



DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

DELLAA Fouzia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER ENSCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Production et Transformation Laitière

THÈME

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

Soutenu publiquement le 10/07/19

DEVANT LES MEMBRES DU JURY

Président Dr BOUCHERF Djillali

Examinatrice Dr TAHLAITI Hafida

Encadreur Dr DAHOU A. El-Amine

Co-encadreur Dr RECHIDI SIDHOUM Nadra

Docent U. Mostaganem

Maître Assistante U. Mostaganem

Maître Assistant U. Mostaganem

Maître Assistante U. Mostaganem



Remerciements

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

J'adresse mes vifs remerciements à mon encadreur Dr DAHOU.A pour son grand aide, sa contribution exemplaire, sa collaboration, sa compréhension et l'intérêt porté à la réalisation de mon sujet.

Également je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à mon co-encadreur, Dr RECHIDI SIDHOUM N, qu'elle trouve ici toute ma sympathie et mon respect.

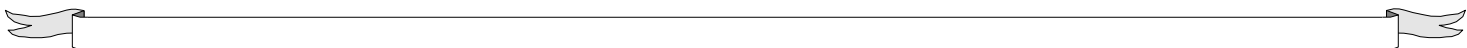
Je tiens à remercier vivement Dr BOUCHERF D. de m'avoir fait un immense honneur en acceptant de présider le jury

Mes vifs remerciements s'adressent également à Dr TAHLAITI H quia accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.

Un remerciement très particulier à l'ingénieur du laboratoire, M BENHARRAT N. Je remercie vivement le personnel et toute l'équipe du laboratoire de LSTPA qui m'ont soutenu, favorisé tous les moyens pour l'achèvement de ce travail.

Mes salutations respectueuses s'adressent aussi à tous mes enseignants de la spécialité Production et Transformation Laitière « P.T.L » pour leur contribution à ma formation durant mon parcours

Mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire





Dédicace

*Je dédie ce modeste travail tout d'abord aux personnes les plus chers à mon
cœur sur cette terre:*

*Ma chère mère Nouria qui a su habilement guider mes premiers pas dans ce
monde. Chère mère, j'avoue vraiment que tu es pour moi la lumière qui guide
mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, c'est grâce à toi que je
dois toute ma réussite; et à mon cher père Bouasria ce que je suis devenue
actuellement c'est grâce à tes efforts, à tes conseils et à ta surveillance.*

À mes chères sœurs: Khadidja et Dalila

À mes chers frères: Nourddine et Amine

À mes chers Grands parents et toute ma famille

À mes chères amies: Nassera, Nasrine, Imane, Hayet et Yamina

À vous tous merci



Résumé

Le présent travail vise la mise en évidence des aptitudes technologiques de quatre souches lactiques mésophiles isolées préalablement à partir d'un fromage du terroir le camembert du Tessala. L'étude a porté sur la détermination du pouvoir acidifiant, protéolytique, lipolytique, la production d'acétoïne et d'EPS, et le profil fermentaire. La majorité des souches sont des coques appartenant au genre *Lactococcus* et *Pediococcus*. Un essai de culture mixte est réalisé pour un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle traditionnelle « le camembert ». Les souches (Lc1 et Lc2) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquable, dont les quantités très élevées en acide lactique [11g/l-11,8g/l]. L'activité protéolytique et lipolytique s'est révélée intéressante chez les lactocoques. Ces souches révèlent de bonnes propriétés technologiques (texture, aromatisation, et coagulation) qui ont donné satisfaction à l'essai de fabrication du fromage à pâte molle de type camembert traditionnel avec des qualités microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles très appréciées.

Mots clés : Pouvoir acidifiant , Lipolytique , Protéolytique , *Lactococcus* , *Pediococcus*

Abstract :

The present work aims to highlight the technological abilities of four mesophilic lactic acid strains that have already been isolated from local cheeses, namely: acidifying, proteolytic and lipolytic properties; the production of acetoin and EPS; and the fermentative profile. The majority of strains are hulls belonging to the genus *Lactococcus* and *Pediococcus*. A mixed culture trial is conducted for a trial of making a traditional soft cheese "Camembert". The strains (Lc1 and Lc2) are the most powerful with remarkable acidifying power, including very high amounts of lactic acid [11g / l-11.8g / l]. Proteolytic and lipolytic activity was found to be of interest in lactococci. These strains reveal good technological properties (texture, aromatization, and coagulation) which have satisfied the test of manufacture of traditional Camembert cheese with the microbiological, physico-chemical and sensory qualities much appreciated.

Key words: Acidifying power, Lipolytic, Proteolytic, *Lactococcus*, *Pediococcus*

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تسليط الضوء على القدرات التكنولوجية لأربعة سلالات حمض اللبنيك التي تم عزلها بالفعل من الأجبان المحلية ، وهي: الحمضية ، وخصائص التحلل والبروتين. إنتاج ألسيتوين وملف التخمر. غالبية السلالات هي أجسام تنتمي إلى جنس الكتوكوكوس وبيديوكوكوس تجرى تجربة زرع مختلطة لصنع جبنة طرية تقليدية كامومبر. السلالات هي القوى مع قوة تحمضية ملحوظة بما في ذلك كميات عالية جدًا من حمض اللبنيك [11 جم / لتر - 11.8 جم / لتر]. تم العثور على النشاط الحبيبي والمحلول الدهني ليكون ذا أهمية في المكورات اللبنية. تكشف هذه السلالات عن الخصائص التكنولوجية الجيدة (الملمس ، والروائح العطرية ، والتخثر) التي استوفت اختبار تصنيع جبن الكمبرت التقليدي مع الصفات الميكروبيولوجية والفيزيائية والكيميائية والحسية التي نالت تقديراً كبيراً.

الكلمات المفتاحية: القوة التحمضية، الدهنية، البروتينية، لكتوكوكوس، بيديوكوكوس

Liste des Abréviations, Acronymes et Sigles

BL : Bactérie lactique

CO₂ : Dioxyde de carbone

°D : degré Dornic

EPS: exopolysaccharides

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

Lb. : Lactobacillus

Lc. : Lactococcus

Lac : Lactococcus

LSTPA : Laboratoire de Recherche en Sciences Techniques et Production Animale

MRS: Milieu de Man Rogosa and Sharpe

NaCl : Chlorure de Sodium

NaOH : Hydroxyde de Sodium

Ped. : Pediococcus

PCA: Plate Count Agar

Ssp. : sous espèce

UV : ultra-violet

UI : Unité Internationale

UFC : Unité Formant Colonie

UHT : Ultra Haute Température

V/V : Volume par volume

VP : Voges Proskauer

Table des Matières

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction	11
--------------------	----

I. Synthèse Bibliographique **Chapitre I : Bactéries lactiques**

I.1 Présentation des bactéries lactiques.....	15
I.2. Habitat et origine des bactéries lactiques.....	15
I.3. Taxonomie des bactéries lactiques.....	15
I.4.Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques.....	18
I.4.2Le genre Lactococcus.....	18
I.4.6. Les genres Pediococcus.....	19
I.5.les exigence des bactéries lactique en nutriments.....	19
I.5.1.les glucides	19
I.5.2.l'azote.....	20
I.5.3.Les vitamines.....	20
I.5.4. Les minéraux.....	20
I.5.5. L'oxygène... ..	20
I.6 .Rôle des bactéries lactiques.....	21
I.6.1.rôle technologique	21
I.6.1.1. Production d'aromes.....	21
I.6.1.2. Production d'exopolysaccharides	21
I.6.2. Rôle dans la conservation.....	21
I.6.2.1. Production d'acides et diminution de pH.....	21
I.6.2.2. Production de peroxyde d'hydrogène.....	21
I.6.2.3. Production de bactériocines.....	22
I.7 Généralité métaboliques	22
I.8 Les ferments lactiques.....	22
I. 8.1.Définition.....	22
I. 8.2. Types de ferments lactiques	23
I. 8.2.1. Classification Selon la composition:.....	23
I.8.2.1.1. Les ferments purs.....	23
I.8.2.1.2 . Les ferments mixtes.....	23

1.8.2.1.3. C.1.Les ferments mixtes sélectionné.....	23
1. 8.2.2. Classification selon la température de croissance.....	23
1.8.2.2.1A Ferments mésophiles.....	23
1.8.2.2.2. B Ferments thermophiles.....	24
1.8.2.3. Critères de sélection des ferments lactiques	24
1.8.3. Rôle des ferments lactiques.....	24
1.9. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	25
1.9-1. Aptitude acidifiante	25
1.9-2. Aptitude protéolytique.....	26
1.9-3. Aptitude lipolytique.....	27
1.9-4. Aptitude aromatisant.....	28
1.9-5.. Aptitude texturant.....	28
1.10 Applications industrielles des bactéries lactiques	29

