que certains travaux aient

révéla la présence d'une catalase chez certaines souches de *Lactobacillus delbrueckii Subsp.bulgaricus*, les lactobacilles ne présentent généralement pas d'activité catalase. Ces bactéries lactiques se divisent en deux groupes homo et hétérofermentaires .

Parmi les *Lactobacillaceae*, les espèces laitières les plus importantes sont : *Lactobacillus casei*, *Lb bulgaricus*, *Lb helveticus*, *Lb plantantarum* (Dubernet et al., 2008).

Ces levains sont ajoutés au lait après la pasteurisation qui a détruit les bactéries présentes éventuellement pathogènes. Ils sont sous forme liquide, coagulés ou lyophilisés. L'importance d'un bon développement des levains lactiques et par leur degré d'acidification lactique conforme sans post-acidification. Les bactériophages constituent l'une des causes les plus importantes de perturbation de cette acidification et de l'égouttage, participation à l'obtention d'affaissement du fromage par une protéolyse accentuée et à l'ouverture des pâtes (Magnusson et al., 2001).

1.8.1 Métabolismes des lactobacilles

1.8.1.1 Métabolisme des sucres

Comme il est mentionné plus haut, les lactobacilles utilisent généralement pour le métabolisme des sucres soit la voie d'Embden-Meyerhof Parnas (EMP) soit la voie des pentoses-phosphate. La première, et peut-être la plus importante étape consiste dans le transport des carbohydrates jusqu'à la membrane cytoplasmique et leur accumulation ultérieure au niveau du cytoplasme. Cela dit, la plupart des cultures starter ne possèdent pas de système phosphotransférase (PTS) pour le métabolisme du lactose, et sont contraintes d'utiliser un système lactose perméase/ β -galactosidase (lac-Perm/ β -gal) pour le métabolisme de ce sucre (Hutkins, 2001).

1.8.1.2 Activité protéolytique

Les *lactobacilles* sont auxotrophes à plusieurs acides aminés et doivent obtenir les acides aminés nécessaires du milieu où ils croissent. La quantité d'acides aminés et de peptides de petit poids moléculaire présents dans le lait ne suffisent pas à une grande densité microbienne, et pour contrer cela, les espèces du genre *Lactobacillus* ont besoin d'un système de protéolyse pour tirer le maximum d'acides aminés de la caséine (Chen et J. et al, 2004). A l'inverse des *lactocoques*, le système de protéolyse des *lactobacilles* est très peu étudié. Toutefois, les voies métaboliques empruntées par ces deux genres bactériens semblent relativement proches. La protéolyse est cependant plus prononcée pour les lactobacilles (Marilley et Casey, 2004). L'intérêt porté à l'étude de l'activité protéolytique des lactobacilles s'est développé

rapidement, ceci est dû à la découverte de plusieurs espèces de ce genre considérées comme des cultures non-starter dans différents fromages à pâte dure (Fira *et al.*, 2001). L'activité protéolytique peut se résumer en trois points essentiels. Le premier consiste en l'hydrolyse de la caséine en une large collection de peptides. Dans la seconde étape, les peptides sont transportés dans la cellule par l'un des plus importants systèmes de transport. Une fois à l'intérieur, les peptides sont ensuite hydrolysés par un large groupe de peptidases en acides aminés libres qui seront soit métabolisés en protéines, soit assimilés (Hutkins, 2001).

Tableau 04 : Principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière. *Lb.* : *Lactobacillus*. (Kandler *et al.*, 1986)

Espèces	Fermentation du lactose	Croissance		
		A 15°C	A 45°C	
<i>Lb. helveticus</i>	Homofermentaire	-	+	Thermophile
<i>Lb. delbruekii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>		-	+	
<i>Lb. delbruekii</i> subsp. <i>lactis</i>		-	+	
<i>Lb. acidophilus</i>	Hétérofermentaire	-	+	Mésophile
<i>Lb. casei</i>		+	-	
<i>Lb. plantarum</i>		+	-	
<i>Lb. kefir</i>		+	-	
<i>Lb. brevis</i>		+	-	
<i>Lb. fermentum</i>		-	+	Thermophile

1.8.2 Potentiel technologique des lactobacilles

1.8.2.1 Propriétés technologiques des lactobacilles

Les *lactobacilles* sont utilisés dans plusieurs domaines dont la manufacture des produits laitiers comme cultures starters, ils participent aussi dans la fabrication du pain, les ensilages, et sont aussi proposés comme biopréservant naturels dans les produits non fermentés (De Angellis et Gobetti, 2004). Leur métabolisme fermentaire leur permet, une fois, dans un produit donné d'abaisser le pH de celui-ci. Par cette chute du pH l'aliment est protégé du fait de l'inhibition des bactéries putréfiantes, en plus de ça, les lactobacilles augmentent la valeur nutritive de l'aliment auquel elles sont ajoutées ; ceci est dû encore une fois à la

production d'acide lactique qui par diminution du pH provoque la libération des acides aminés essentiels et de vitamines (Slover et Danziger et Danziger, 2008).

1.8.2.2 Affinage des fromages

L'affinage est étroitement relié à la production de protéases et d'autres enzymes. Ces enzymes doivent être produits en quantité suffisante afin de libérer les différentes textures et le maximum d'arômes attribués aux différents types de fromages. L'activité des peptidases est plus importante que celle des protéinases (Visser et *al.*, 1983). Par exemple, les peptidases des lactobacilles utilisés en culture starter, hydrolysent les peptides (incluant ceux liés à l'arôme) en contribution avec d'autres enzymes microbiennes, produisent un environnement idéal au développement d'un arôme typique du cheddar (Trepanier et *al.*, 1991 et Hassan et Frank, 2001).

1.8.2.3 Fabrication du yaourt

1.8.2.3.1 Acidification

Le yaourt est fabriqué grâce à l'association de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*. Ces organismes croissent en symbiose qui en résulte une rapide acidification. La présence de lactobacilles stimule la croissance de *S.thermophilus* en libérant des acides aminés et des peptides de la caséine (Rajagopal et Sadine, 1990). En retour les streptocoques stimulent la croissance des lactobacilles en absorbant l'oxygène, en abaissant le pH et en produisant de l'acide formique et du pyruvate (Radke-Mitchell et Sandine, 1984). Certains yaourts contiennent en plus de ces deux microorganismes, d'autres bactéries qui peuvent intervenir soit pour l'aromatisation, soit pour la texture (points discutés ultérieurement), soit autant que compléments afin de rendre l'aliment fonctionnel ces bactéries probiotiques interviennent dans l'établissement d'un équilibre de la flore intestinale du consommateur, en peut en citer : *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. johnsonii*. L'incorporation de bactéries probiotiques se fait dans différents produits agroalimentaires, mais l'industrie laitière reste la plus utilisée autant que véhicule pour l'administration de probiotiques, et le yaourt représente l'élément far de ce groupe (Lourens- Hatting et Viljeon 2001; Tamime et *al.*, 2005 et Damini et *al.*, 2007)

1.8.2.3.2 Aromatisation

L'arôme idéal d'un yaourt est un mélange équilibré de l'acidité et de l'acétaldéhyde. Ce processus est réalisé lors de la sélection des souches, de l'équilibre entre les bacilles et les cocci et lors du contrôle de la fermentation. La source principale de l'acétaldéhyde provient

de la conversion de la théorine en acétaldéhyde, cette réaction est catalysée par la théorine aldolase de *Lb. delbruekii subsp bulgaricus* (Hickey et al., 1983). Certains lactobacilles comme *Lb. acidophilus*, produisent de l'alcool déshydrogénase, cette dernière convertie l'acétaldéhyde en éthanol (Marshall et Cole, 1983).

1.8.2.3.3 Texture

Le yaourt a une texture qui est déterminée par le traitement thermique sur la matrice du lait de base et par les cultures starter (Sodini et al., 2004 et Damini et al., 2007). La texture d'un yaourt est la résultante d'une interaction complexe entre les protéines du lait, sont acidité et entre les polysaccharides exocellulaires produites par les cultures starter (Hassan et al., 1995). Les propriétés les plus recherchées sont la finesse, la douceur et la viscosité. Les cultures starter peuvent influencer chacune de ces propriétés par la production d'exopolysaccharides, ces dernières sont produites soit sous forme de fibres soit sous, forme de capsules (Ariga et al., 1992).

1.8.2.4 Biopréservation des produits laitiers

De par leur métabolisme, les lactobacilles agissent comme éléments protecteurs de la qualité hygiénique et sanitaire des produits laitiers qu'ils colonisent et ainsi augmenter la durée de vie de celui-ci. Cette protection s'effectue soit grâce à la production d'acides organiques qui en réduisant le pH du milieu inhibent la plupart des bactéries pathogène dont la majorité est neutrophile, soit par compétition pour les nutriments ou soit grâce à la production de substances dites bactériocines (Mami, 2007).

1.9 Interactions entre les souches bactériennes :

1.9.1- Définition

L'interaction tout comme le métabolisme est un caractère fondamental du vivant. Prenant des formes diversifiées, ces interactions entre microorganismes qui interfèrent non seulement entre eux mais aussi avec des plantes et des animaux, expliquent la coexistence des espèces, leurs distributions, leurs productivités et leurs capacités de résistance et de résilience. L'ensemble de ces interactions gouverne la structure des communautés microbiennes et leur activité (Hadeif, 2012). Evoluant en fonction des souches qui y sont associées et de leurs propriétés physiologiques, les interactions sont étroitement liées aux conditions environnementales (parmi eux, les facteurs nutritionnels prennent une place importante). Selon quelles soient bénéfiques ou conflictuelles, les interactions sont généralement classées en deux catégories : interactions positives, se caractérisant par la stimulation d'un ou de

plusieurs microorganismes et interactions négatives correspondant au phénomène d'inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Hadeif, 2012). Les interactions qui impliquent un contact physique direct entre deux populations de microorganismes, sont dites « interactions directes », sinon, elles sont dites « indirectes » si elles utilisent des métabolites extracellulaires.

1.9.2- Les différents types d'interactions

Quand les microorganismes établissent des échanges gagnant – gagnant, on parlera ici d'interactions positives ou bénéfiques. Cependant, si l'interaction est néfaste sur un ou plusieurs partenaires, on parle dans ce cas d'interactions négatives, conflictuelles ou de compétition.

1.9.3- Interactions positives

Aussi dites interactions de coopération, elles surviennent lorsqu'il y a stimulation de la croissance d'une espèce bactérienne suite à la production ou la libération de métabolites particuliers dans le milieu (acide lactique, arômes...) par une autre espèce. Elles peuvent avoir pour origine la modification des substrats (en particulier des sources azotées) ou des conditions du milieu (changement du pH, élimination des facteurs d'inhibition, etc.) (Juillard., 1987). Un bon exemple de ce type d'interaction est retrouvé chez les souches utilisées pour la production de yogourt.

Plusieurs exemples possibles de coopération sont décrits. Les principales sont des interactions de type commensalisme et mutualisme (symbiose et protocoopération).

1.9.3.1 Commensalisme

C'est une interaction biologique à bénéfice non réciproque, où l'un des partenaires n'a aucun effet sur l'autre mais profite de sa présence (Guennoc, 2017). Ce profit peut avoir lieu si un des partenaires produit une substance nécessaire pour la croissance de l'autre ou consomme une substance inhibitrice de la croissance de l'autre. Ici, un des partenaires retire un bénéfice de l'association tandis que l'autre n'y trouve ni avantage ni véritable inconvénient (Van de Meer, 1993).

1.9.3.2 Mutualisme

Dans ce type d'interaction, chaque partenaire est stimulé par la présence de l'autre. On parle alors d'une relation à bénéfice réciproque. Ce phénomène d'association entre deux espèces vivantes est indispensable voire obligatoire pour la survie des deux populations (cas de symbiose), contrairement à la protocoopération qui présente un caractère facultatif.

1.9.4 Interactions négatives

Elles désignent une lutte réciproque de deux populations par la production de molécules inhibitrices contre la flore compétitive y compris les bactéries pathogènes et d'altération. Le phénomène d'inhibition peut être relié à un ou plusieurs mécanismes : compétition nutritionnelle, changements physicochimiques du milieu et formation de produits antimicrobiens : acides organiques, peroxyde d'hydrogène et bactériocines (Al Atya, 2016).

Dans ce type d'interactions, il convient de parler : d'amensalisme, de compétition, de parasitisme et de prédation.

1.9.4.1 Amensalisme

L'amensalisme est une interaction biologique interspécifique (entre deux espèces différentes) dans laquelle une des deux espèces par son comportement ou son métabolisme produit des substances inhibitrices ayant un effet négatif sur la croissance de l'autre sans frais ou avantages reçu par lui-même. Toutefois, l'amensalisme n'est ni une compétition, ni un antagonisme (prédation), ni du parasitisme.

1.9.4.2 Compétition

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

1.9.4.3 Parasitisme et prédation

Le parasitisme est une interaction entre deux organismes par laquelle le parasite se nourrit aux dépens de son hôte. C'est une interaction durable et obligatoire à au moins un stade de sa vie, au cours de laquelle le parasite utilise l'hôte comme son habitat lui permettant de s'abriter, de trouver les nutriments nécessaires à sa survie et à sa reproduction tout en ayant généralement un impact négatif sur son hôte. Dans le cas de la prédation, une espèce tire profit tandis que l'autre est tuée.

1.9.5 Neutralisme

Dans ce cas précis, les espèces cohabitent dans le même milieu sans se prêter attention l'une à l'autres (aucune relation mutualiste ou concurrentielle). Cependant, ce genre d'interaction n'est possible que si aucun des substrats n'est limitant ou si les espèces ont des besoins nutritionnels totalement différents.

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

1.10- Culture bactérienne mixte

Les données de cette technique seront obtenues à l'aide d'un bioréacteur à membranes (BRM) spécialement conçu pour l'étude des cultures mixtes au sein duquel deux populations de micro-organismes partagent le même milieu de culture. Le suivi différentiel des deux populations en mélange nécessite l'usage de techniques de différenciation. La caractérisation est effectuée par comparaison des cinétiques de croissance avec celles observées lors de cultures pures.

1.11- Symbiose entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* :

Il existe une interaction favorable entre les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* pendant la production du yaourt. Cette interaction est dite protocoopération auparavant appelée symbiose. (Guyot, 1992) .

La température optimale de ces deux espèces étant voisine, la croissance en association est possible entre 41°C et 43 °C.

Les interactions résultant de l'association des deux souches spécifiques du yaourt jouent un rôle prépondérant dans la fabrication de ce produit.

L'acidification dépend dans une large mesure des relations symbiotiques, qui s'établissent entre les deux souches présentes est connu que l'association du *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se traduit par un effet synergique notable sur l'activité acidifiante.

Les *Lactobacillus bulgaricus* libèrent certains acides aminés (valine, histidine, glycine), ces acides aminés exercent un effet stimulant pour la croissance des souches *Streptococcus thermophilus*.

La souche *Lactobacillus bulgaricus* stimule la production d'acides par la souche *Streptococcus thermophilus*.

Le gain en production d'acides résulte vraisemblablement de l'action protéolytique du germe stimulant sur les protéines du lait car on peut obtenir un effet analogue en ajoutant au lait différentes combinaisons d'acides aminés, la souche *Streptococcus thermophilus* est stimulée par Méthionine, Glycine et histidine.

1ère phase:

Caractérisée par la croissance rapide des *Streptococcus thermophilus* ; la tolérance à l'O₂ et le pH du lait voisin à 6,6 favorisent le développement des *Streptococcus thermophilus* utilisant des faibles quantités d'acides aminés et peptides présents dans le lait permettant d'assurer le démarrage de leur croissance, en produisant l'acide lactique jusqu'à atteindre un pH = 4,2 à 4,3.

2ème phase:

Le pH acide 4,2 et 4,3 et le CO₂ libéré par les *Streptococcus thermophilus* lors de décarboxylation de l'urée présente naturellement dans le lait stimulent la croissance des *Lactobacillus bulgaricus* en utilisant certains composés issus de la fermentation des hydrates de carbone à savoir l'acide formique, acide pyruvique produite par les *Streptococcus thermophilus* .(Ebenezer et Vedamuthu ,1991)

Les *Lactobacillus bulgaricus* dégradent les caséines du lait en libérant les peptides nécessaires à la croissance des *Streptococcus thermophilus*, les *Streptococcus thermophilus* dominant le début de la fermentation (pH = 6,6) aussitôt que le pH, diminue à 5,2 les *Lactobacillus bulgaricus* commence à croître rapidement. (Ebenezer et Vedamuthu, 1991)

Cette coopération est achevée lorsque le pH= 4,4 où seules les, *Lactobacillus bulgaricus* se développent .Le résultat de cette symbiose entre les deux espèces est l'amélioration de la flaveur et la texture des produits finis. (Ebenezer et Vedamuthu, 1991)

Chapitre II
Les aptitudes
technologiques
Des bactéries
lactiques

2-Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques

2.1 Pouvoir acidifiant : La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mayra-Makinen et Bigret.,2004 ; Monnet et al.,2008). Afin de réaliser une caractérisation technologique des souches, il est utile de mesurer l'activité acidifiante (Chavvari,1983 ; Chamba et Prost.,1989). *L. lactis* subsp. *lactis*, ssp. *cremoris* et biovar. *diacetylactis*, sont les trois bactéries lactiques les plus fréquemment citées pour leurs aptitudes acidifiantes et leurs rôles majeurs dans la fermentation de certains aliments (Casalta ,1995 ; Lafarge , 2004).

2.2 Pouvoir protéolytique : Les bactéries lactiques ne sont pas capables de synthétiser les acides aminés nécessaires pour leurs survie donc elles ont besoin d'un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (Law et Haandrikman., 1997). L'activité de protéolyse des bactéries lactiques permet la catalyse de l'hydrolyse des protéines en peptides qui sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides. Des études effectuées sur la protéolyse du cheddar fait avec ou sans ferments lactiques ont démontré l'importance de la protéolyse pour la libération de petits peptides et d'acides aminés libres durant la maturation fromagère (Lynch. 1997; Lane et Fox., 1996; Farkey. 1995). Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor.2007 ; Monnet.2008 ; Roudj. 2009).

2.3 Pouvoir lipolytique : Les activités lipolytiques des micro-organismes sont importantes pendant les étapes de maturation de certains produits alimentaires, et ces activités contribuent généralement au développement de différents saveurs (Ortiz de Apodaka. 1993). Les Propriétés lipolytiques des bactéries lactiques sont généralement faibles et varient d'une espèce à l'autre. En effet, il a été démontré que les lactobacilles et *streptococcus thermophilus* présentent des activités lipolytiques faibles à comparer par les *lactocoques* qui eux sont considérés plus lipolytiques (Béal et al.,2008). D'une manière générale, on distingue les estérases qui hydrolysent les esters formés avec les acides gras à courtes chaînes; les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à longues chaînes; ces enzymes sont impliquées aussi dans l'hydrolyse de mono; di et triglycérides. On retrouve aussi les licéthinasés qui hydrolysent le complexe licéatine-viteline avec l'action des protéases (Béal.,2008; Serhan,2009).

2.4 Pouvoir texturant: La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (Welman et Maddox.,2003 ; Ruas- Madiedo.,2002). Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire. *Les Lb. delbrueckii* sp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, et augmenter la viscosité des produits finis (DurluÖzkaya. 2007 ; Aatayakul. 2006).

L'utilisation des EPS est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Ruas-madiedo. 2005).

2.5 Pouvoir aromatisant : Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés aromatiques qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétylesont les plus importants (Tamime., 1990). La production de diacétyle est généralement associée à la fermentation du citrate (Vignola., 2002). *Les lactobacilles (Lb. helveticus, Lb. bulgaricus)* synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (Vignola., 2002).

Les *Leuconostocs* hétérofermentaires sont souvent associés aux lactocoques dans la production de composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyle et acétoïne) (Mahaut. 2000).

3- Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie laitière

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques très diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité leur donne un grand intérêt industriel d'où leur large spectre d'application dans de nombreux domaines alimentaires, pharmaceutiques, agricultures, vétérinaires ...etc. (Streit. 2007).

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie alimentaire est déterminée par leurs propriétés technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activité acidifiante, et enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lypolytique), production de métabolites d'intérêt telle que la peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines (Belyagoub., 2014). De plus, ces bactéries contribuent à la texture (production des EPS), la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques qui participent aux qualités organoleptiques des fromages par exemple (Ennadir, 2014).

Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques

D'autres qualités ont depuis été associées aux bactéries lactiques lorsqu'elles sont associées aux produits alimentaires comme l'augmentation des valeurs nutritionnelles des aliments, la réduction de la formation de produits toxiques et la propriété de probiotique. (Ennadir, 2014).

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : les laits fermentés, les fromages, les olives fermentés et certains vins. (Axelsson.,2004 ; Streit, 2007).

L'industrie laitière reste toujours, le plus grand utilisateur de bactéries lactiques sous forme de ferments lactiques commerciaux (Axelsson.,2004 ; Streit,2007). Par exemple En fromagerie, les lactobacilles sont généralement utilisés pour la préparation de pâtes dures ou semi-dures typiques des fromages suisses et italiens (Alice et Sanchez- Rivas., 1997)

Aussi ils sont également utilisés dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques (Rodriguez., 2003).

Tableau 05 : Rôle de quelques espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière (Lamontagne.,2002)

Espèces	Emploi en industrie	Rôle
<i>Lb. bulgaricus</i>	Yogourt - fromage (mozzarella...)	Acidification en cours de production protéolyse en cours de maturation libération du galactose pour le brunissement production d'arômes et de polysaccharides (yogourt).
<i>Lb. helveticus</i>	Fromages (suisse, mozzarella...)	Acidification en cours de production prévention de l'amertume (peptidase).
<i>Lb. casei</i>	Yogourt - fromage (cheddar...)	Un peu d'acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. acidophilus</i>	Yogourt- lait acidophile	Acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. kefir</i>	Kéfir	Acidification en cours de production

3.1 Utilisation industrielle des bactéries lactiques

Les Bactéries lactiques sont très utilisées dans l'industrie agroalimentaire. Tout d'abord, les BL vont permettre de changer la saveur de l'aliment et sa texture (Sánchez., 2009). D'autre part, les BL produisent des peptides et des molécules comme l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétyle ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliments. Un autre rôle des BL est d'inhiber le développement de la flore bactérienne indésirable qu'elle soit pathogène ou d'altération (Klaenhammer, 1988; Rammelsberg., 1990). Les BL sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides et de mannitol) (Ruas-Madiedo et al., 2002 ; Wisselink., 2002). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines (Rodriguez., 2003) et pourraient être impliquées dans la production de protéines thérapeutiques ou comme vecteurs de vaccins (Langella ., 2001).

3.2 Utilisation dans le domaine alimentaire

Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et bioconservation des différents aliments, les souches *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem., 2008), Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badis.2005).

4- Les effets des bactéries thermophiles dans l'industrie laitière

4.1-Streptococcus thermophilus

Le rôle principal de *St. Thermophilus* est la fermentation du lactose de lait en acide lactique et en plus son pouvoir acidifiant. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharide (composés de galactose, glucose, ainsi que des petites quantités de raménose, arabinose et de mannose) (Bergamaier, 2002).

4.2- Lactobacillus bulgaricus

C'est une bactérie lactique homofermentaire a Gram (+), thermophile, de forme bâtonnet avec une croissance optimum a 45°C et un optimum de température de production d'acide variant de 43-46°C.

Elle est thermo tolérante, avec une relative activité protéolytiques, et supporte un milieu acide (pH=4 à 4.5). (Anonyme, 1998). Leur activité acidifiante se limite sur la fermentation de galactose et glucose seulement. Elle a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques, hygiéniques et peut être probiotique.

5-Conservation des souches des bactéries lactiques pures

L'objectif de la conservation d'une souche est de maintenir la souche à conserver viable, disponible et à l'identique. En microbiologie, on travaille avec des organismes unicellulaires, conservé viable à l'identique, c'est à dire dans des conditions qui gardent le génome à l'identique. La conservation doit évidemment exclure les contaminations. Selon les cas, les durées de conservation souhaitées varient de quelques jours à plusieurs années et le choix d'une technique de conservation sera fortement influencé par la destination de l'utilisation des souches à titres expérimentaux ou industriels.

Après conservation, il faudra alors vérifier qu'on a maintenu à l'identique un ensemble de caractères génétiques et/ou morphologiques et/ou physiologiques et/ou biochimiques qui caractérisent la souche pure à conserver et qui sont d'intérêt pour les utilisateurs de la souche (les caractères sont définis par l'utilisateur en fonction de la nature de son travail sur la souche à conserver).

5.1- Méthodes de conservation

Les ferments lactiques utilisés dans le domaine agro-alimentaire, sont généralement fournis aux utilisateurs sous trois formes physiques : liquide, congelée ou lyophilisée (Tamime et Robinson, 1999). Pour des raisons de facilité de conservation, de transport et d'utilisation, la forme liquide a été largement dépassée par les formes congelées et lyophilisées. Ces dernières réduisent en effet le nombre de cultures intermédiaires en usine. Les ferments liquides restent, cependant, encore utilisés par certaines fromageries (Beal., 2008). La lyophilisation est une technique de stabilisation qui permet le stockage des bactéries à 4 °C ou -18°C. L'intérêt de la lyophilisation des ferments lactiques est lié au fait que, grâce à la réduction de volume par rapport aux bactéries congelées, les coûts de stockage et de transport sont faibles. De plus, les cellules peuvent être stockées à température ambiante pendant plusieurs jours et sont plus facilement manipulables. Cependant, la lyophilisation implique des étapes et des équipements supplémentaires par rapport à la congélation, ce qui la rend plus coûteuse. De plus, cette technique n'est pas applicable à tous les ferments, en raison de l'importante sensibilité de certaines bactéries à la déshydratation. (Tamime et Robinson, 1999).

5.1.1 Congélation

La congélation est actuellement la technique de conservation des bactéries lactiques la plus utilisée dans le domaine agro-alimentaire. Une bonne maîtrise de cette opération est nécessaire pour éviter ou minimiser les pertes de viabilité liées à l'abaissement de la température et à la formation de glace au cours de la congélation. Par rapport à la lyophilisation, elle permet une reprise d'activité plus rapide des ferments et présente un coût

de fabrication inférieur à celui des ferments lyophilisés. Cependant, elle induit aussi des pertes de viabilité, inégalement maîtrisées jusqu'à présent. De plus, les ferments congelés nécessitent une attention spéciale par rapport au maintien de la chaîne du froid lors de leur transport et leur stockage. Il est aussi préconisé que les bactéries congelées soient stockées à des températures inférieures à -45 °C, afin d'assurer la stabilité de la qualité et de l'activité des ferments (Streit, 2008). Cependant la congélation à une température de -20°C permet une conservation de la plus part des microorganismes pendant 1 à 2 ans et le métabolisme de ces derniers en dessous de -18°C est totalement inhibé.

5.1.2 Lyophilisation

La technique consiste à éliminer l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de l'action combinée du froid et du vide. Le principe de base est que lorsqu'on réchauffe de l'eau à l'état solide à très basse pression, l'eau se sublime, c'est à dire qu'elle passe directement de l'état solide à l'état gazeux (Damin et *al.*,2007) La vapeur d'eau (ou de tout autre solvant) quitte le produit et on la capture par congélation à l'aide d'un condensateur, ou piège. Cette technique permet de conserver à la fois le volume et l'aspect du produit traité. La lyophilisation comporte généralement trois étapes : la congélation, la sublimation et la dessiccation secondaire.