Chapitre II : Application des bactéries lactiques en technologie fromagère

2.1. Généralités sur les fromages.....	31
2.2. Les différentes bactéries lactiques utilisées en fromagerie.....	31
2.3. Rôles et propriétés attendues des bactéries lactiques en fromagerie.....	32
4 Technologie fromagère.....	34
4.1. Principes généraux de la technologie fromagère.....	34
4.2Les fromages à pâte molle.....	34
4.3.Composition physico-chimique de Camembert.....	35

II. Matériel et Méthodes

1-Lieu et objectif de l'étude.....	38
2- Origine des souches lactiques utilisées.....	38
3- Matériel et milieu	38
4. Produits chimiques et réactifs	38
5. Appareillage	38
6. Méthodes.....	39
6.1 Revivification des souches lactiques.....	39
6.2.-Etude de caractères morphologiques.....	39

6.2.1 Caractérisation macroscopique.....	39
6.2.2 Caractérisation microscopique:.....	39
6.4. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques:.....	40
6.4.1. Le pouvoir acidifiant.....	40
6.4.2. Le pouvoir protéolytique	41
6.4.3 Le pouvoir lipolytique	42
6.4.4 Le pouvoir texturant.....	42
6.4.5 Le pouvoir aromatisant par la Production d'acétoïne	42
6.4.6 Recherche du type fermentaire	42
6.5 Essai technologique des souches lactiques mésophiles dans la fabrication d'un fromage à pâte molle traditionnel type camembert.....	43
6.5.1. Etapes de fabrication suivant notre protocole expérimental établi.....	44
<i>III Résultats et discussion</i>	
I Préparation et contrôle des souches lactiques.....	46
1.1. Revivification et purification des souches lactiques.....	46
1.2 Examen macroscopique	46
1.3. Examen microscopique.....	47
II. Résultats de l'étude des aptitudes technologiques	48
2.1. Activité protéolytique.....	48
2.2. Activité lipolytique.....	49
2.3. Pouvoir acidifiant et évolution du pH.....	50
2.4. Recherche de type fermentaire	52
2.5. Pouvoir aromatisant.....	53
2.6. Pouvoir texturant.....	54
III .Essai de valorisation des souches lactiques dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle type camembert	55
Conclusion	66
Référence	69
Liste des annexes.....	79

Liste des figures

Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S.....	P17
Figure 02 : Système protéolytique des bactéries lactique.....	P26
Figure 03 : Principales voies de la lipolyse.....	P27
Figure 04 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques.....	P28
Figure05 : Utilisation commerciale et effets bénéfiques de quelques souches lactobacilles utilisées comme ferments alimentaires	P30
Figure 6 : La diversité des fabrications fromagères.....	P36
Figure07 :Le protocole établi pour la réalisation du test d'acidité.....	P41
Figure 08 : Diagramme de fabrication de Camembert	P43
Figure 09 : aspect des troubles de croissance dans les tubes	P46
Figure 10 : aspect macroscopique des bactéries lactococcus 1et 2	P47
Figure 11 : Aspect macroscopiques des bactéries pédiocoques 1 et 2.....	P47
Figure 12 : Aspect microscopique des lactocoques 1 et 2.....	P47
Figure 13 : Aspect microscopique des pédiocoques 1et 2.....	P48
Figure 14 :Activité protéolytique des pédiocoques.....	P49
Figure 15 : Activité protéolytique des lactocoque	P49
Figure 16 : Activité lipolitique des bactéries lactocoques.....	P50
Figure17 :Activité lipolitique des bactéries pédiocoques	P50
Figure 18 : gel lactique produit par pouvoir acidifiant des lacs 1 et 2	P51
Figure 19 : gel lactique produit par le pouvoir acidifiant des ped 1 et 2.....	P51
Figure 20 : Histogramme de l'évolution du pH des souches testées.....	P52
Figure 21 : profil fermentaire de nos souches étudier.....	P53
Figure 22 : Absence de production d'acétoine par les lactococcus et les pédicoccus	P54
Figure 23 : aspect des colonies (lac 1et lact2) sur milieu hypersaccharosé	P54
Figure 24 : aspect des colonies des bactérie (ped 1et ped 2) sur milieu hypersaccharosée ..	P55

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux Genres de bactéries lactiques (Matamoros, 2008)	P18
Tableau 02 : Rôle des ferments lactiques en fromagerie.....	P33
Tableau 3: Composition moyenne de fromage à pâte molle et à croûte fleurie de type Camembert.....	P23
Tableau 4: Diamètre des zones de l'activité protéolytique de souches testées.....	P49
Tableau 05: Diamètre des zones de lipolyse de l'activité lipolytique des souches lactiques...	P50
Tableau 06 : Evolution du pH –Acidité dornic en fonction du temps d'incubation par rapport à chaque souche	P51
Tableau 07 : Résultats des analyse physico-chimiques et microbiologiques des fromages au démoulage.....	P56
Tableau 08 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages après salage	P57
Tableau 09 : Résultats des l'analyses physico-chimique et microbiologique des fromages aj+3	P58
Tableau 10 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages à j+7	P59
Tableau 11 : Résultats de l'analyse physico-chimique et microbiologique des fromages à j j+10	P 60
Tableau 12 : Normes de suivi « F.I.L » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018.....	P61
Tableau13 Résultats du test de dégustation à J+16 pour notre fromage à base de souches mésophiles par rapport au témoin avec des souches thermophiles à J+10.....	63

Introduction

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

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**) .

Depuis une dizaine d'année, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de cultures lactiques à effets bénéfiques pour la santé ou "probiotiques" pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale (**Moller et al., 2007**).

Les recherches scientifiques sur les levains lactiques a conduit à l'utilisation d'associations complexes de bactéries lactiques. La possibilité de produire des souches pures permettrait de les associer de façon raisonnée suivant des critères technologiques (vitesse d'acidification, qualité aromatique), ou mieux, de les produire en mélange en contrôlant leur qualité. Dans ces deux cas, la connaissance des interactions entre ces souches serait très appréciable (**Julliard et al., 1987**).

Cette étude a pour objectif de faire la revivification et la purification de bactéries lactiques mésophiles (*Lactococcus* et *Pediococcus*), d'étudier leurs aptitudes technologiques et enfin de les utiliser dans un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle traditionnelle de type camembert et de le comparer par une analyse sensorielle à un même fromage de type stabilisé

Introduction

Ce manuscrit est structuré en trois parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour des généralités et la classification des bactéries lactiques, et leurs intérêts dans le domaine industriel

La deuxième présente l'application des bactéries lactiques en technologie fromagère (du camembert)

La troisième partie présente le matériel et les méthodes mises en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, les résultats obtenus et leur discussion sont rassemblés dans la troisième partie.

Chapitre I : Bactéries lactiques

I.1. Présentation des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique.

Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO₂ ...etc.) (Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005).

Elles sont à Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négatives, oxydase négatives généralement nitrate réductase négative, 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).

I. 2. Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. 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 ou des aliments ensemencés par les végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau et Bouix, 1991 ; Hassan et Frank, 2001).

I.3. Taxonomie des bactéries lactiques

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

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique et

biochimique classique demeure une pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (**Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al., 2007**).

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (**Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007**). Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (**Broadbent, 2001 ; Axelsson, 2004**).

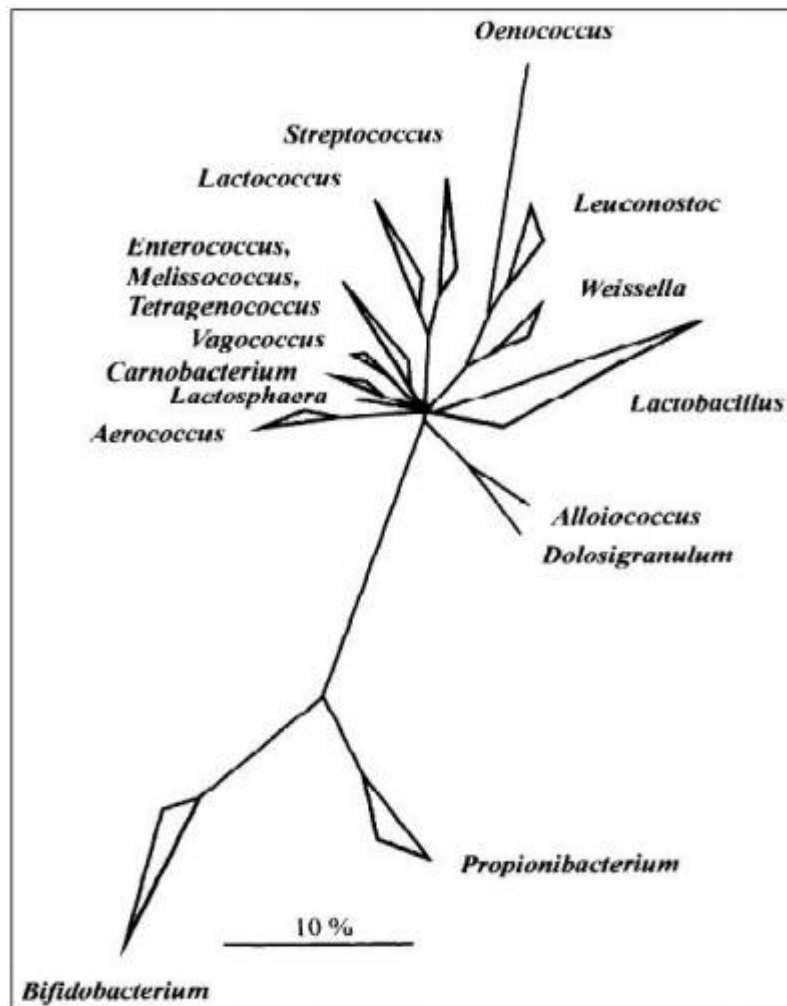


Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997)