Deuxième partie
Recherche
Expérimental

Chapitre I

Matériel et méthodes

1- Lieu et durée du travail :

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau du laboratoire de Recherche LSTPA au niveau de la ferme expérimentale de Hassi-Mamèche affiliée à l'Université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem

Cette étude a pour objectif d'étudier :

- Quelques aptitudes technologiques de certaines bactéries lactiques issues d'un fromage traditionnel (**camembert du Tessala**) préparé dans le cadre du Doctorat de **M DAHOU.A**
- Essai de valorisation de bactéries testées dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle.

2- Origine des souches lactiques utilisées :

Pour réaliser cette étude 04 souches de bactéries lactiques ont été fournies par **M DAHOU.A** Ces souches lactiques ont été préalablement identifiées par les galeries API CHL dans le cadre du doctorat.

3- Matériel et produit :

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

3-1 Le matériel biologique :

- 04 souches de bactéries lactiques ont été fournies par **M DAHOU.A** : 02 lactobacilles et 02 streptocoques lactiques.

4- Milieux de culture :

Tableau 06 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des souches

Micro-organismes	Milieux d'isolement	Température °C	Durée	Incubation
Streptocoques lactiques	M17 ou PCA enrichi pH = 6,5	37 et 45	72 heures	Aérobiose
Lactobacilles	MRS pH = 6 et pH = 5,5	37 et 45	72 heures	Anaérobiose

N.B : PCA enrichi milieu spécifique développé par l'enseignant chercheur **M DAHOU.A**

5- Revivification des souches lactiques :

Les 04 souches lactiques ayant subi une longue conservation de plus de 18 mois ont été revivifiées en procédant comme suit :

On ensemence 100 µl de chaque souche conservée dans un tube contenant 5 ml de bouillon PCA et 10 ml de lait écrémé suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les résultats de revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

6- Purification des souches :

Les souches lactiques revivifiées ont été purifiées par ensemencement par stries sur gélose PCA et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures

Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme de point de vue morphologie des bactéries lactiques, nous renseignant sur leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques concernant leur aspect (taille, forme et couleur).L'observation de la pureté sera complétée par un test de la catalase.

7- Caractéristique macroscopique :

En se basant sur l'observation à l'œil nu des colonies de *Lactobacilles* et *Streptococcus* afin de déterminer l'aspect, la taille, la forme, et la couleur des colonies des cultures bactériennes obtenues sur gélose PCA.

8- Caractéristique microscopique :

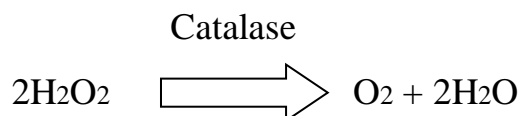
L'examen microscopique a été effectué après coloration de Gram, sur une culture, Elle permet de décrire la forme des cellules, leur mode d'association, après réalisation des frottis colorés.

Tableau 07 : Critères morphologiques d'identification des genres présumés des souches lactiques.

Macro-morphologie	Micro-morphologie	Température °C	Groupes
Colonie blanches rondes ou lenticulaires	Coccis diplocoques et en chaînettes	37 et 45	Streptocoques lactiques
Petites colonies blanches rondes ou lenticulaires	Petits bâtonnets Et en chaînettes	37 à 45	Lactobacilles

9- Test de la production de la catalase :

La catalase est une enzyme respiratoire produite par les bactéries aérobies strictes ou facultatives. Cette enzyme dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène (O₂) selon la réaction suivante:



Pour mettre en évidence la production de cette enzyme, on prélève une colonie bien isolée, qu'on étale avec l'anse de platine sur une lame et on ajoute une goutte d'eau oxygénée à 10%. La présence de catalase se manifeste par une effervescence qui indique une formation de bulles d'air, dues à la dégradation de l'eau oxygénée (Guiraud, 1998 ; Prescott, 2003).

10- Conservation des souches lactiques :

10.1- Méthode de conservation : Congélation -18°C

On conserve par congélation en présence d'additifs cryoprotecteurs comme le DMSO (diméthyl sulfoxyde) ou le glycérol à des concentrations de l'ordre de 30 à 50%. Ces additifs pénètrent dans les cellules et abaissent la température de congélation largement en dessous de -18°C (ainsi avec 67% de glycérol, la température de congélation est abaissée à -46°C!). Leur action protectrice est due au fait qu'ils empêchent les cristallisations dans les conditions du refroidissement. Dans notre étude nous avons utilisé une conservation par glycérol à 30%. Cette méthode est adaptée pour des conservations de l'ordre de plusieurs mois à une année après revivification.

11- Etude des aptitudes technologiques des souches lactiques :

11.1-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 répartition du lait écrémé dans des flacons stériles à raison de (V/ 100V). Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 4h, 6h, 8h et 24h ; 10ml du lait sont prélevés stérilement puis titrer par la soude Dornic (N/9) en ajoutant préalablement 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine à 1% (alcool), jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistante au moins 10 secondes.

L'acidité est déterminée par la formule :

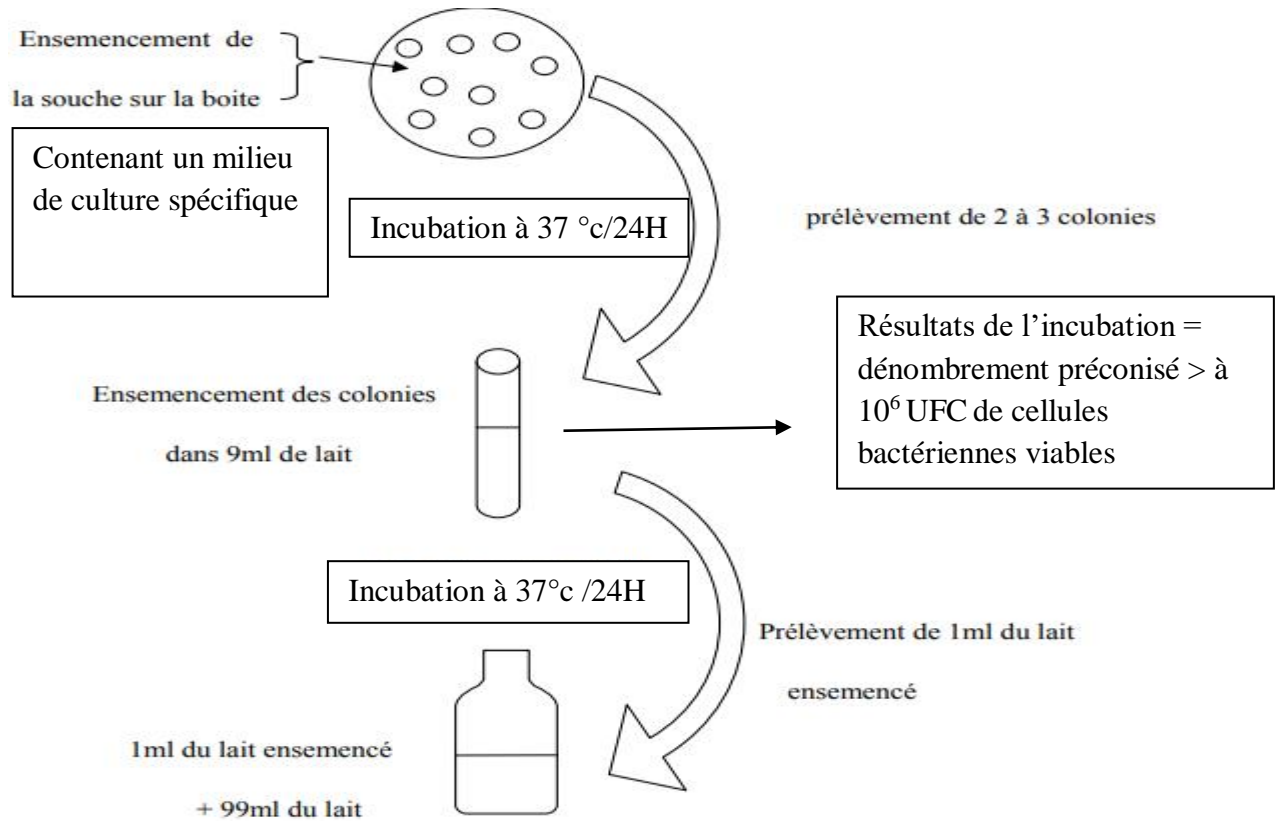
$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10 \text{ OÙ :}$$

V_{NaOH} : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait.

Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

1°D = 0,1g d'acide lactique dans 1litre de lait.



Suivi de l'évolution du pH et de l'acidité à t=0h, t=2h, 4h, 6h, 8h, et 24h.

♦ **Le pH:** On le mesure directement à l'aide d'un pH-mètre.

♦ **L'acidité:** On mesure le volume de la soude utilisé pour titrer l'acide lactique.

$$\text{Acidité } ^\circ\text{D} = V \text{ NaOH} \times 10$$

$$1^\circ\text{D} = 0,1 \text{ g d'acide lactique}$$

Figure 04 : Le protocole à suivre pour la réalisation du test d'acidité.

11.2-Pouvoir protéolytique:

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose PCA additionnée de lait écrémé à 12% a été coulée, séchée stérilement, puis des spots de 5µl contenant la culture jeune sont déposés sur les boîtes. Après une incubation à 37° C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones opaques autour des spots. (Veuillemard, 1986).

11.3-Pouvoir lipolytique:

La lipolyse est mise en évidence par deux méthodes, sur gélose additionnée d'huile d'olive ou de glycérol stérile à 1%, ces dernières ont été coulées et solidifiées. Des spots de la culture jeune ont été déposés en surface de cette gélose. Après une incubation à 37°C pendant 72h, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des spots. (Guiraud, 2003).

11.4-Pouvoir aromatisant:

La capacité des souches à produire des composés aromatisants au cours de leur croissance peut être mise en évidence sur lait écrémé stérile ainsi que le milieu de Clark et Lubs. Chaque tube contenant du lait écrémé stérile et le milieu précédent a étéensemencé par une des souches. Après incubation à 37°C pendant 24h à 48h (coagulation du lait et troublement de milieu), les réactifs de Vogues-Proskaeur VPI et VPII ont été ajoutés pendant 24h. La présence d'arôme est révélée par l'apparition d'un anneau rouge (Harrigan et Mc Cance, 1976 ; Zourari *et al.*, 1991 ; Facklamet Elliot, 1995).

11.5-Pouvoir texturant:

Les souches ont étéensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée. Après incubation à 37°C pendant une semaine, la production des exopolysaccharides est détectée par l'apparition des colonies larges et gluantes (Leveau *et al.* 1991).

11.5.1-Recherche 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 se faire, le milieu Gibson-Abdelmalek préalablement fondu, refroidi et solidifié a étéensemencé par les cultures bactériennes par piqûre centrale, puis un bouchon de la gélose blanche stérile a été coulé en surface. L'incubation est faite à 37°C pendant 7 jours. Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche. Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse, au contraire, le Bouchon de gélose vers le haut du tube.

12- Essai de valorisation des souches lactiques dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle type camembert :

Diagramme de fabrication au laboratoire du fromage à pâte molle type camembert

Jour J :

Préparation des laits

- Standardisation en matière grasse MG à 25 -26 g/L
- Pasteurisation à 75°C pendant 15 secondes

- Adjonction de 0,25 g/L de chlorure de calcium (CaCl_2) pour réajuster l'équilibre minéral

- Maturation du lait à une température de 37°C pendant 1H30 pour obtenir 6,25 à 6,35 de pH

N.B : Ensemencement du lait avec un microbiote exogène lactique.

1/ Thermophile de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus acidophilus* pour fabriquer un fromage à pâte molle stabilisée

Complément du microbiote avec du *Penicillium candidum* (camemberti)

L'optimisation de l'affinage du fromage sera par un microbiote d'affinage composé de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosum*

-Coagulation du lait :

-Emprésurage avec 2,5 ml d'extrait de présure animale (extraite de la caillette de veau au laboratoire LSTPA de Hassi-Mamèche Mostaganem) pour 10 litres de lait

-Temps de prise : 12 minutes

-Coagulation totale : 48 minutes

-Temps de raffermissement du caillé : 60 minutes

-Tranchage-synérèse : Durée 30 à 40 minutes

-Les grains de caillé obtenus ont 2,5 cm de côté, le lactosérum a une acidité qui varie de 13 à 16°D soit un pH de 6,70-6,75. Eventuellement un léger brassage est éventuellement entrepris en cas de difficulté de synérèse, sa réalisation est à 15 minutes après le tranchage.

-Moulage, avec 2 à 2,1 litres de lait par moule de 250 gr selon sa richesse en M.A.P intervient après avoir soutiré 25 à 30% du lactosérum. L'acidité de ce dernier se situe à $16-18^\circ\text{D}$ soit un pH de 6,65 à 6,7.

-Egouttage en moule :

-Retournement : Il s'effectue en trois étapes selon l'ordre chronologique

-1er retournement : 30 minutes après moulage

-2ème retournement : 03 heures après moulage

-3ème retournement : 06 heures après moulage

	3H	6H	9H	Démoulage après 15 à 18 heures
Acidité	30°D	60°D	90°D	$110-115^\circ\text{D}$
pH	6,25	5,70	5,10	4,9 -4,8

Jour J+1 : Pré-affinage

- Démoulage : caillé à pH : 4,7 -4,8 , 40-42% d'E.S.T et 0,35-0,4% de Ca/ E.S.T

- Salage : en saumure pour avoir 1,7 -1,8% de NaCl
- Ressuyage : 15 à 18 heures à 15°C et 85% d'HR

Jour J+2 :

- Affinage : 9 à 10 jours à 12-13°C et 90-95% d'HR, retournements à J+3 à J+5 et à J+7.

Tableau 08 : Normes d'évolution de la composition du camembert en cours d'affinage
(normes F.I.L référence ISO 707 octobre 2018)

Type	Début d'affinage (J+2)		Fin affinage (J+11)	
	MG%	ES%	MG%	ES%
Camembert 40% G/S	16-16,5	40-41	17,5-18	43-44
Camembert 45% G/S	18-18,5	41,5-42,5	20-20,5	44,5-45,5

Chapitre II

Résultats et discussion

1- Résultats et Discussions

1.1-Revivification et purification des souches lactiques

Suite à la revivification des 04 souches lactiques sur bouillon PCA à 37°C pendant 48 heures à 72 heures, il apparaît un trouble dans les tubes .La purification de ces souches sur le même milieu gélosée PCA enrichi avec du lait écrémé est confirmée par une observation microscopique et appréciée par le test de catalase et une coloration de Gram.

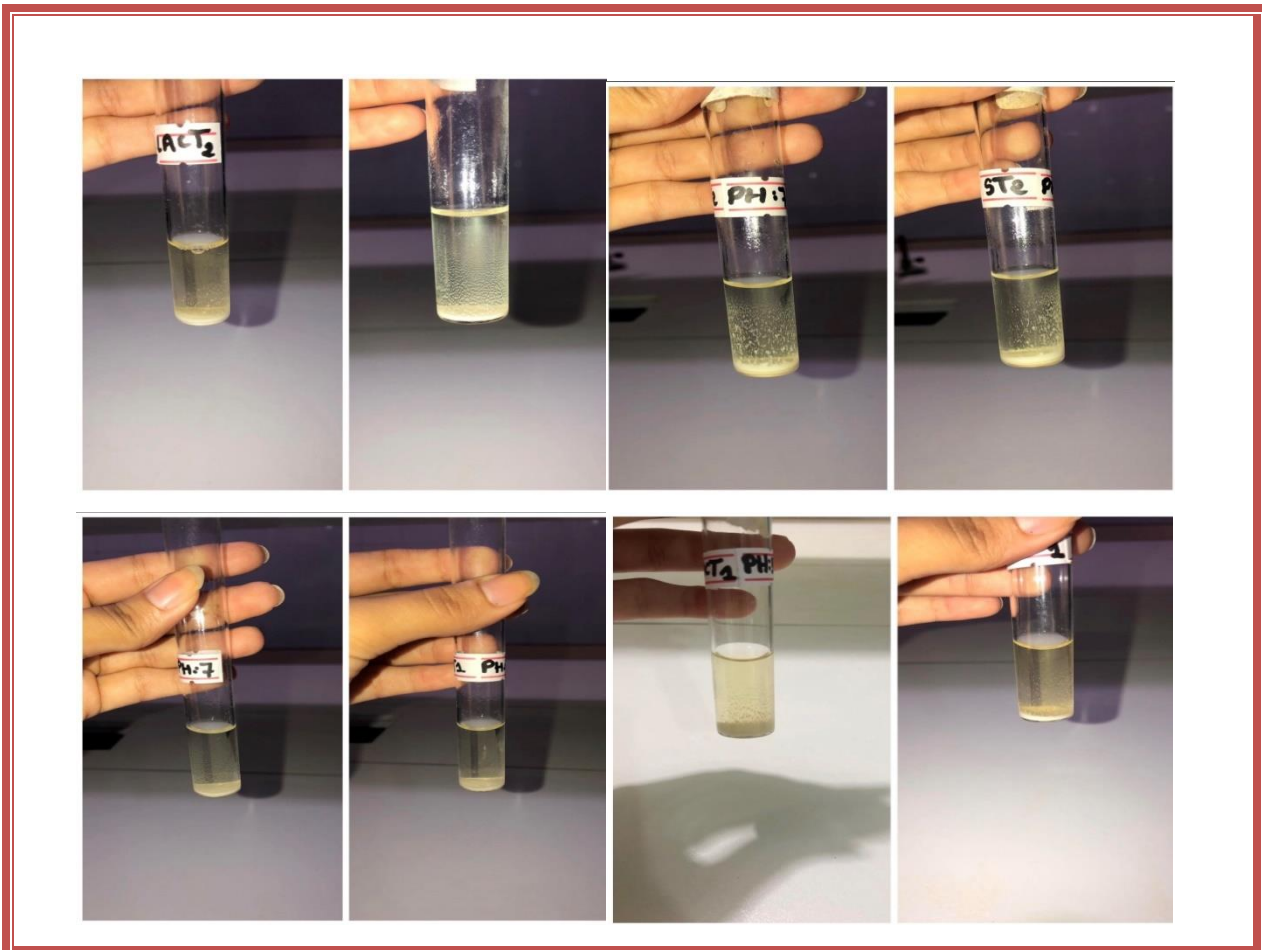


Figure 05 : Troubles constatés après revivification des souches lactiques utilisées

1.2-Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose PCA a révélé des colonies visibles, de tailles similaires pour chaque genre (environ 2 mm de diamètre pour *Streptococcus* et 1,5 mm de diamètre pour *Lactobacille*), de forme ronde avec une couleur blanchâtre pour les *Streptocoques* et de petite taille lenticulaire blanchâtre pour les *Lactobacilles* (voir figure 05) Le test de catalase confirme que nos 2 bactéries sont identiques aux bactéries lactiques.

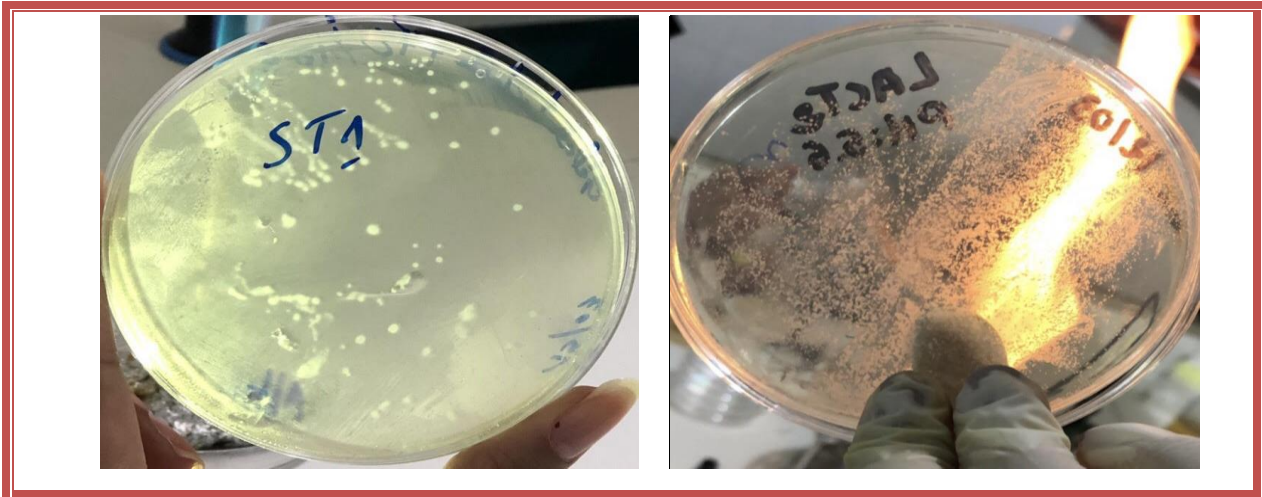


Figure 06 : Examen macroscopique des souches lactiques étudiées.

1.3-Examen microscopique

La caractérisation microscopique basée sur la coloration de Gram a donné une coloration Gram positif, des bactéries de forme cocci , diplocoques et en chaînettes pour les *Streptocoques* lactiques et de forme de petits bâtonnets pour les *Lactobacilles* (voir figures 06).

Cette description confirme les résultats donnés par Carr et *al.*, 2002

Figure 07 : Observation microscopique des souches revivifiées

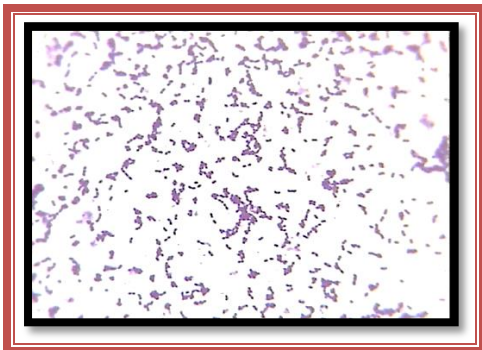


Figure 07.2 : Aspect microscopique *Lactobacilles*

Figure 07.1 : Aspect microscopique *Streptocoques* lactiques

2- Résultats d'étude des aptitudes technologiques :

2.1-Activité protéolytique

L'activité protéolytique chez les bactéries lactique est essentielle pour leur croissance dans le lait, elle est ainsi impliquée dans le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (Yvon, 2006).

Les valeurs rapportées sur le tableau 09 et les figures 08 représentent les résultats de la protéolyse des souches lactiques étudiées

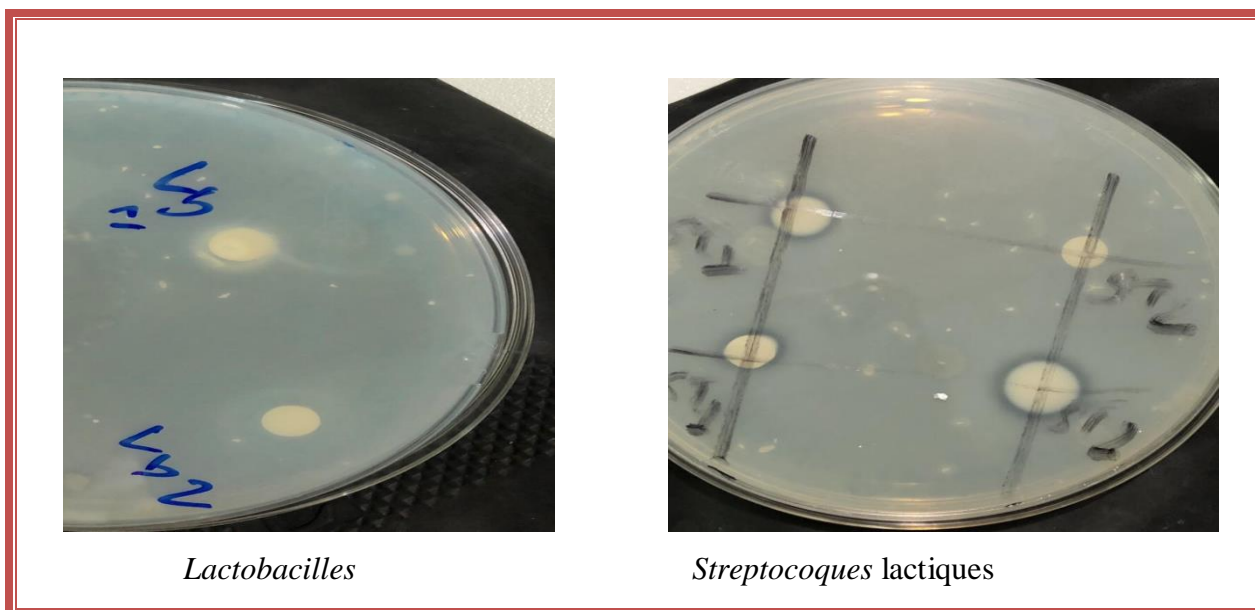


Figure 08 : Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation.

Tableau 09 : Moyenne des diamètres de lyse en millimètre chez les souches étudiées après 48 heures d'incubation

Souches lactiques	Diamètre de protéolyse en mm
<i>Lactobacilles</i>	
Lb1	11mm
Lb2	12.5mm
<i>Streptocoques</i>	
St1	8mm
St2	7mm

D'après la mesure des diamètres de lyse , il en résulte que pour toutes les souches étudiées , le diamètre de lyse augmente en fonction du temps , nous remarquons qu'après 48 heures , les souches Lb1 et Lb2 du genre *Lactobacillus* sont fortement protéolytiques avec une protéolyse de 11 a 12.5mm de diamètre respectivement . Les souches St1 et St2 ont présenté des diamètres de protéolyse se situant entre 7 et 8 mm. La valeur normative maximale de protéolyse est de 15 mm (Buffa et *al.*, 2005.) au-delà de cette norme , celle-ci est considérée comme une protéolyse excessive pouvant provoquer la production incontrôlée de peptides amers responsables d'amertume sur les productions fromagères de type frais , semi-affinés ou affinés comme bien décrit par Buffa et *al.*, 2005.

2.2-Activité lipolytique

D'après les résultats obtenus, figurant dans le tableau 10 et illustrés par la figure 09, on constate que nos quatre souches lactiques ne présentent aucune activité lipolytique puisqu'elles ne présentent aucune zone de lyse caractéristique autour des disques.

(Mayers et *al.*, 1996) avaient déjà rapportés la faible activité lipolytique des *Lactobacilles* et des *Streptocoques* lactiques.

Tableau10 : Résultats du test de lipolyse des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation.

Souche lactiques	Diamètre de lyse en mm
<i>Lactobacilles</i>	
Lb1	NEANT
Lb2	
<i>Streptocoques</i>	
St1	NEANT
St2	

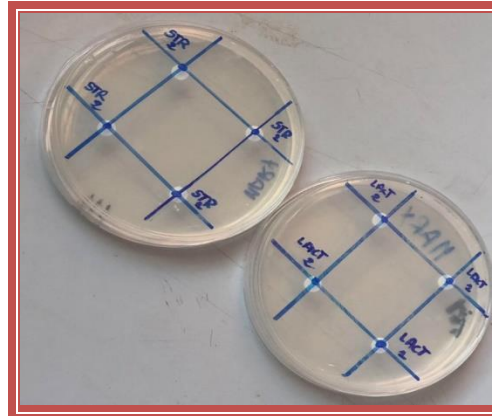


Figure 09 : Résultats du test de lipolyse des quatre souches lactiques Lb1 – Lb2 et St1-St2

2.3-Pouvoir acidifiant et évolution du pH

Les bactéries lactiques sont reconnues par leurs pouvoirs acidifiant. Dans le présent travail, nous avons testé les 04 souches lactiques étudiées appartenant au genre *Lactobacillus* et *Streptococcus*, en suivant l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 11 et représentés sur les figures 10 et 11.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que toutes les souches étudiées ont un pouvoir acidifiant appréciable en produisant de l'acide lactique progressivement en fonction du temps. Cette acidité produite accompagnée d'un abaissement du pH du lait provoque une coagulation lactique.