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>

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

I.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

I .4.1. Le genre lactococcus

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits

« lactique », car ces bactéries sont associées à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (**Pilet et al., 2005**).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis* Ssp. *Lactis biovar. diacetylactis* produit le

diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C.

Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (**Tamime, 2002**). Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. Lactis ssp. lactis*, *Lc. Lactis ssp. cremoris* et *Lc. Lactis ssp. hordniae* (**Pot et al., 1996 ; Pot, 2008**).

I.4.2. Le genre *pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (**Pilet et al., 2005**).

I.5. Les exigences des bactéries lactiques en nutriments

I.5.1. 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) (**Ghaly et al., 2005**).

I.5.2. 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 (**Desmazaud, 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 (**Desmazaud, 1998**).

I.5.3. 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**).

I.5.4. Les minéraux

La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes (**Novel, 1993**).

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

lactocoques et une carence en cet élément donne lieu à une diminution de ce même acide (**Boyaval, 1989**).

Le potassium, 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**).

I.5.5. L'oxygène

Les bactéries lactiques sont communément appelées micro aérophiles. Ainsi, elles tolèrent de petites quantités d'oxygène, car 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 (**Singleton, 2002**).

I.6. Rôle des bactéries lactiques

I.6.1. Rôle technologique

I.6.1.1. Production d'arômes

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme est issu du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants **(Desmazeaud et al., 1992)**.

I.6.1.2. Production d'exopolysaccharides

Certaines souches de bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser et d'excréter, au cours de leur croissance, des polymères de sucre appelés polysaccharides exocellulaires ou EPS, qui permettent d'améliorer la texture et la viscosité du produit fini **(Thompson et al., 1994)**.

En général, la présence de polysaccharides dans des produits fermentés, tels les yogourts, permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable **(Desmazaud, 1983)**.

I.6.2. Rôle dans la conservation

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentielle dans la conservation des produits alimentaires **(Bousmaha et al., 2005)**, elles sont capables de produire une variétés de produits inhibiteurs dont les effets peuvent se répercuter sur la flore lactique elle-même mais aussi sur la flore indésirable ou pathogène **(Piard et Desmazaud, 1991)**.

I.6.2.1. Production d'acides et diminution de pH

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation et permettent d'inhiber la croissance des levures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide.

L'effet inhibiteur de ces acides organiques est principalement provoqué par les molécules non dissociées qui diffusent à travers les couches lipidiques des membranes des microorganismes provoquant ainsi un abaissement du pH dans le cytoplasme qui a pour conséquence la déstabilisation des cellules **(Dortu et al, 2009)**.

I.6.2.2. Production de peroxyde d'hydrogène

La production et l'accumulation de peroxyde d'hydrogène crée un environnement toxique

pour les cellules non équipées de système de protection capable de dégrader ce composé. Son accumulation est inhibitrice vis-à-vis des souches qui génèrent de peroxyde mais aussi vis-à-vis d'autres microorganismes **(De Roissart et Luquet, 1994)**.

I.6.2.3. Production de bactériocines

Les bactériocines sont des substances de nature protéique synthétisées par des bactéries et qui ont un pouvoir antibactérien dirigé contre des bactéries taxonomiquement proches du micro-organisme producteur **(Ammor et al.,2006)**. Ces peptides antibactériens ont une action contre les bactéries à Gram positif associées à l'altération de la qualité hygiénique des aliments et à certaines pathologies humaines

D'autres agents antimicrobiens sont ainsi produites : dioxyde de carbone (CO₂), l'acide acétique, le Diacétyle et l'acétaldéhyde **(Dortu et al.,2009)**

I.7 Généralité métaboliques

Les bactéries lactiques sont aéro-anaérobies ou micro aérophiles ,Ce sont aussi des bactéries exigeantes d'un point de vue nutritionnel car elles sont incapables de synthétiser un certain nombre d'acides aminés nécessaires à leur croissance et les obligent à trouver ces molécules dans leur milieu via un processus de nutrition azotée.

Les cultures ou les associations de souches de différentes bactéries lactiques ayant des exigences différentes permettent de favoriser les symbioses comme dans le yaourt. Leur culture demande des milieux riches en sucres, en acides aminés, en acides gras sels et, en vitamines et des milieux pauvres en oxygène. Elles sont généralement cultivées dans la gélose MRS .Elles sont aptes à survivre dans des milieux très acides (pH de 4 à5) **Ecole Nationale des Industries Laitières " N°345 du mois de Décembre 2016**

I.8. Les ferments lactiques

I.8.1. Définition

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plusieurs, ajoutée à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation. **(Leroy et De Vuyst., 2004 ; Mäyrä-Mäkinen et Bigre.,2004) .**

Le groupe des bactéries lactiques occupe un rôle important dans ces processus et une longue histoire d'application. Actuellement, on définit les levains ou 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**) .

I.8.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques sont classés selon leur fonction, leur température de croissance, et/ou leur composition (**Carminati et al., 2010**).

I.8.2.1. Classification Selon la composition

Selon la fédération internationale de laiterie 1997 les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories (**Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008**) :

I.8.2.1.1. Les ferments purs

Constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne. (**Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008**)

I.8.2.1.2. Les ferments mixtes

Ils sont formés d'un mélange de souches avec un nombre et proportions indéfinis, ce type de ferments ont en général, une bonne activité acidifiante. (**Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008**) .

I.8.2.1.3. Les ferments mixtes sélectionnés

Contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur. (**Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008**) .

I.8.2.2. Classification Selon la température de croissance

Les ferments lactiques sont classés en ferments mésophiles et ferments thermophiles : (**Chamba, 2008 ; Carminati et al., 2010**)

I.8.2.2.1. Ferments mésophiles

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. (**Chamba, 2008 ; Carminati et al., 2010**).

Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis*ssp. *cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. Lactis* ssp. *lactisbiovar. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*). **(Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010).**

Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre **(Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010).**

I.8.2.2.2 Ferments thermophiles

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

I.8.2.3.Critères de sélection des ferments lactiques

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur. Ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leurs performances et de leurs sécurités. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée **(Béal et al.,2008).**

La sélection d'un ferment lactique doit prendre en compte des critères de performance, Les bactéries devront répondre à certaines des spécificités suivantes **(Béal et al., 2008):**

- Résistance aux bactériophages et aux traitements mécaniques.
- Tolérance aux inhibiteurs de croissance (antibiotiques, chlorure de sodium, L'acidité, l'éthanol et la température élevée).
- Aptitude à la congélation ou à la lyophilisation et à la conservation ;
- Comportement en présence d'oxygène et Croissance à des températures non optimales ;
- Compatibilité avec d'autres souches ; facilité d'emploi.

I.8.3. Rôle des ferments lactiques

Les ferments lactiques interviennent dans la sécurité, la texture, le goût et la qualité organoléptiques de nombreux produits alimentaires. Les bactéries qui constituent ces ferments sont généralement des espèces connues qui sont sélectionnées pour leur activité globale

technologique : l'acidification, la protolyse, la production des bactériocines...ect

(DeRoissart et Luquet.,1994).

Plusieurs lactobacilles sont utilisés en tant que ferments lactiques (Lb.sakei, Lb.plauntarum et Lb pentosus) protecteurs dans les produits carnés . ils assurent un rôle inhibiteur de la croissance de bactéries indésirables, responsable de l'altération des aliments ou potentiellement pathogènes, ce rôle inhibiteur est attribué aux acides organiques et bactériocines produits par ces microorganismes **(De Roissart et Luquet.,1985).**

I.9. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques

I.9.1. Aptitude acidifiante

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 **(Mäyrä- Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008)**. Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent être représentées par :

- L'accumulation de l'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- L'abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- La limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux ;
- la déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse. Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches **(Béal et al.,2008 ;Monnet et al.,2008).**

I.9.2. Aptitude protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009**).

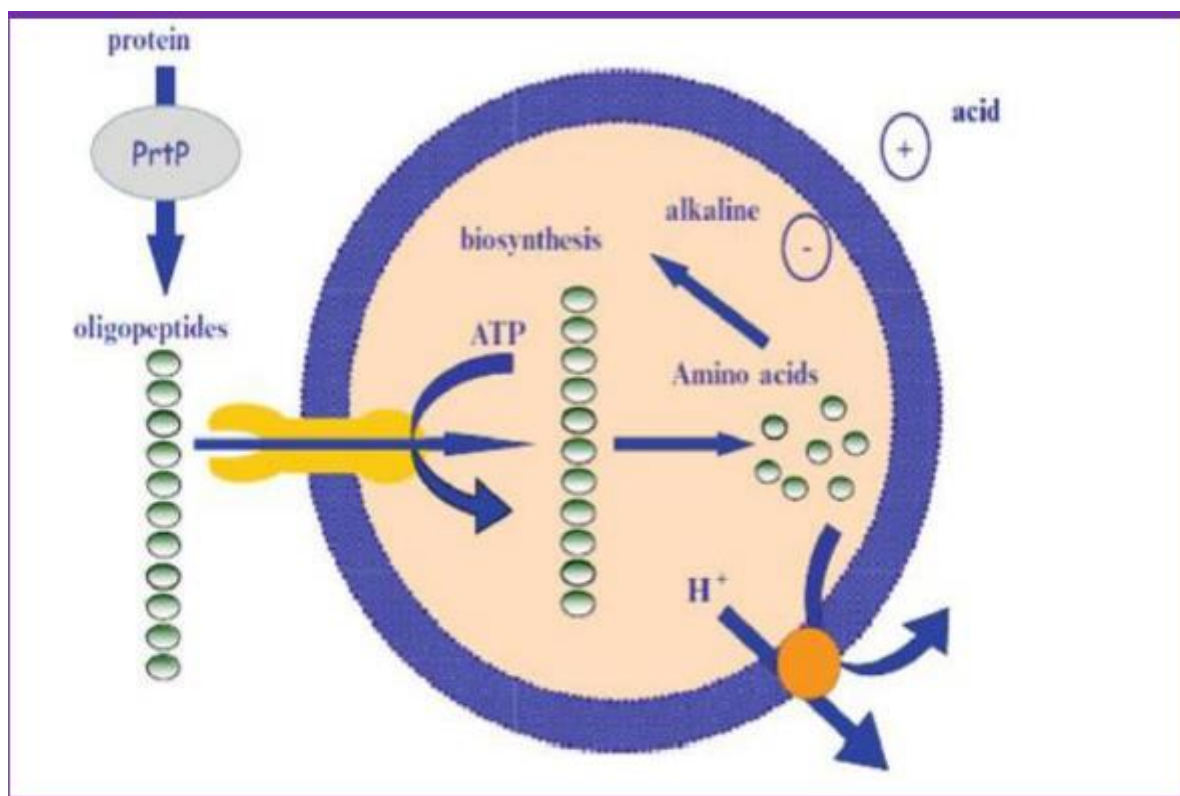


Figure 02 : Système protéolytique des bactéries lactiques (**Kunji et al., 1996**)

I.9.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal et al., 2008). D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal et al., 2008 ; Serhan et al., 2009).

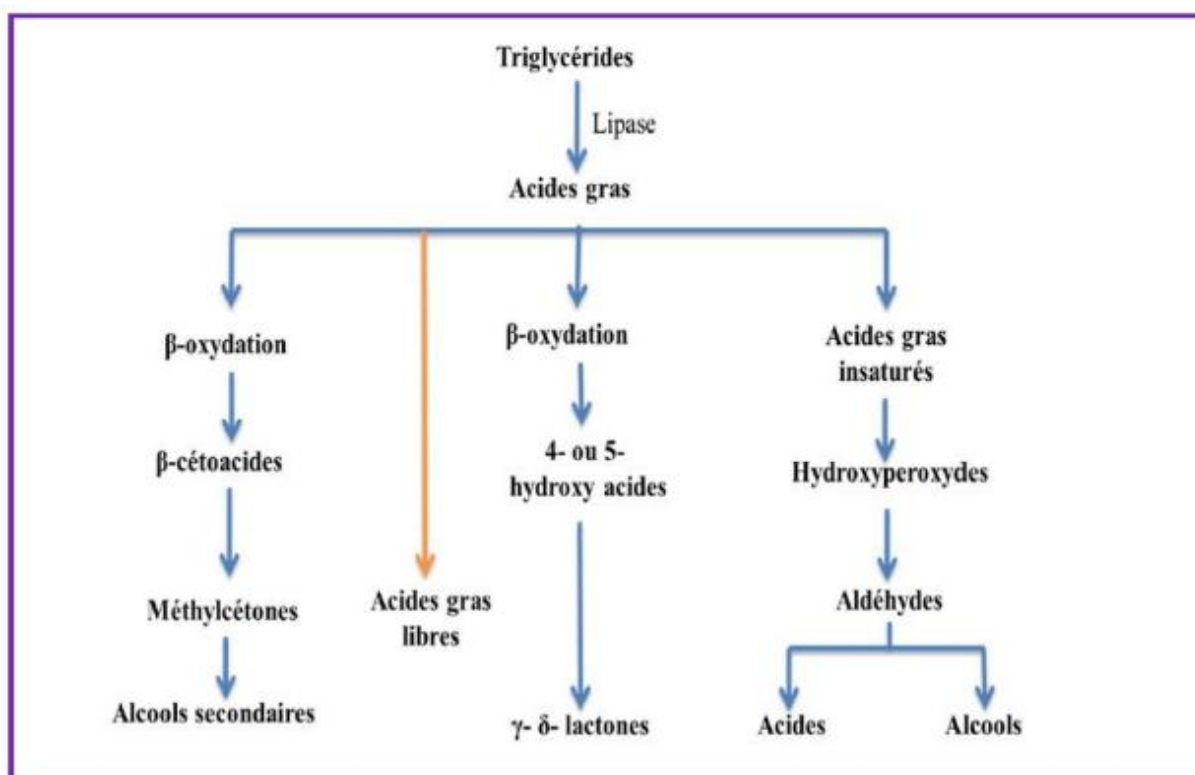


Figure 03 : Principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt et al., 2000).

I.9.4. Aptitude aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbiologique. (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et *al.*, 2005 ; Cholet, 2006).

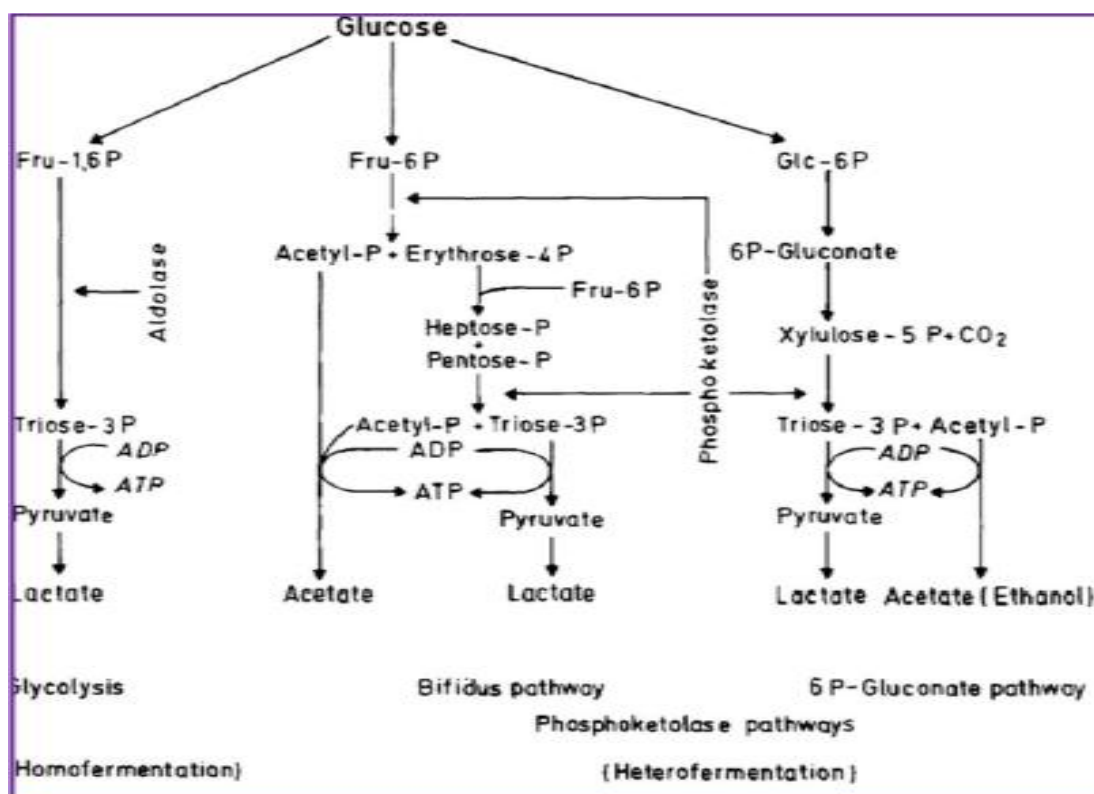


Figure 04 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Kandler., 1983)