Tableau 11 : Evolution du pH –Acidité dornic en fonction du temps d'incubation par rapport à chaque souche.

Acidité initiale du lait : 16°D
PH initial : 6,68

Souche	02H		06H		12H		24H	
	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH
Lb1	20	6,48	23	6,38	41	5,42	91	4,71
Lb2	20	6,46	24	6,32	44	5,43	98	4,65
St1	20	6,49	23	6,38	42	5,43	78	5,1
St2	19	6,5	22	6,4	44	5,44	76	5,12

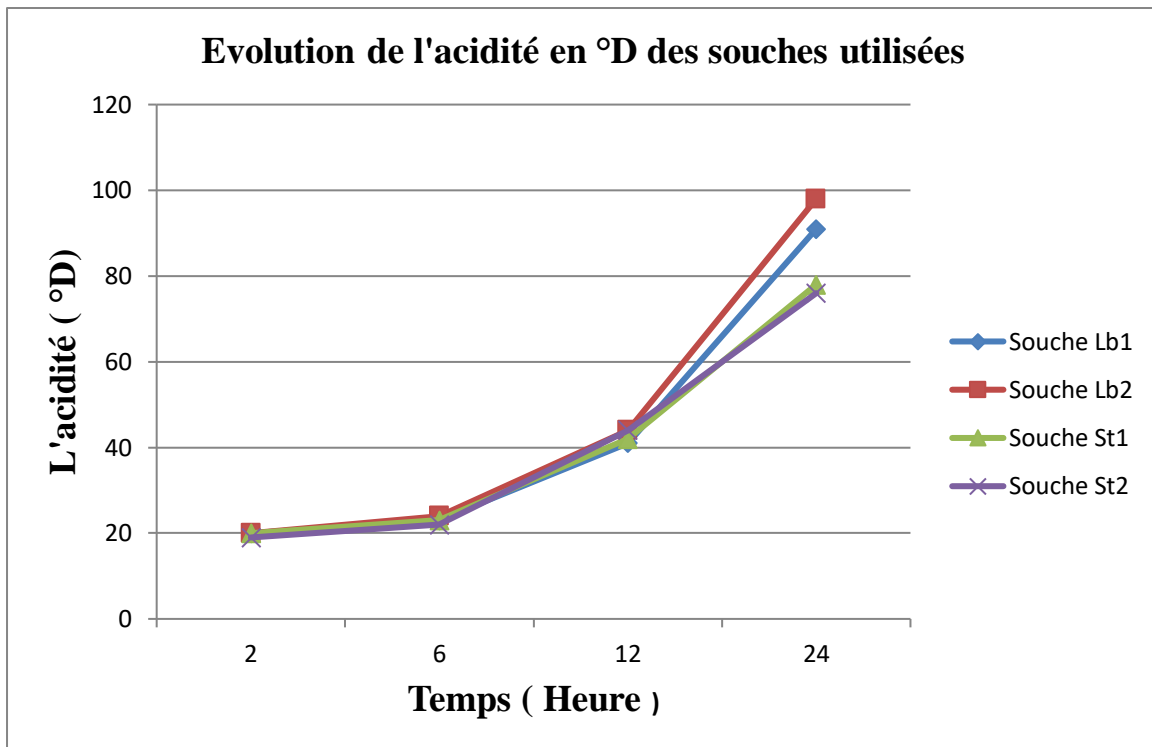


Figure 10 : Evolution de L'acidité en °D des souches utilisées

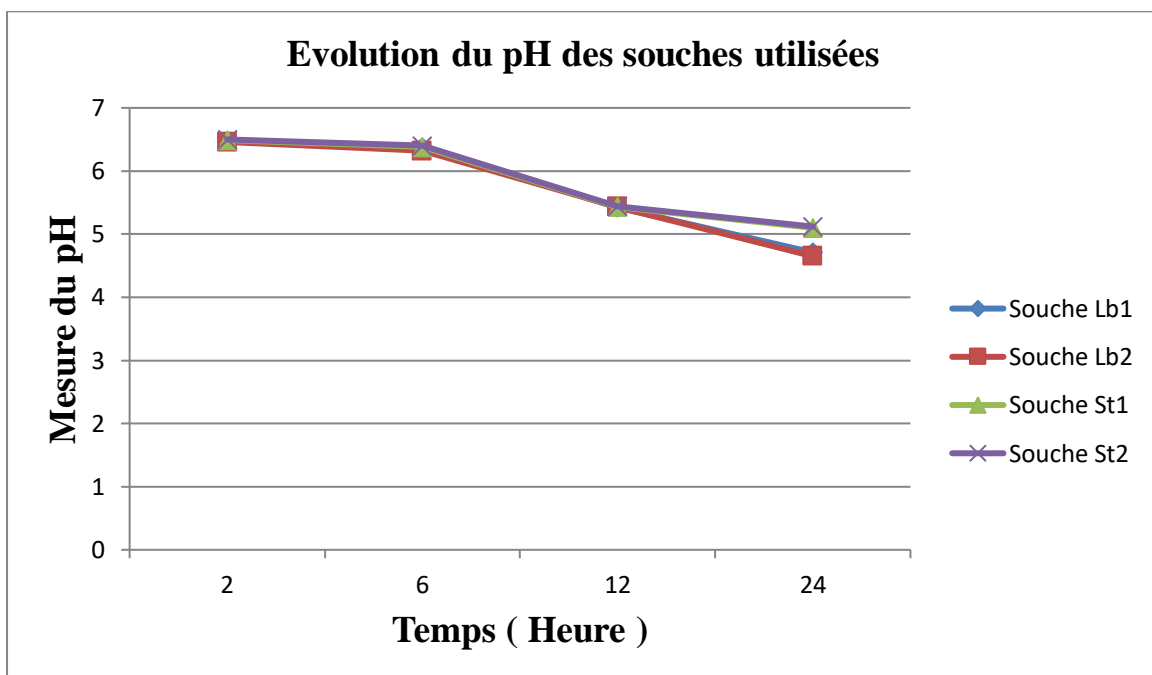


Figure 11 : Evolution du pH des souches utilisées

Les résultats obtenus en fonction du temps d'incubation de nos échantillons de lait reconstitué et additionné par nos souches lactiques , nous avons constaté une nette diminution du pH accompagné d'une évolution progressive de l'acidité Dornic .Un phénomène dû à la

production de l'acide lactique suite à la fermentation du lactose par les bactéries lactiques mises en culture.

Selon Bourgeois et Larpent, 1996, l'acidité titrable est une expression de l'acidité développée dans le lait par la fermentation du lactose en acide lactique.

Après 24 heures d'incubation, la souche Lb2 est la plus performante avec une acidité de 98°D suivi de la souche Lb1 avec une acidité de 91°D et St1 –St2 respectivement avec des acidités Dornic de 78 et de 76 °D.

Dans cette étude, les conditions de fermentation étaient les mêmes pour toutes les souches, par conséquent, la différence des propriétés acidifiantes dépend de la spécificité de chaque souche comme il a été rapporté dans les études de Badis et *al.*,2004.

2.4- Recherche de type fermentaire

Ce test a révélé que nos bactéries lactiques étudiées sont homofermentaires. Cela a été mis en évidence par la non production de gaz (CO₂).

Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche. Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse, au contraire, le bouchon de gélose vers le haut du tube (Ghazi et *al.* 2009).

2.5- Pouvoir aromatisant

La production de composés d'arômes par les souches étudiées est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. D'après la figure 12 il apparaît que les espèces de *Lactobacilles* arrivent à produire des arômes (acétoïne) comme le confirme la formation de l'anneau rouge, c'est ainsi que grâce à ce pouvoir aromatisant, les espèces lactiques contribueront aux caractéristiques organoleptiques des fromages.



Figure 12 : Pouvoir aromatisant des souches lactiques étudiées.

Ces espèces de bactéries lactiques Lb1 et Lb2 testées positivement aromatiques, capables à partir du pyruvate, de synthétiser divers composés responsables des arômes des produits laitiers tels que le diacétyl, l'acétoïne, le 2,3-butanediol et l' α -acétolactate. Des résultats similaires ont été rapportés par (Leroy et De Vuyst, 2004) et (Raynaud et al.,2016). Par ailleurs,(Monnet et al.,2008) ont montré que l' α -acétolactate est un composé instable, il peut se transformer spontanément en diacétyl et/ou en acétoïne. Cette dernière est l'une des molécules aromatiques du catabolisme des acides aminés (acide aspartique), elle peut avoir comme origine la dégradation totale ou partielle de l'acide citrique pendant la fermentation lactique.

Les bactéries lactiques qui métabolisent le citrate jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers car, chez ces bactéries, le métabolisme du citrate et du lactose entraîne la production de diacétyl, d'acétoïne et de CO₂, participant aux qualités aromatiques et texturales des fromages (Raynaud et al., 2016).

2.6- Pouvoir texturant

La production des EPS testés sur les souches lactiques a donné des résultats négatifs sur la gélose hypersaccharosée. Ce test a montré que les souches étudiées de *Streptococcus* et de *Lactobacillus* n'ont pas développé des colonies texturantes et gluantes. Il est à noter que tout développement sur un milieu hypersaccharosé de colonies à aspect large et gluant témoigne une production d'un agent épaississant.,les exopolysaccharides.



Figure 13 : Aucun pouvoir texturant des souches lactiques étudiées.

La production des EPS par les bactéries lactiques est un phénomène favorable à de nombreux processus industriels alimentaires (Walling et al., 2001). Le principal intérêt de l'utilisation de

bactéries lactiques productrices d'EPS dans les ferments lactiques lors de la production fromagère est l'amélioration de la texture et la diminution de la synérèse. Les spécialistes fromagers ont démontré que l'utilisation de *Lactobacillus casei*, souche productrice d'EPS, dans la fabrication de fromage prévient la réduction de sa rigidité durant sa maturation.

Nos résultats concordent avec ceux de : (Irlinger et *al.*,2015) (Mokoena, et *al.*, 2016) et (Monnet et *al.*, 2008.)

3- Essai de valorisation des souches lactiques dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle type camembert

En industrie fromagère, la qualité des fromages est largement déterminée par la qualité physico-chimique (pH du fromage, G/S , taux de sel), sa qualité microbiologique (déterminée par sa flore lactique et d'affinage) et la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (Edima, 2007).

Les fromages ont été fabriqués au laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales. Les souches thermophiles revivifiées que nous avons contrôlé ont été utilisées dans la transformation d'un lait de vache épuré par bactofugation au niveau de la laiterie Errawda et amendé avec un apport protéique avec un lait reconstitué avec de la poudre de lait fromagère « lowheat ».

Tableaux 12: Evolution physico-chimiques et microbiologiques des fromages en affinage : résultats du suivi de l'étudiant en master P.T.L Monsieur Adam MEHDI.

Tableau 12.1: Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au démoulage et après salage.

	Fromage au démoulage	Fromage après salage
Analyse des fromages en affinage		
1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES(%)		
pH	5,2	5
Acidité Dornic	75	70
EST	38	39,2
MG	17	16,7
MP	23,5	23
Humidité	58	54
Taux de sel	0,12	1,78
G/S	44,74	42,60
température °C	18	15
2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES		
Flore totale U.F.C/g	2150000	1900000
Flore lactique thermophiles à 37°C U.F.C/g	1750000	1500000

Tableau 12.2: Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au jour J+3 et au jour J+7.

	Fromage à J+3	Fromage à J+7
Analyse des fromages en affinage		
1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES(%)		
pH	5	5,4
Acidité Dornic	70	66
EST	39	38,6
MG	16,5	16,4
MP	22,7	22,2
Humidité	55,8	55,4
Taux de sel	1,82	1,77
G/S	42,31	42,49
température °C	13,10	12,70
2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES		
Flore totale U.F.C/g	1875000	1250000
Flore lactique thermophiles à 37°C U.F.C/g	1375000	37500

Tableau 12.3 : Evolution physico-chimiques et microbiologiques du fromage au jour J+10.

	Fromage à J+10	Normes FIL
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage		Normes fromage fin affinage
1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES(%)		
Ph	5,7	5,8 à 6,5
Acidité dornic	64	55 à 60
EST	38,4	34,5 à 37,5
MG	16,2	15,10 à 15,5
MP	21	20 à 21
Humidité	54,8	52 à 56
Taux de sel	1,75	1,5 à 1,65
G/S	42,19	40 à 45
température °C	13,70	12 à 15
2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES		
Flore totale U.F.C/g	925000	750000 à 1000000
Flore lactique thermophiles à 37°C U.F.C/g	12500	

L'essai du fromage fabriqué avec les souches lactiques a donné les résultats escomptés comparativement à la norme de la fédération internationale du lait « F.I.L » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 définie pour les analyses microbiologiques et chimique des produits laitiers dont le fromage à pâte molle type camembert traditionnel avec la flore mésophile et stabilisé avec la flore thermophile.

Notre essai de fromage a atteint les qualités physico-chimiques , microbiologiques et sensorielles souhaitées après seulement 10 jours d'affinage car conformément à lui un camembert développe ses qualités organoleptiques entre 12 et 15 jours d'affinage .La flore lactique a permis d'optimiser le temps d'affinage avec l'obtention des caractéristiques :

1- Physico-chimiques

De G/S de 42,19%

Un pH d'une pâte molle stabilisée de 5,7

2- Microbiologiques

Une viabilité de nos cellules bactériennes

Notre approche scientifique avec ceux de Desmasures ., 1995 et Leclercq-Perlat et *al.*,2004 concordent. En effet il est nécessaire de modéliser la technologie de transformation les souches lactiques utilisées aux propriétés biochimiques spécifiques

très ciblées afin d'obtenir un équilibre contrôlé et un camembert aux propriétés intrinsèques recherchées.

Les résultats des tests de dégustation du fromage fabriqué par rapport au témoin fabriqué avec une flore mésophile revivifiée par l'étudiante en master « Melle DELLA » sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats du test de dégustation à J+10 pour notre fromage à base de souche thermophile par rapport au témoin avec des souches mésophiles à J+16.