I.10. Applications industrielles des bactéries lactiques

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'ou leur large spectre d'application dans de nombreux domaines alimentaires, pharmaceutiques, agricultures, vétérinaires ...etc. **(Streit et al., 2007).**

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie alimentaire est déterminée par leurs propriétés technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activités acidifiantes, et enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lipolytique), 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 et al.,2014).**

D'autres qualités ont depuis été associées aux bactéries lactiques lorsqu'elles sont associées aux produits alimentaires comme l'augmentation des valeurs nutritionnels des aliments, la réduction de la formation de produits toxiques et la propriété de probiotique. **(Ennadir et al.,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 et al.,2007).**

L'industrie laitière reste toujours , le plus grand utilisateur de bactéries lactiques sous forme de ferments lactiques commerciaux (Axelsson.,2004 ; Streit et al.,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 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). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques **(Rodriguez et al.,2003).**

Espèce	Utilisation industrielle
<i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactococcus cremoris</i>	La plupart des fromages, crèmes, beurres...
<i>Lactococcus diacetylactis</i>	Fromages (gouda, bleu, camembert), crèmes, beurres...
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Yaourts, fromages (parmesan, emmental, gruyère...), crèmes...
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Yaourts, laits fermentés...
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Fromages...
<i>Lactobacillus casei</i>	Fromages...
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Laits fermentés...
<i>Leuconostoc lactis</i> <i>Leuconostoc cremoris</i>	Fromages, crèmes...

Figure05 : Utilisation commerciale et effets bénéfiques de quelques souches de lactobacilles utilisées comme ferments alimentaires (Prioilt.,2003).

Chapitre II : Application des bactéries lactiques en technologie fromagère

II.1. Généralités sur les fromages

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans tout le globe. La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origines exclusivement laitières (lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage **(Bourgeois et Larpent, 1996 ; Jeantet et al., 2007)**.

La diversité des procédés fromagers (types de lait, de coagulation, d'égouttage, cuisson, flore et type d'affinage) permet d'obtenir des produits présentant des caractéristiques texturales et gustatives très différentes.

Il existe huit grandes familles de fromages : pâte fraîche, pâte molle, pâte persillée, pâte pressée, pâte dure, pâte filée, les fromages de lactosérum et, enfin, les fromages salés conservés en saumure **(St-Gelais et al., 2002)**.

Dans cet écosystème, les bactéries lactiques jouent un rôle primordial, non seulement parce qu'elles interviennent dès les premières étapes de fabrication des fromages, mais aussi parce que leur action est déterminante sur les autres microorganismes et le fonctionnement du bioréacteur fromage **(Chamba, 2008)**.

II.2. Les différentes bactéries lactiques utilisées en fromagerie

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autre, par leur activité acidifiante. Les lactobacilles utilisés pour leur activité acidifiante sont thermophiles et appartiennent au groupe I : *Lb. Delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. Delbrueckii ssp. lactis* et *Lb. helveticus*. Se développant assez difficilement au pH initial du lait, les lactobacilles thermophiles ne sont jamais utilisés seuls en fromagerie (Hassan et Frank, 2001 ; **Chamba, 2008**).

Lactococcus lactis est la seule lactocoque utilisée industriellement en fromagerie. Les deux sous espèces *Lc. Lactis ssp. lactis* et *Lc. Lactis ssp. cremoris* se distinguent essentiellement par leur capacité acidifiante et leur sensibilité à la température. Le biovar. *Lc. Lactis ssp. Lactis biovar. diacetylactis* utilise le citrate, produit du diacétyle, de l'acétoïne et du CO₂. Les lactocoques sont utilisés dans la majorité des technologies fromagères où ils peuvent constituer le seul ensemencement en bactéries lactiques. *Streptococcus thermophilus* est le seul streptocoque habituellement utilisé en fromagerie mais, toujours en association avec

d'autres espèces. Il y'a quelques années, une nouvelle espèce *St. macedonicus* a été mise en évidence (**Chamba, 2008**).

D'emploi moins fréquent, les leuconostocs sont essentiellement utilisés pour leur production de composés aromatiques et de CO₂ utile pour assurer l'ouverture de certains fromages. Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (groupe II) commencent à être utilisées comme ferment de fromagerie dont les principales espèces utilisables sont *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. paracasei* et *Lb. rhamnosus*. Par ailleurs, certaines souches parmi ces espèces sont utilisées pour leurs propriétés probiotiques (**Gardinier et al., 1998 ; Chamba, 2008**).

II.3. Rôles et propriétés attendues des bactéries lactiques en fromagerie

En fromagerie, l'objectif principal est d'atteindre les valeurs cibles en termes d'extrait sec, la gestion de l'égouttage est étroitement liée à l'acidification du produit au cours de sa fabrication. L'impact fermentaire sur la qualité des produits est donc très important. Les fournisseurs de ferments industriels proposent aujourd'hui des associations de ferments très spécifiques de façon à avoir la cinétique d'acidification souhaitée (**Branger et al., 2007**).

Les principales fonctions des bactéries lactiques en fromagerie sont résumées dans le tableau 02.

Tableau 02 : Rôle des ferments lactiques en fromagerie (Branger et al., 2007).	
Propriétés des ferments lactiques	Effets sur le produit
Transformer les sucres en acide lactique	Abaissement du pH - conservation des produits - limitation du développement de bactéries nuisibles - modification de la micelle de caséine Solubilisation des minéraux liés à la caséine - action sur l'égouttage des caillés (teneur en eau) - action sur la texture des fromages Diminution de la concentration en lactose - production de lactate (action sur la flaveur des fromages)
Transformer les sucres en CO ₂	Libération de CO₂ - ouverture utile en pâtes molles et pâtes persillées - ouverture nuisible en pâtes pressées
Transformer les citrates	Formation de diacétyl - recherché en fromages à pâte fraîche et molles
Transformer la caséine	Protéolyse pendant la maturation - activation de la croissance (peptides, acides aminés) Protéolyse pendant l'affinage - modification de la texture, couleur, flaveur
Produire des polysaccharides	Epaississement du milieu pour les pâtes fraîches - augmentation de la viscosité par libération de polysaccharide pendant la fermentation lactique

II.4 .Technologie fromagère

II.4.1. Principes généraux de la technologie fromagère

Le fromage correspond à une véritable conserve alimentaire, obtenue grâce à l'élimination plus ou moins poussée de l'eau du lait et de la récupération des matières sèches. Selon **Brulé et al., (1997)**, la transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales :

- _ La coagulation du lait qui est obtenu suite à des modifications physicochimiques des micelles de caséines sous l'action d'enzymes protéolytiques et (ou) de l'acide lactique, entraînant la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel,
- _ L'égouttage du caillé qui assure une déshydratation partielle du coagulum obtenu par séparation d'une partie du lactosérum,
- _ L'affinage qui se caractérise par des transformations biochimiques des constituants du caillé, essentiellement sous l'action d'enzymes microbiennes.

Dans la plupart des fabrications, entre l'égouttage et l'affinage, se situe l'opération de salage qui représente à la fois un complément d'égouttage et un facteur important de la maîtrise de l'affinage par action sur l'activité de l'eau.

Selon les paramètres mis en œuvre au niveau des différentes étapes de transformation du lait en fromage, **Lenoir et al.(1985) ..**

II.4.2 Les fromages à pâte molle

Les fromages identifient par une définition légale donnée par l'article 9 du décret du 26 octobre 1953 de la règlement française (**Cogitore. 1987**) précisant que les fromages à pâte mole sont des fromages ayant subi indépendamment de la fermentation lactique, d'autres fermentations, affinés, dont la pâte n'est ni cuite, ni pressé et qui dans le cas échéant, peuvent comporter des moisissures internes.

II.4.2.1 Le Camembert :

Le Camembert fait partie des fromages à pâte molle et à croûte fleurie (décret n° 60- 172 du 19 février 1960).

Ainsi, la dénomination Camembert est réservée à un fromage à pâte molle, à égouttage spontané, à caillé non déversé, en forme du cylindre plat, d'un diamètre de 10-11 à 15 cm, fabriqué avec du lait emprésuré, à pâte légèrement salée, à moisissures superficielles renfermant au moins 40 gramme de matière grasse par 100 gramme après complète

dessiccation et dont le poids total de la matière sèche ne doit pas être inférieur à 110 grammes
(Cogitore. 1987)

II.4.2.2. Composition physico-chimique de Camembert

Le fromage de type Camembert est riche en protéines, lipides, minéraux et vitamines,
Le tableau n°3 suivant présente la composition moyenne du fromage à pâte molle de type
Camembert.

Tableau 3: Composition moyenne de fromage à pâte molle et à croûte fleurie de type
Camembert (Guégen. 1979)

Eau	50(g)
Energie	310(mg)
Glucides	4(g)
Lipides	24(g)
Protéines	20(g)
Calcium	400(mg)
Phosphore	250(mg)
Magnésium	20(mg)
Potassium	150(mg)
Sodium	700(mg)
Zinc	5(mg)
Vitamine A	1010(U.I)

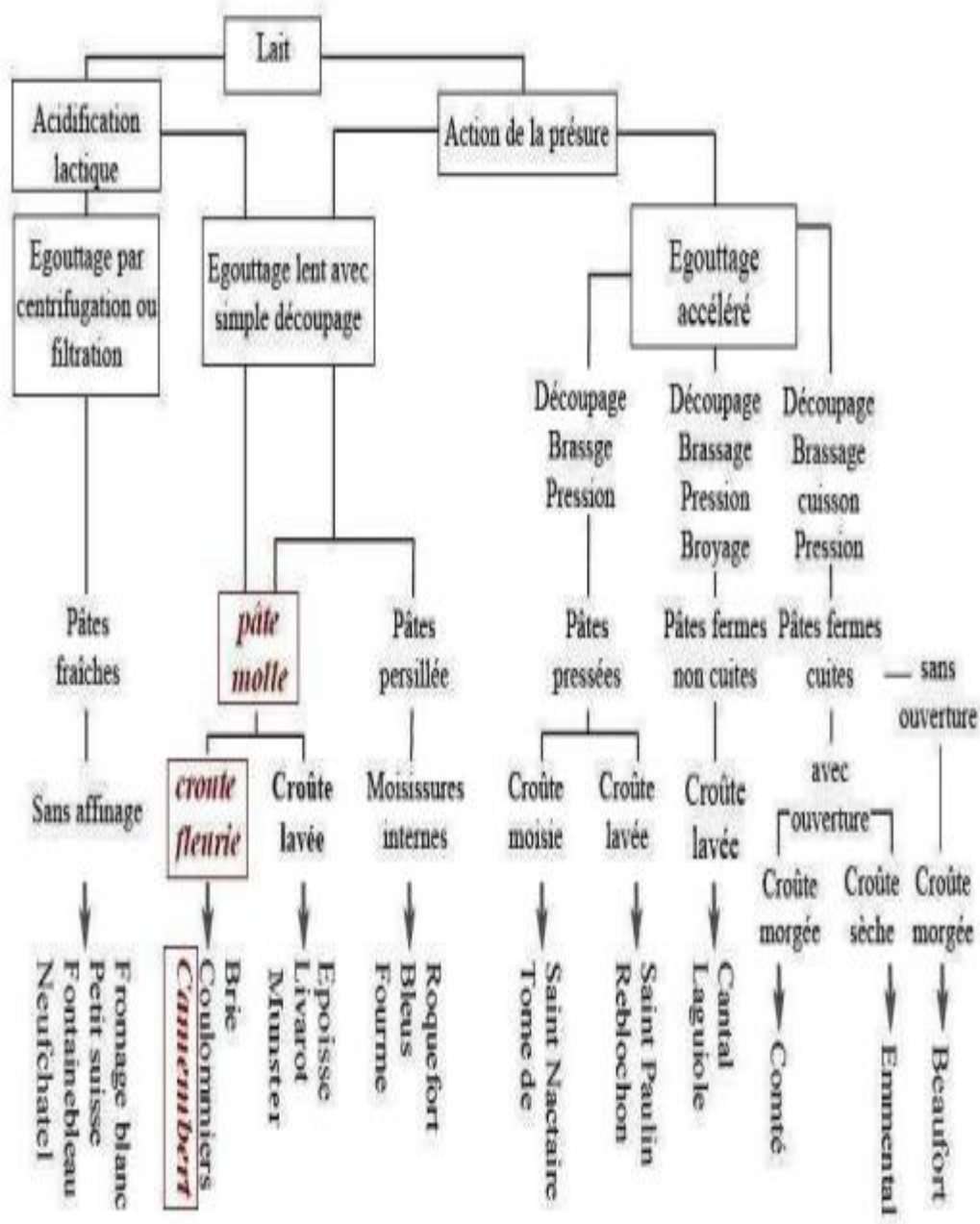


Figure 6 : La diversité des fabrications fromagères **Lenoir et al.(1985)**

1-Lieu et objectif de l'étude

Ce travail dans son intégralité a été 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

L'objectif défini pour cette étude est de déterminer:

- Quelques aptitudes technologiques de deux bactéries lactiques à savoir, issues d'un Fromage traditionnel (camembert du Tessala) préparé dans le cadre du Doctorat de Mr DAHOU.A
- d'essayer de valoriser ces bactéries testées dans la fabrication au laboratoire d'un fromage à pâte molle de type traditionnel

2- Origine des souches lactiques utilisées

Pour réaliser cette étude ; 04 souches de bactéries lactiques ont été fournies par mon encadreur de mémoire Mr DAHOU.A. Ces souches lactiques ont été préalablement identifiées par les galeries APICHL dans le cadre du doctorat.

3- Matériel et milieu

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

- Lait Silhouette à 0% M.G pour la revivification des souches
- lait de la vache de la ferme expérimentale
- Lait reconstitué pour un amendement protéique
- Eau physiologique : utilisée pour les dilutions.

Milieux de culture : les milieux de culture listés utilisés:

- Gélose aux triglycérides : pour l'étude du pouvoir lipolytique.
- Milieu PCA (Plate Count Agar) additionné de lait écrémé : pour l'étude du pouvoir protéolytique des différentes espèces testées
- Gélose hypersaccharosée pour l'étude du pouvoir texturant
- Gélose Gibson Abdelmalek pour l'étude du pouvoir fermentaire

6. Méthodes

6.1 Revivification des souches lactiques

Les souches lactiques identifiées auparavant et conservées sur milieu M17 glycérolé sont revivifiées d'une part sur bouillon M17 et d'une autre part sur du lait demi écrémé stérile.

La technique consiste à prendre un volume de 100 µl de la souche conservée et de l'ensemencer dans un tube à essai stérile contenant 5ml de bouillon M17 déjà préparé, après une incubation à 30°C (température optimale de croissance des espèces *Lactococcus lactis* et *pediococcus*) pendant 24 à 48 heures. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble sur le milieu. M17 et une coagulation du lait demi-écrémé

6.2.-Etude de caractères morphologique

6.2.1 Observation macroscopique

En se basant sur l'observation des colonies de *Lactococcus* et de *Pediococcus* permet de déterminer l'aspect, la taille, la forme, et la couleur des colonies des cultures bactériennes obtenues sur gélose M17

6.2.2 Observation microscopique:

L'examen microscopique a été effectué par coloration de Gram, sur des frottis bactériens de cette coloration, elle permet de décrire la forme (bacilles ou coques) des cellules, l'aspect (lisse, opaque, transparent) et leur mode d'association (amas ou isolé en chaînes).

. Test de production de 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)



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**).

6.4. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques:

6.4.1. Le pouvoir acidifiant

Ce test est réalisé pour mettre en évidence la capacité d'une culture inoculée sur milieu standard (lait stérilisé), à produire une grande quantité d'acide lactique (**Larpent, 1997**).