Examen Test de dégustation	Fromage Avec Souche Mésophile	Fromage Avec Souche thermophile
1/ Examen visuel		
Aspect de la surface	7,5	7
Aspect du fromage	7,25	7
2/ Examen olfactif		
Arôme	7,85	7,15
Intensité	8,1	7
3/ Examen gustatif		
Saveur	8,25	7
Sensation	7,85	7
Appréciation générale Note /10	7,80	7,03
Classement des fromages Finale	2	2
Durée d'affinage en jour	16	10
PH Final	6,08	6,12

La qualité organoleptique du fromage fabriqué, testée par le jury de dégustation sur un ensemble de caractères, est cotée bonne. Les résultats indiquent une différence significative par rapport au témoin. Des notes de 7,03 sont données au fromage fabriqué et 7,80 au témoin respectivement.

Cela est dû à ce qui suit :

Le fromage témoin fabriqué avec des souches mésophiles a atteint son affinage à J+16 lui permettant de développer les qualités intrinsèques souhaitées induisant une différence de la qualité sensorielle constatée de point de vue olfactive et gustative. Néanmoins d'après le suivi (microbiologique, physicochimique et organoleptique), il apparaît que le fromage fabriqué à partir du microbiote sélectionné de souche thermophile présente des qualités supérieures. Cela indique que nos souches sélectionnées possèdent des bonnes aptitudes technologiques qui peuvent être exploitées.

Nos résultats concordent avec ceux de : (Raynaud et *al.*, 2016) ,(Voisin,.2010) et (Zirnstein et Hutkins .,2000)

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les 04 souches lactiques thermophiles utilisées dans cette étude isolées de nos fromages traditionnels ont donné de bonnes aptitudes technologiques.

L'étude de leur pouvoir acidifiant en culture pure est réalisée dans le but de sélectionner les souches les plus acidifiantes. Le pouvoir protéolytique, lipolytique et texturant a été également étudié pour les souches sélectionnées revivifiées.

Le suivi de la cinétique d'acidification en culture pure des 04 souches lactiques a montré que les souches de *Lactobacilles* Lb1, Lb2 et de *Streptococcus* St1 et St2 ont une capacité importante d'acidification après incubation dans le lait écrémé stérile avec un ΔpH de 0,06 pour les *Lactobacilles* $\text{pH}(\text{Lb1}) = 4.71$ et $\text{pH}(\text{Lb2}) = 4.65$ et un ΔpH de 0,02 pour les *Streptocoques* lactiques $\text{pH}(\text{St1}) = 5.1$ et $\text{pH}(\text{St2}) = 5.12$ respectivement, ce qui nous a permis de les sélectionner pour un essai technologique. L'étude du pouvoir acidifiant en culture mixte de ces dernières a montré que l'activité acidifiante est plus importante en association. En effet, la combinaison la plus acidifiante est Lb1+St2 avec un pH de 5,32 au bout de 3h.

Les résultats de l'activité protéolytique, montrent que les 4 souches ont la capacité de dégrader la caséine du lait contenant dans le milieu, où la souche Lb2 présente la zone de la protéolyse la plus importante avec un diamètre de 12.5 mm dans le PCA à 1% de lait écrémé.

L'essai de fabrication d'un camembert de type stabilisé avec les souches lactiques a donné les résultats escomptés. Notre fromage a atteint les qualités physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles souhaitées après seulement 10 jours d'affinage.

Selon l'intérêt de chaque espèce étudiée et ses effets sur les plans technologique et sensoriel, cette étude est une contribution qui tente à apporter aux industriels l'approche scientifique, qui assurerait une meilleure maîtrise de la technologie de transformation fromagère, partant de la modélisation de la matière première, du microbiote utilisé et de la technologie de transformation pour aboutir à un produit fini « fromage » aux qualités souhaitées par le consommateur.

En perspectives, il serait intéressant de continuer l'étude en réalisant les points suivants :

Conclusion et perspectives

- ✓ Lancer une étude de l'activité antibactérienne de ces souches.
- ✓ Etudier l'activité protéolytique pour les cultures mixtes.

Annexes

Annexe A: Composition des milieux de culture.➤ **Milieux solides :****1. Gélose PCA Lactobacilles**

Extrait de levure	2.5g
Extrait de viande	5g
Peptone	5 g
Glucose	5g
Tryptone.....	6g
Agar.....	15g
Tween80	1 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml

pH= 5.6 à 25°C

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

2. Gélose hypersaccharosée

Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	2.5g
Saccharose.....	15g
Nacl.....	1g
Agar.....	15g
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

pH=6.8 à 37°C

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

3. Gélose PCA Streptocoques

Extrait de levure	2.5g
Peptone de caséine.....	5 g
Glucose	1g
Agar.....	15g
Eau distillée q.s.p1000 ml

pH= 7.0±0.2 à 25°C

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

4. Gélose gibson abdelmalek

Extrait de levure	2.5g
Tryptone.....	5 g
Glucose	1g
Agar.....	15g
Jus de tomate.....	100ml
Poudre de lait 0%.....	20g
Eau distillée q.s.p1000 ml

pH= 6.5±0.2 à 25°C

Stérilisation par autoclavage à 10°C pendant 10 min.

5. Gélose aux triglycérides

Extrait de levure	3g
Peptone.....	5 g
Triglycérides.....	10ml
Agar.....	15g
Eau distillée q.s.p1000 ml

pH= 6.5±0.2 à 37°C

Stérilisation par autoclavage à 110°C pendant 05 min.

Annexe B : Coloration de Gram

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

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à l'objectif (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

Annexe C :**Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)** Date :

Nom du dégustateur :

Fonction :

Lieu :

Type du fromage :

Examen	Nom du produit	Points à examiner	Vocabulaire
1/ Visuel		Etat de la surface	Surface : lisse, sèche, humide Couleur : blanche, crème, jaune
		Pâte	Elasticité : Souple, ferme, cassante Homogénéité : homogène, crevasse
2/ Olfactif		Arômes	Lactique : lait frais, naturel, Autres : diacétyl, fermenté, synthétique
		Intensité	Forte, fade, typée, piquante
3/ Gustatif		Saveurs	Description de la saveur : Sucrée, acide, salée, amer Description des sensations : Douceur, piquant, crémeux, fondant, onctueux Description de la finale bouche : Agréable, très typique, riche en arôme, intense et persistante, plutôt courte

Observation aux dégustateurs : Mettre une croix sur l'appréciation (vocabulaire) accordée au produit dégusté**Note d'appréciation sur 10 points** : à noter sur la base des résultats formulés par les dégustateurs**A/Etat de la Surface :****Surface** /lisse : 1,5, sèche : 0, humide : 0,25**Couleur** / blanche : 1, crème : 0,5, jaune : 0**B/ Pâte :****Elasticité**/ Souple : 1, ferme : 0,25, cassante : 0

Homogénéité/ homogène : 1, crevasse : 0

C/ Arômes :

Lactique / lait frais : 1, naturel : 0,5

Autres/ diacétyl : 1, fermenté : 0,5, synthétique : 0

Intensité/ forte : 0,25, fade : 0, typée : 1, piquante : 0

D/ Saveurs :

Description de la Saveur /Sucrée : 0, acide : 0,5, salée : 0, amer : 0

Description des sensations / Douceur : 1, crémeux : 0,5, piquant : 0, fondant : 0,15, onctueux : 0,25

Description de la finale à la bouche / Agréable : 1, très typique : 0,5, riche en arôme : 0,25 , intense et persistance : 0,15, plutôt courte : 0

Liste des références

A

- 1-Abada, E.A. (2019)** Application of microbial enzymes in the dairy industry .In « Enzymes in food biotechnology », pp.61-72 , Elsevier
- 2-Ait-Belgnaoui A., lamine F., han W., eutamene H., fioramonti J., bueno L. ET theodorou V., 2005.** A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. Nutr. Ali. Fonct. 3 : 59-63.
- 3-Aktypis A. G. Kalantzopoulos, J.H.J Huis in't Veld, B. Ten brink (1998)**
Purification and characterization of thermophilin T, a novel bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0040 J. Appl. Microbiol., 84 pp. 568-576
- 4-Al Atya, 2016** Recherche et caractérisation de nouveaux peptides antimicrobiens à partir de bactéries lactiques isolées du meconium / Al Atya Ahmed Khassaf / Université Lille1 - Sciences et Technologies / 25-03-2016
- 5-Alice et Sanchez- Rivas., 1997** DNA supercoiling and osmoresistance in *Bacillus subtilis*168. Current Microbiology, 35:309-315.
- 6-Amatayakul. T., Halmos A.L., Sherkat F. And Shah N.P.,2006** Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International dairy journal.vol. 16, 40-51.
- 7-Ames, B.N., 1999:** Micronutrient deficiencies cause DNA damage and cancer. Food Science and Agricultural Chemistry **1**: 1-15.
- 8-Ariga, H., Urashima, T., Michihata, E., Manabu, I., Morizono, N., Kimura, T. et Takahashi. S., 1992:** Extracellular polysaccharide from encapsulated *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* OR 901 isolated from commercial yogurt. J. Food. Sci. 57-625.
- 9-Axelsson L.T 2004 ;** Lactic acid bacteria : classification and physiologie. In lactic acid bacteria – microbiologie and functional aspects, edited by s. Salminen, s. Von wright, a. And ouwehand a. (eds), marcel dekker, inc.633. Pp 1-66.

B

- 10-Badis A, Guetarni D, Moussa BB, Henni DE et Kihal M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiol. 21, 579-588.
- 11-Badis, A., Aouabdia-Sellami,L. Guetarni, D. , Kihal, M., Ouzrout,R.(2005).** Caractérisation phenotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ».Sciences et Technologie C N23 :30-37

- 12-Bakhouche et Baoulahrouf, 2005** Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de Constantine. Science technologique. C N° 23, 38-47.
- 13-Béal C., Louvet, P. et Corrieu, G. (1989).** Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pures culture of Streptococcus thermophilus 404 and Lactobacillus bulgaricus 398. Appl MicrobiolBiotechnol 32: 148-154.
- 14-Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. Et Obert J.P,2008** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (corrieu g.et luquet f.m.). Tec & doc, lavoisier. Paris. 661-765.
- 15-Belyagoubi L., 2014** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de doctorat en biologie.université aboubakrbelkaïd-tlemcen. 170p.
- 16-Bergamaier, D., (2002)** - Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de Lactobacillus rhamnosus RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de doctorat. Université de Lavat. Canada : 298p.
- 17-Bourgeois C.M et Larpent JP , 1996** Microbiologie alimentaire : aliments fermentés et fermentations alimentaires. tec & doc, lavoisier. Paris. 432-704.
- 18-Buffera M, Morais J , Jimenez –Belenguer A. (2005)** Technological characterisation of lactic acide bacteria isolated from raw ewe's milk for cheese making .Milchwissenschaft.61,404-407
- C**
- 19-Carr FJ ,Hill D, Maida N.(2002)** .The lactic acid bacteria : Aliterature survey .Crit.Rev.Microbial.28, 281-370
- 20-Chamba and Prost, (1989)** Mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques thermophiles utilisées pour les fabrications des fromages à pâte cuite
Lait, 69 (1989), pp. 417-43
- 21-Chaves A.C., fernandez M., Lerayer A.L., Mierau L., Kleerebezem M., & Hugenholtz J., 2002** : Metabolic engineering of acetaldehyde production by Streptococcus thermophilus. *Applied Environmental Microbiology*. 68: 5656- 5662.
- 22-Chavvari, E.J., NUNEZ J.A. and NUNEZ M., (1983).** Behavior of Streptococcus lactis in heat treated (80 °C for 30 min) or sterilized cow's or ewe's milk. Journal of Dairy Research, 50, 357-363.

- 23-Chen Y. M., Weaver, C. A., & Burne R. A., 2000:** Dual function of *Streptococcus salivarius* urease. *Journal of Bacteriology*. 182: 4667–4669.
- 24-Chen, Y. S., Yanagida, F. et Shinohara, T., 2004:** Isolation and identification of lactic acid bacteria from soil using an enrichment procedure. *Lett. Appl. Microbiol.* 40, 195-200.
- 25-Collins Md, Samelis J, Metaxopoulos J et Wallbanks S. (1993).** Taxonomic studies of some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol*vol. 75, 595-603.
- 26-Crittenden R.G., Martinez N.R., & Playne M.J., 2003:** Synthesis and utilisation of folate by yogurt starter cultures and probiotic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 80:217-22.

D

- 27-Damin, M. R., Minowa, E., Alcantâra, M. R. et Oliveira, M. N., 2007:** Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *J. Texture. St.* 39, 40-55.
- 28-De Angelis, M. et Gobbetti, M., 2004:** Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *Proteomics*. 4, 106-122.
- 29-Delbès C.,2015.** Ecologie microbienne: une démarche pour la maîtrise de la qualité des fromages au lait cru. INRA Communication journée Mars 2015 : Science et impact.
- 30-Delgado A, Dulce B, Pedro F, Cidalia PJ et Figueiredo M. (2001).** Antimicrobial activity of *L. plantorum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives. *Lait*.81, 203-215.
- 31-Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. Et Janssens D., 1994 ;** .caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : bactéries lactiques (de roissard h. Et luquet f.m.). *Lorica, urriage*. 1 : 25-116.
- 32-Delorme, C., 2008:** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*. 126: 274- 277
- 33-De Roissart. H.B. (1986).** Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris, pp: 343-407
- 34-Desmazeaud, (1983)** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Lait*. 63 : 267-316.

- 35-Desmazaud,M., 1998.** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières INRA. 1-3.
- 36-Desmaures N., (1995)** Étude des laits de haute qualité : caractéristiques et aptitude microbiologique à la transformation en camembert au lait cru. Thèse de doctorat de l'université de Caen, 1
- 37-De Vos P ,Garrity G. ,M Jones , D Krieg N, R .Ludwing W.,Rainy F.A.,Schleifer K.H and Whiteeman W.B , (2009)** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology : The firmicutes* .Second Edition Volume Three , Springer.
- 38-Donkor.2007 ;** Proteolytic activity of Dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and invitro angiotensin Converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Inra, edp sciences.86: 21-38.
- 39-Dubernet S., Desmaures N.,Guéguen M.,2008.**Diversity and dynamics of lactobacilli populations during ripening of RDO Camembert cheese.Canadian Journal of Microbiology . 54, 218-228.
- 40-DurluÖzkaya. Aslim B. And Taha Ozkaya M 2007 ;**Effect of exopolysaccharides (eps) produced by lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. Lwt -food science and technology. Vol.40, 564-568.
- 41-Durso,L. Hutkins,R (2003)** in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition),

E

- 42-Ebenezer et Vedamuthu ,(1991)** Streptococcus Lactis containing plasmids encoding for mucoidness and method for identifying such strains.
- 43-Edima,H.C.,(2007).**Carnobacterium, maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de doctorat. INPL et PhD. Université de Ngaoundéré.165p.
- 44-Ennadir J, Hassikou R., Al Askari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah L., Amine S. A., Khedid K., 2014** Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and genotypic characterization of Lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco) .J.Mater. Environ.Sci.5 (4). Pp1125-1132.

F

- 45-Facklamet Elliot,(1995)**Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clinical Microbiology Reviews* 8(4):479-95 · November 1995
- 46-Farkey. N.Y., MADKOR S.A. and ATKINS H.G., 1995.** Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. *Int Dairy J* 5: 715-725.
- 47-Fecklam R, (2002)** What Happened to the Streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews*. 15: 613-630.
- 48-Federighi M,(2005).** Les bactéries lactiques. In : « Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments ». Lavoisier éd., Paris.France. pp. 101-130.
- 49-Fira, D., Kojic, M., Banina, A., Spasojevic, I., Strahinic, I. et Topisirovic, L., 2001:** Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. *J. Appl. Microbiol.* 90, 123-130.

G

- 50-Ganzele G, Michael, Alexndra Holtzel, Jens Walter,Gunther Jung, Et Walter P, Hammes. (2000).** Characterization of Rentericyclin Producet By *Lactobacillus Reuter* Lth 2584. *Appl And environ, Microbiol.* 4325-4333.
- 51-Garrity G., Brenner D., Krieg N. et Staley J., 2008 -** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes. Originally published by Williams and Wilkins, 1984, 2 nd ed. Hardcover. Vol: 3: 1450 p.*
- 52-Ghazi A. E., Kamal M. and Correia L. R. 2009.** Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. *Bioresource Technology* 96(10): 1143-1152
- 53-Grattepanche, F., 2005:** Etude d'un système de préfermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle, thèse pour l'obtention du grade de Ph.D en sciences et technologies des aliments. Université Laval. Québec. 1-156.
- 54-Guiraud ,1998** Microbiologie alimentaire. 1e Ed.. Dunod, Paris, 136-144.
- 55-Guiraud J P, 2003** Microbiologie alimentaire. Tec & doc, dunod. Paris. 90-292.
- 56-Guyot, (1992)** Les yaourts. D.L.G. Food Tec., p: 4-8-10-11.

H

- 57-Hadef, S. (2012).** Evaluation des aptitudes technologiques et Probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 58-Harrigan W.F et Mc Cance M.E, (1976)** Laboratory Methods in Microbiology, Academic press, London and New York.
- 59-Harlander, S (1993)** Screening Methods for Detecting Bacteriocin Activity In book: Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria, pp.23-39 .
- 60-Hassan, A. N. et Frank, J. F., 2001:** Starter cultures and their use. Appl. Dairy Microbiol. 2nd ed. Dekker, 2001. 151-207.
- 61-Hatting, R. W. et Viljeon M ., 2001:** Metabolism of starter cultures. Appl. Dairy Microbiol. 2nd ed. Dekker, 2001. 207-241.
- 62-Helink S., Le Bars D., Moreau D., & Yvon M., 2004:** Ability of thermophilic lactic acid bacteria to produce aroma compounds from amino acids. Applied and Environmental Microbiology. 70: 3855–3861.
- 63-Hemme D., Wahl D. et Nardi M., (1980).** Variations de l'équipement enzymatique de *Streptococcus thermophilus*. Lait. 60 : 111-129.
- 64-Hikmate A, Benour N, Antonio C, Caballero N, Miguel Aff,Prévez-Pulido R,Galvez A.2012** Characterization of lactic bacteria from naturally fermented manzanilla alorena gveen table olives. Food microbiology. 32, 308-316
- 65-Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. Et Caubet R.,(2007)**Isolation and identification of lactic acid bacteria (lab) of the nem chua fermented meat product of vietnam. Int. Workshop on food safety and processing technology. 134-142.
- 66-Hogg T, 2005** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. pp.188-190.
- 67-Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D., Leblond-Bourget N., Decaris B., Blotin A., Delorme C., Dusko Ehrlich S., Guedon E., Monnet V., Renault P., & Kleerebezem M., (2005) :** new insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. FEMS Microbiology Reviews. 29 :435-463.
- 68-Holzappel et al., 2001 W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U. 2001.** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr, 73(suppl): 365S–73S.
- 69-Hutkins, R. W., 2001:** Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. J. Appl. Microbiol. 100, 1324-1332.

I

70-Irlinger F., Layec S., Helinck S., Dugat-Bony E., 2015.Cheese rind microbial communities : diversity, composition and origin .FEMS Microbiol.Lett .362, 1-11 .doi :10.1093 : femsle/fnu015.

71-Ivanova I Miteva V., Stefanova T., Pantev A., Budakov I., Danova S., Moncheva P., Nikolova I., Dousset X., & Boyaval P., (1998) : Characterization of bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*. 42:147-58.

72-Iyer R Tomar S.K., Uma Maheswari T., & Singh R., (2010): *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*. 20:133-141.

J

73-Juillard.V., Spinnler H.E., Desmazeaud M.J. Et Boquien C.Y.,1987 Phénomènes de coopération et inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. *Le lait*. 67 : 149-172.

K

74-Kandler, O. & Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, pp. 1209–1234. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins.

75-Konings W.N., Lolkema, J.S., Bolhuis, H., van Veen, H.W., Poolman, B. et AJMI, D. (1994). Mécanisme du transport des nutriments dans bactéries lactiques In : De Roissart, H. et Luquet, F. M., *Bactéries lactiques*. Lorica, uriage 1 : 209-238

76-Klaenhammer, (1988);*les bactériocines des bactéries lactiques, caractéristiques et intérêts pour la conservation des produits alimentaires*. BASE.VOLUME 13. 2009

77-Krieg, NR. (2001). The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria-Identification of procaryotes. In *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Garrity GM., Boone DR., Castenholz R. W. Williams and Wilkins, Baltimore.721, 33-38.

L

- 78-Labaoui H, Elmoualdi L, El Yahiaoui M Et Ouhssine M.(2005)** Sélection de souches des bactéries lactiques antibacterienne. Bal doc dparm. Bordeaux, 144, 237-250.
- 79-Lafarge V.Ogier J.C., Girard V., Maladen V., Leveau J.Y., Gruss A. And Delacroix-Buchet A., 2004.** Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. Applied and environmental microbiology. 70, 5644-5650.
- 80-Lamontagne Michel Claud P. ,Reitz A., Sylvain M ., Nancy G ., Maryse L., Julie J Et Ismail F,2002** Microbiologie de lait .science et technologie de lait. Ecole polytechnique de montéreal.
- 81-Lane C N et Fox P F, (1996)** Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. International dairy journal.6, 7, 715-728.
- 82-Langella . P., Nouaille S., Commissaire J., Bolotine A.,Gruss A. et Le Loir Y.. (2001).** Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis*. Lait 81, 19-28.
- 83-Larpent SP, (1997)** Microbiologie alimentaire. Tec & doc, lavoisier. Paris. 10-72.
- 84-Laurent S. (1998).** *Manuel de bactériologie alimentaire*. Poly technica Paris. 307 pages.
- 85-Law et Haandrikman.,(1997).** Proteolytic enzymes of lactic acide bacteria.int dairy j .7 :1-11.
- 86-Leclercq-Perlat et al.,(-2004)**Controlled production of Camembert-type cheeses. Part I: Microbiological and physicochemical evolutions J Dairy Res 71(3):346-54 . September 2004
- 87-Lejeune R., Callewaert, R., Crabbé, K. et De Vuyst, L.(1998).** Modelling the growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 in batch cultivation. J Appl Microbiol 84: 159-168.
- 88-Leroy, F. and De Vuyst ,L. (2004).** Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation industry , Trends Food Sci. Technol. 15 : 67-78
- 89-LevanderetRadstrom,(2001)**Requirement for phosphoglucomutase in exopolysaccharide biosynthesis in glucose and lactose-utilizing *Streptococcus thermophilus*. Applied and Environmental Microbiology. 67: 2734–2738.

90-Leveau et Boiux M. Et De Roissart H.B.. 1991 La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro- alimentaires. 2ème ed., tec & doc, lavoisier. Paris. 3: 2-40.

91-Leveau et Bouix.,(1993) ; Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & doc, lavoisier. Paris. 85-87.

92-Luquet, F M., (1986) - Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .Technique et Documentation. Paris : pp 343-442.

93-Luquet FM et Corrieu G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 3-37.

94-Lynch. C.M., Mc Sweeney P.L.H., Fox P.F., Cogan T.M. And Drinan F.D., (1997).contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. Lait 77, 441-459.

M

95-Magnusson et al.(2001)Attitudes towards organic foods among Swedish consumers British Food Journal 103(3):209-227 · April 2001

96-Mahaut M., Jeantet R., Brulé G. et Schuck P. (2000). Les produits industriels laitiers. Editions Tec et Doc.

97-Mami, A., 2007: Le biocontrôle de Staphylococcus aureus par les bactéries lactiques du genre Lactobacillus isolées du lait cru de chèvre. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie appliquée. Université d'Oran. 1-156.

98-Marciset O., Jeronimus-Stratingh M.C., Mollet B., & Poolman B., 1997: Thermophilin 13, a nontypical antilisterial poration complex bacteriocin that functions without a receptor. Journal of Biological Chemistry. 272: 277-284.

99-Marilley, L. et Casey, M. G., 2004 : Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. Int. J. Food. Microbiol. 90, 139-159

100-Marshall, V. M. et Cole, W. M., 1983: Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus acidophilus and their contribution to flavor production in fermented foods. J. Dairy. Res. 50-375.

101-Matamoros S, 2008 Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Etude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de nantes.189p.

102-Mäyrä-Mäkinen et Bigret .2004 Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (salminen s., wright a.v. Et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, inc. New york, 73-102.

103-Meyers, S.A , Cuppett, S.L et Hutkins , R.W ., 1996 .Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil .Food Microbiol .13 : 383-389

104-Mokoena, M.P., Mutanda .T., and Olaniran, A.O (2016) .Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages .Food and nutrition research 60,2963.

105-Monnet C., Mora D. & Gorrieu G., 2005: Glutamine synthesis is essential for growth of *Streptococcus thermophilus* in milk and is linked to urea catabolism. *Applied Environmental Microbiology*. 71:3376-3378.

106-Monnet V., Latrille E., Beal C. Et Corrieu G.(2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : bactéries lactiques de la génétique aux ferments (corrieu g. Et luquet f.m.). Tec & doc, lavoisier. Paris. 512-592

107-Mora D., Fortina M. G., Parini C., Ricci G., Gatti M., Giraffa G., 2002: Genetic diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology*. 93: 278– 287.

108-Mora D., Maguin E., Masiero M., Parini C., Ricci G., Manachini P. L., 2004: Characterization of the urease genes cluster of *Streptococcus thermophilus*. *Journal Applied Microbiology*. 96: 209–219.

109-Mora D., Monnet C., Parini C., Guglielmetti S., Mariani A., & Pintus P., 2005 :Urease biogenesis in *Streptococcus thermophilus*. *Research in Microbiology*. 156: 897–903.

O

110-Ogawa H., Gomi T., & Fujioka M., 2000: Serine hydroxymethyltransferase and threonine aldolase: are they identical *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 32:289-301.

111-Orla-Jensen S., 1919. The lactic acid bacteria. A.f. hostand son, koenighichen hofboghandel, copenhagen.

112-Ortiz DE APODACA M.J., SELGAS M.D. and ORDOIIEZ J.A., (1993). Lipolytic and proteolytic activities of micrococci isolated from cheese. *Food Research International*. 26: 319-325.

113-Ott A., Germond J.E. & Chaintreau A., 2000: Origin of acetaldehyde during milk fermentation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48:1512-1517.

114-Ouali,S., 2003 - Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage .Mémoire De Magister en Sciences Alimentaires. Université Frères Mentouri. Constantine. Algérie : 296p

P

115-Petit C., Grill J. P., Maazouzi N., & Marczak R., 1991: Regulation of polysaccharide formation by *Streptococcus thermophilus* in batch and fed-batch cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 36 (2): 216-221.

116-Pilet M.F., Magras C., Federighi M., 2005. Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire,(Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.

117-Poolman, B., 1993: Biochemistry and molecular biology of galactoside transport and metabolism in lactic acid bacteria. *Lait*. 73:87-96.

118-Prescott,L. M., Harley, J. P. et Klein, D.A. (2003) .Microbiologie. De boeck. p 104, 105.

R

119-Radke-Mitchell, L., Sandine, W. E., 1984: Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*: A review. *J. Food. Prot.* 47-245.

120-Rammelsberg. M., Muller E. et Rader F. (1990). Caseicin 80: purification and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Arc. Microbiol.* 154(3): 249-252.

121-Rajagopal, S. N. et Sandine, W. E., 1990: Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. *J. Dairy. Sci.* 73-894.