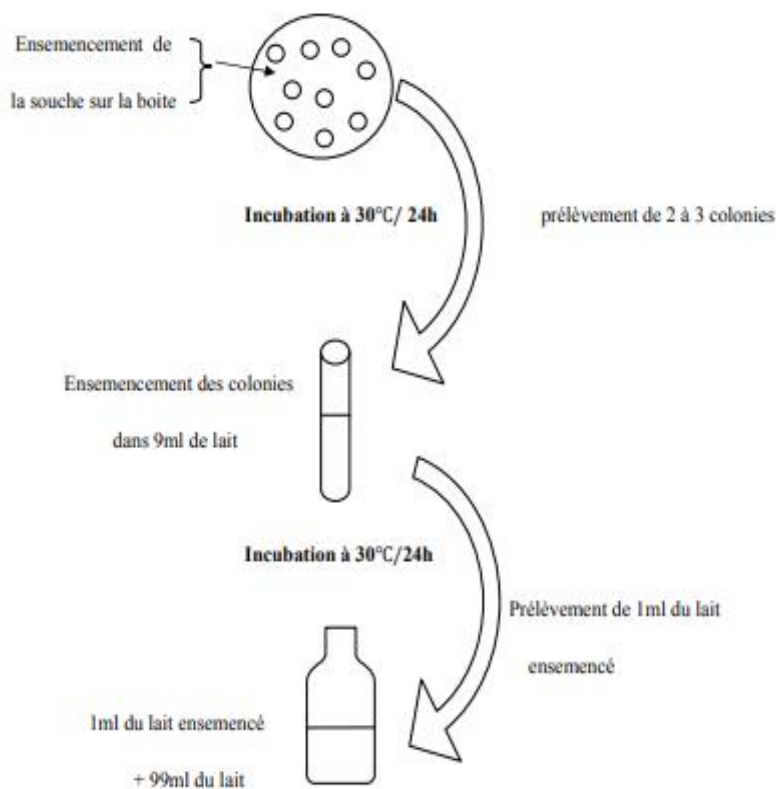
Il consiste en la préparation du milieu lait écrémé à 10% dans un flacon de capacité 250 ml. Après stérilisation et refroidissement à la température de 30°C, le flacon estensemencé par la culture lactique revivifiée.

Après incubation à 30°C, à un intervalle du temps 0h, 2h, 4h, 6h, 8h et 24h un volume 10ml du lait est prélevé puis titré par la soude Dornic en présence de 3 gouttes de phénolphthaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (**Larpent , 1990**).

L'acidité est déterminée par la formule :

Acidité (°D) = V NaOH x 10 Où : V NaOH: Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

.



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

soit 1D° = 0,1g d'acide lactique

Figure N ° 07:Le protocole à pour la réalisation du pouvoir acidifiant.

6.4.2 Le pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, le milieu protéolytique (PCA au lait écrémé) a été coulé, solidifiée et séchée. Ensuite les souches lactiques issues des pré-cultures de 24 heures, y sont ensemencées par la technique des multipoints à l'aide d'une micro-pipette sur des disques de papier wattman stériles déposés séparément sur la gélose du milieu protéolytique(chaque disque recevra un volume de 20µl de la culture jeune) .Les boîtes

sont incubées à 30°C pendant 24-48h. La protéolyse est révélée par l'apparition des zones claires autour des disques (Veuillemard, 1986).

6.4.3 Le pouvoir lipolytique

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

6.4.4 Le pouvoir texturant

Ce test permet la détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosée. Les souches à tester sont ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes.

6.4.5 Le pouvoir aromatisant par la Production d'acétoïne

Pour réaliser ce test, du lait écrémé stérile (à 9%) a été réparti en tubes. Chaque tube reçoit une culture à tester. Après une incubation à 30°C pendant 24 h et vérification de la coagulation, 5 gouttes des deux réactifs VPI et VPII ont été ajoutés à chaque tube positif, suivi d'une agitation intense. Après un délai de 10 minutes, une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol. Cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude (VPII) et se combine avec l'a-naphtol (VPI) en donnant un complexe rouge.

6.4.6 Recherche du 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 été ensemencé par les cultures bactériennes par piqûre centrale, puis un bouchon d'une gélose blanche stérile a été coulé en surface.

L'incubation est faite à 30°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 la gélose vers le haut du tube.

6.5 Essai technologique des souches lactiques mésophiles dans la fabrication d'un fromage à pâte molle traditionnel type camembert

Un essai technologique a été réalisé au laboratoire par la fabrication d'un fromage à pâte molle de type camembert traditionnel. Le diagramme de fabrication d'un camembert est expliquée sur la figure pour réaliser notre essai ; notre encadreur a adapté un protocole suivant le matériel disponible pour réaliser notre essai avec notre flore mésophile testée préalablement

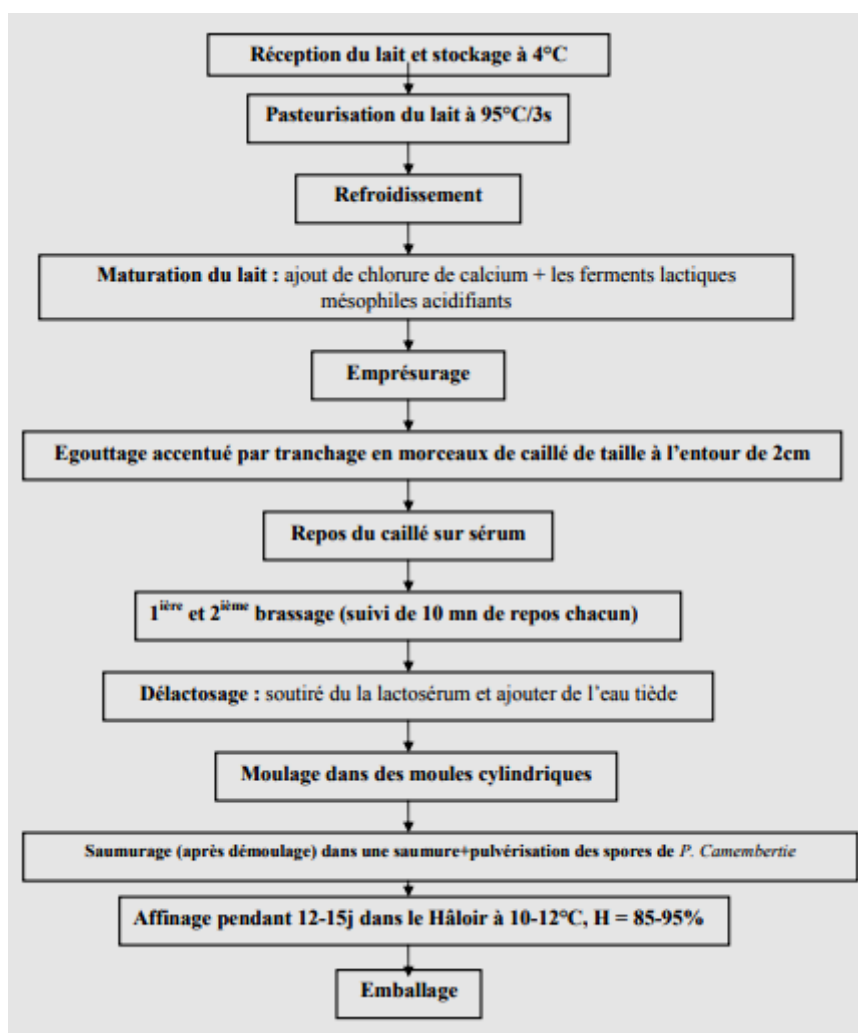


Figure N °08 : Diagramme expérimental de fabrication du Camembert
(Laboratoire des Sciences et Techniques)

6.5.1. Etapes de fabrication suivant notre protocole expérimental établi

1-Pasteurisation :

Le lait est chauffé dans un ustensile pour une pasteurisation à 75°C pendant 15 secondes

2-Refroidissement :

Par ajout du lait reconstitué refroidi préalablement préparé

Le lait reconstitué a été ajouté pour compenser et amender la matière protéique du lait de vache de la ferme expérimentale

3- Ensemencement – maturation du lait à 37°C :

4-Coagulation du lait à 37°C :

Coagulation après emprésurage avec 19 à 25 ml d'extrait de présure animale pour 100 litres de lait :

Temps de prise : 12min

Temps de coagulation : (temps de prise x 4) = 12 x 4 = 48 min

Temps de raffermissement : (temps de coagulation + temps de prise) = 48 + 12 = 60 min

5-Découpage du caillé - exsudation du lactosérum et brassage du caillé:

Après le raffermissement, un découpage du caillé est effectué à l'aide d'un tranche caillé en acier inoxydable dont la taille des mailles est uniforme (2cm de côté). Le découpage permet l'exsudation du lactosérum du coagulum. La mise en œuvre de deux brassages séparés avec un intervalle de 30 min pour chacun puis, le lactosérum est soutiré à l'aide d'une louche

6- Moulage et égouttage :

A la fin de l'exsudation, le caillé est versé dans des moules en PET cylindriques (annexe I) à l'aide d'une louche de la même matière. De ces moules drainent du lactosérum à travers une store d'égouttage (en plastique) dans des plateaux en inox superposés sur une paille.