122-Raynaud S., Morge S.,Pétrier M., Allut G., Barral J., Enjalbert V., Reynaud C., Michel A., 2016.Caractérisation des conduites d'affinage à la ferme et étude des liens avec les paramètres d'ambiance des locaux et la qualité des fromages .Action 1 du projet qualité des fromages lactiques fermiers locaux et maîtrise de l'affinage. Rapport de fin d'étude collection résultats de l'institut d'élevage .En cours de publication

- 123-Rodriguez. J.M., Martinez M.I., Horn N. Et Dodd H.M., 2003.** Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Int. J. Food microbiol.* 80 : 101-116
- 124-Rosso L., Lobry, J.R., Bajards et Flandrois, J.P. (1995).** Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth . *Appl Environ Microbiol* 61: 610-6.
- 125-Roudj. S., Belkheir K., Zadi-Karam H. Et Karam N.E., 2009.** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud-Ouest Algérien. *European. J.Sci. Res.* 34 (2): 218-227.
- 126-Ruas-MadiedoP.,Hugenholtz J.AndZoon P., 2002.** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International dairy journal.* Vol. 12, 163-171.
- 127-Ruas-madiedo. P Altng A.C. And Zoon P., 2005.** Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International dairy journal.* Vol. 15, 155-164.

S

- 128-Serhan M., Cailliez-Grimal C., Borges F., Revol-Junelles A.M., Hosri C. Et Fanni J.,2009 .**bacterial diversity of darfiyeh, a lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food microbiol.*26 : 645-652.
- 129-Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S. et Corrieu, G., 2004:** The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 113–137.
- 130-Slover, C. M. et Danziger, L., 2008: Lactobacillus:** A review. *Clin. Micro. Newslett.* 4, 23-27.
- 131-Stiles M.E. And Holzapfel W.H., (1997).** Review article lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food microbiol.* 36: 1-29.
- 132-Streit. F., Corrieu G. Et Béal C., 2007.** Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* cfl1. *J. Biotechnol.* 128 : 659-667.
- 133-Streit, F., Corrieu G. and Béal C., 2008.** Acidification improves cryo tolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*CF11. *J. Biotechnol.* 128 : 659-667.
- 134-Suttract L., Federighi M. et Jouve J-L. (1998).** Manuel de bacteriologie alimentaire. Polytechnica. Edition, Paris. France.

T

- 135-Taillez., 2001** Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y'a près de 3 milliards d'années. Lait. 81, 1-11.
- 136-Tamime. A.Y., (1990).**Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), Dairy Microbiology, vol. 2. Elsevier, London. pp. 131- 201.
- 137-Tamime AY., Robinson R K., (1999) -** *Yoghurt Science and Technology*. CRC Press LLC. Woodhead publishing limited. 2 Ed. England : 619 p.
- 138-Tamime, A. Y., Saarela, M., Sondergaard, A. K., Mistry, V. V. et Shah. N. P., 2005:** Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-organisms. Dairy. Prod. 39–72.
- 139-Topisirovic et al ,2006** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation International Journal of Food Microbiology 112(3):230-5
- 140-Thompson J et Gentry-Weeks C.R, (1994)** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In: Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F M.). Loriga. Uriage: 1: pp 239- 290.
- 141-Trepanier, G., Simard, R. E. et Lee, B. H., 1991:** Lactic acid bacteria relation to accelerated maturation of cheddar cheese. J. Food. Sci. 56-1238.

V

- 142-Vandamme.P.Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. Et Swwings J., 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. 60 : 407.
- 143-Van den Bogaard P.T., Hols P., Kuipers O.P., Kleerebezem M. & de Vos W.M., 2004:** Sugar utilisation and conservation of the gal-lac gene cluster in Streptococcus thermophilus. Systematic Applied of Microbiology. 27: 10-17.
- 144-Van de Meer, JR.et al .(1993) .in** bactéries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica .2009. p 100
- 145-Vandler M ., Suskovic, J., Brkic, B., Matosic, S. et Maric, V., 1986:** Lactobacillus acidophilus M92 as potential probiotic strain. Milchwissenschaft. 52, 430-435.
- 146-Vaillancourt K., Lemay J.D., Lamoureux M., Frenette M., Moineau S. & Vadeboncoeur C., 2004:** Characterization of a galactokinase-positive recombinant

strain of *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 4596-4603.

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

148-Vignola C.L., 2002. *Science et technologie du lait, transformation du lait.* Presses internationales polytechnique, Québec; 608p.

149-Visser, S., Hop, G., Exterkate, F. A. et Stadhouders, J., 1983: Bitter flavour in cheese. Model studies on the formation and degradation of bitter peptides by proteolytic enzymes from calf rennet, starter cells, and starter cell fractions. *Neth. Milk Dairy. J.* 37-169.

150-Voisin, A. (2010) Influence du type d'alimentation sur la texture et la saveur du fromage

W

151-Walling E.G., Indreau E. et Lonvaud-Funel A., 2001. La biosynthèse d'exopolysaccharides par des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. *INRA*. 289-300.

152-Ward D.J. & Somkuti G.A., 1995: Characterisation of bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* ST 134. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43: 330-335.

153-Welman A.D et Maddox.I.S,2003 Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*. Vol. 21, 269-274.

154-Wilson A.R., Signee D. et Epton H. A. S. (2005). Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strain SK1 against *Listeria monocytogenes* due to lactic acid production. *J. Appl. microbiol.* 99 : 1516-1522.

155-Wisselink.H.J, (2002) Multiplex PCR assays for simultaneous detection of six major serotypes and two virulence associated phenotypes of *Streptococcus suis* in tonsillar specimens from pigs . *Clin Microbiol* 40.2922-2929.

Y

156-Yateem. A., Balba M. T., Al-Surrayai T., Al-Mutairi B., Al-Daher R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.* , 3.pp. 194-199.

157-Yvon M. (2006) .Key enzymes for flavor formation by lactic acid bacteria
.Australian Journal Dairy Technology .61,16-24

Z

158-Zirnstein G. et Hutkins R., 2000.Streptococcus :Streptococcus thermophilus In
Encyclopedic food microbiology.Edited by R.K Robinson,C.A. Batt et P.D
Patel.London:Academic press

159-Zourari A., Accolas J.P. And Desmazeaud M.J., 1991. Metabolism and
biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. Lait. 72: 1-34.

Table des matières

Table des matières

Abréviations , acronymes et sigles

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Résumé

Abstract

ملخص

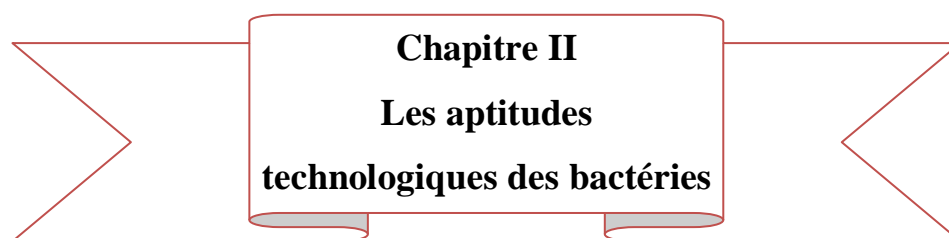
Introduction----- 11

Chapitre I

Les bactéries lactiques

1. Les bactéries lactiques-----	14
1.1.Historique et généralité -----	14
I.2. Habitats des bactéries lactiques-----	14
I.3.Taxonomie des bactéries lactiques -----	14
1.4- Caractéristiques générales des bactéries lactiques -----	15
I.5- Classification -----	16
1.5.1- Les principaux genres des bactéries lactiques-----	17
1.5.2- Croissance des souches lactiques d'intérêt (température optimales de croissance)-	17
1.6- Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques thermophiles -----	18
1.6.1 Les glucides -----	19
1.6.2 L'azote -----	19
1.6.3 Les vitamines -----	19
1.6.4 Les minéraux -----	19
1.6.5 L'oxygène-----	20
I.7- Streptococcus thermophilus : un streptocoque atypique -----	20
I.7.1- Généralités-----	20
I.7.2-Propriétés métaboliques et physiologiques de S. thermophilus -----	21
1.7.2.1-Métabolisme des sucres -----	21
1.7.2.2-Activité protéolytique -----	24
1.7.2.3- Métabolisme des acides aminés -----	25
1.7.2.4- Activité uréasique-----	26

1.7.2.5- Biosynthèse des folates -----	26
1.7.2.6- Production de bactériocines -----	27
1.8-Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus -----	27
1.8.1- Métabolisme des lactobacilles -----	28
1.8.1.1-Métabolisme des sucres -----	28
1.8.1.2-Activité protéolytique -----	28
1.8.2-Potentiel technologique des lactobacilles -----	29
1.8.2.1 Propriétés technologiques des lactobacilles -----	29
1.8.2.2 Affinage des fromages-----	30
1.8.2.3 Fabrication du yaourt -----	30
1.8.2.3.1 Acidification-----	30
1.8.2.3.2 Aromatisation -----	30
1.8.2.3.3 Texture -----	31
1.8.2.4 Biopréservation des produits laitiers -----	31
1.9-Interactions entre les souches bactériennes -----	31
1.9.1- Définition -----	31
1.9.2- Les différents types d'interactions -----	32
1.9.3- Interactions positives-----	32
1.9.3.1 Commensalisme-----	32
1.9.3.2 Mutualisme -----	32
1.9.4 Interactions négatives-----	33
1.9.4.1 Amensalisme -----	33
1.9.4.2 Compétition-----	33
1.9.4.3 Parasitisme et prédation -----	33
1.9.5 Neutralisme -----	33
1.10- Culture bactérienne mixte-----	34
1.11- Symbiose entre Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus -----	34



Chapitre II
Les aptitudes
technologiques des bactéries

2-Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques-----	37
2.1 Pouvoir acidifiant-----	37

2.2 Pouvoir protéolytique -----	37
2.3 Pouvoir lipolytique -----	37
2.4 Pouvoir texturant -----	38
2.5 Pouvoir aromatisant -----	38
3-Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie laitière -----	38
3.1 Utilisation industrielle des bactéries lactiques -----	40
3.2 Utilisation dans le domaine alimentaire-----	40
4- Les effets des bactéries thermophiles dans l'industrie -----	40
4.1-Streptococcus thermophilus -----	40
4.2- Lactobacillus bulgaricus -----	40
5-Conservation de souche de bactérie lactique pure :-	41
5.1- Méthodes de conservation -----	41
5.1.1 Congélation -----	41
5.1.2 Lyophilisation -----	42



Matériel et Méthodes

1- Lieu et durée du travail -----	44
2- Origine des souches lactiques utilisées-----	44
3- Matériel et produit -----	44
3-1 Le matériel biologique-----	44
4- Milieu de culture -----	44
5- Revivification des souches lactiques -----	45
6- Purification des souches -----	45
7- Caractéristique macroscopique -----	45
8- Caractéristique microscopique -----	45
9- Test de la production de la catalase -----	46
10- Conservation des souches lactiques -----	46
10.1- Méthode de conservation : Congélation -18°C -----	46
11- Etude des aptitudes technologiques des souches lactiques -----	47
11.1-Pouvoir acidifiant -----	47
11.2-Pouvoir protéolytique -----	47
11.3-Pouvoir lipolytique -----	48
11.4-Pouvoir aromatisant -----	48

11.5-Pouvoir texturant-----	48
11.5.1-Détection de l'aspect des colonies -----	48
11.5.2-Recherche de type fermentaire -----	48
12- Essai de valorisation des souches lactiques dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle type camembert-----	48

Résultats et discussion

1- Résultats et Discussions -----	52
1-1.Revivification et purification des souches lactiques -----	52
1-2.Examen macroscopique -----	52
1-3.Examen microscopique -----	53
2- Résultats d'étude des aptitudes technologiques -----	54
2-1. Activité protéolytique -----	54
2-2.Activité lipolytique-----	55
2-3. Pouvoir acidifiant et évolution du pH -----	56
2-4. Recherche de type fermentaire -----	58
2-5. Pouvoir aromatisant -----	58
2-6. Pouvoir texturant -----	59
3- Essai de valorisation des souches lactiques dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle type camembert -----	60

Conclusion et Perspectives

Annexes

Références Bibliographiques

Résumé

Le présent travail vise la mise en évidence des aptitudes technologiques chez quatre souches lactiques thermophiles qui ont été déjà isolées à partir de fromages du terroir (camembert du Tessala), à savoir: le pouvoir acidifiant, protéolytique et lipolytique; la production d'acétoïne et d'EPS; et le profil fermentaire. Parmi ces souches, 2 sont des coques appartenant au genre *Streptococcus thermophilus* (St1 et St2) et 02 souches, des bacilles appartenant au genre *Lactobacillus acidophilus* (Lb1 et Lb2). Un essai de culture mixte est réalisé pour un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle stabilisée « le camembert ». Les souches (Lb1 et Lb2) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquable, avec des quantités très élevées en acide lactique [9,1g/l à 9,8g/l]. L'activité protéolytique s'est révélée intéressante chez les 02 souches de lactobacilles. Ces souches révèlent de bonnes propriétés technologiques (texture, aromatisation et coagulation) qui ont donné satisfaction à l'essai de fabrication du fromage camembert stabilisé. De même, leurs qualités microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles ont été très appréciées.

Mots clés : Souches lactiques thermophiles, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, aptitudes technologiques

Abstract

The aim of this work is to identify the technological aptitudes of four thermophilic lactic strains that have already been isolated from local cheeses, namely: The acidifying, proteolytic, and lipolytic power; the production of acetoin and EPS; and the fermentation profile. 02 strains are shells belonging to the genus *Streptococcus thermophilus* (St1 and St2) and 02 strains of bacilli belonging to the genus *Lactobacillus acidophilus* (Lb1 and Lb2). A mixed culture test shall be carried out for a test for the manufacture of a stabilised soft cheese "Camembert". The strains (Lb1 and Lb2) are the most efficient with remarkable acidifying power, including very high quantities of lactic acid [9.1g/l-9.8g/l]. Proteolytic activity was interesting in the 02 strains of lactobacilli. These strains reveal good technological properties (texture, flavouring, and coagulation) that have given satisfaction to the manufacturing test of Camembert cheese stabilized with the highly appreciated microbiological, physico-chemical and sensory qualities.

Keywords: *Thermophilic lactic* strains, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, technological