L'égouttage commence au début du moulage et se termine le lendemain matin au démoulage, cette étape est accélérée par une série de retournements. L'égouttage s'établit comme suit :

Une fois les moules sont remplis par le caillé fromager ; un premier retournement est effectué, 30 minutes après le moulage, les moules sont retournés une deuxième fois après trois heures du moulage puis six heures après.

- 1^{er} retournement : 30 minutes après moulage
- 2^{ème} retournement : 03 heures après moulage

- 3ème retournement : 06 heures après moulage

7-Démoulage et salage :

Le lendemain, un démoulage est réalisé. : Les caillés de fromage se font sortir de leurs moules manuellement par retournement. . On obtient le caillé qui a la forme du moule (rond)

Le salage a un triple rôle il

- Relève la saveur du fromage.
- Complète l'égouttage du caillé.
- Permet la sélection des micro-organismes nécessaires à l'affinage du camembert.

8-Affinage

Après salage, les fromages sont entreposés sur des claies dans une étuve de laboratoire conçue pour l'affinage (à une température de 12 à 15°C) pendant une douzaine de jours. Au bout du troisième jour, il est procédé au premier retournement puis tous les deux jours s'effectue un retournement afin d'assurer une croissance homogène des ferments fongiques sur toute la surface du fromage et assurer une bonne activité enzymatique de la flore lactique et d'affinage

I Préparation et contrôle des souches lactiques

1.1. Revivification et purification des souches lactiques

Suite aux revivification des 04 souches lactiques sur bouillon M17 et sur lait UHT écrémé à 30°C pendant 24 heures à 48 heures, il apparaît un trouble sur les tubes M17 et une coagulation du lait UHT. La purification de ces souches sur le même milieu gélosé M17 écrémé est confirmée par une observation microscopique et appréciée par le test de catalase et une coloration de Gram

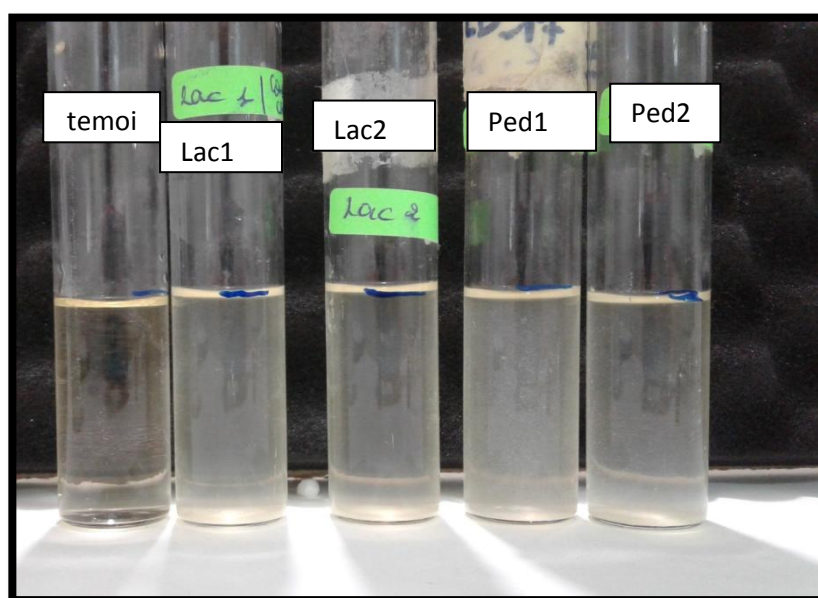


Figure 09 : Aspect des colonies de croissance

1.2. Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose M17a révéla des colonies visibles, de forme ronde à lenticulaire avec une couleur blanchâtre pour les lactocoques et de petite taille lisse arrondie grisâtre pour les pediocoques (Figure 10)



Figure 10 : Aspect macroscopique des bactéries de *Lactococcus* 1et 2



Figure 11 : Aspect macroscopiques de *Pediococcus* 1 et 2

1.3- Examen microscopique

L'observation microscopique basée sur la coloration de Gram donné une coloration Gram positif. Les bactéries sont de forme cocci , diplocoques et en chaînettes pour les lactocoques et de forme coccis en tétrade pour les pediocoques (figures12).

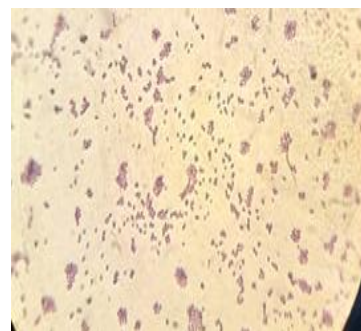
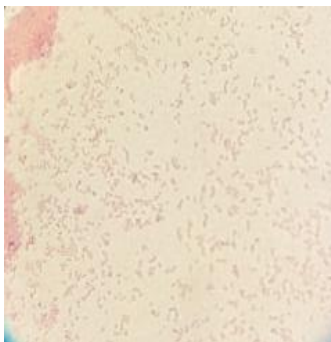


Figure 12 : Aspect microscopique de *Lactococcus* 1 et 2



Figure 13 : Aspect microscopique des *Pediococcus* 1et 2

II Résultats de l'étude des aptitudes technologiques :

2.1- Activité protéolytique

Les valeurs exprimées sur le tableau 04 et les figures 14 et 15 représentent les résultats de la protéolyse des souches lactiques étudiées

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

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 Lc1 et Lc2 du genre *Lactococcus* sont fortement protéolytiques avec une protéolyse de 13 à 15 mm de diamètre respectivement, les souches Ped1 et Ped2 ont présenté des diamètres de protéolyse se situant entre 15 et 16 mm de diamètre. La valeur normative maximale de protéolyse est de 15 mm, 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).

Tableau N°4. Moyenne des diamètres de lyse en millimètre chez les souches étudiées après 48 heures d'incubation

Tableau 4: Diamètre des zones de l'activité protéolytique de souches testées

Bactérie testée	Lact1	Lact1	Lact2	Lact2	Ped1	Ped1	Ped2	Ped2
Diamètre de lyse (en mm)	15	13	14	12	15	15	16	15

Les figures N° 14 et 15 montrent l'activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation

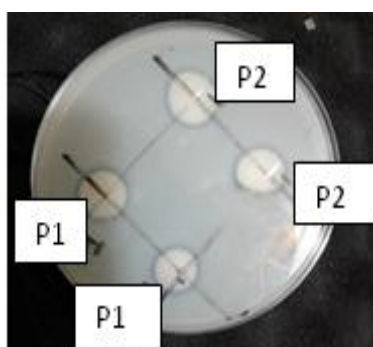


Figure 14 : Activité protéolytique de *Pediococcus*

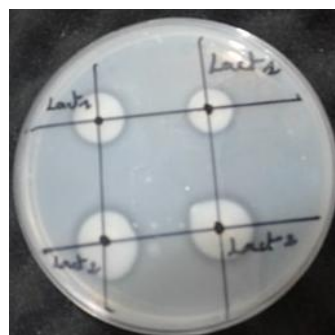


Figure 15: Activité protéolytique de *Lactococcus*

2.2- Activité lipolytique

D'après les résultats obtenus, figurant dans le tableau N° 05 et illustrés par les figures 16 et 17, on constate que nos deux souches lactiques de *Pediococcus* ne présentent aucune activité lipolytique puisqu'elles ne présentent aucune zone de lyse caractéristique autour des disques. **Meyers et al. (1996)** avaient déjà rapportés la faible activité lipolytique des *Pediococcus*. Les *Lactococcus* ont présenté une activité lipolytique avec des diamètres de lyse entre 13 et 14 mm. Cette activité lipolytique induite par la libération de lipases qui dégradent les triglycérides en acides gras à caractère aromatique et donnant une texture moelleuse aux fromages.

Résultats et Discussion

Tableau N05 Résultats du test de lipolyse des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation

Tableau 05 : Diamètre des zones de lipolyse de l'activité lipolytique des souches lactiques

Souches testé	Lac 1	Lac1	Lac2	Lac2	Ped1	Ped1	Ped2	Ped2
Diamètre en cm	13	14	13	13	/	/	/	/

Figure 16 et 17 Résultats du test de lipolyse des quatre souches lactiques Lc1 – Lc2 et Ped1- Ped2

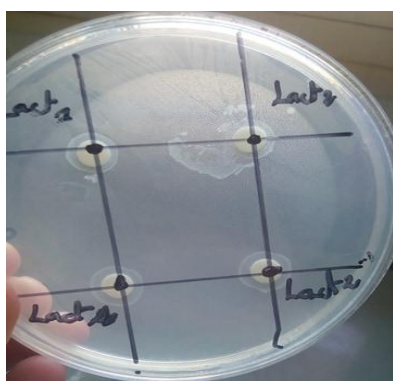


Figure 16 : Activité lipolitique de lactocoque

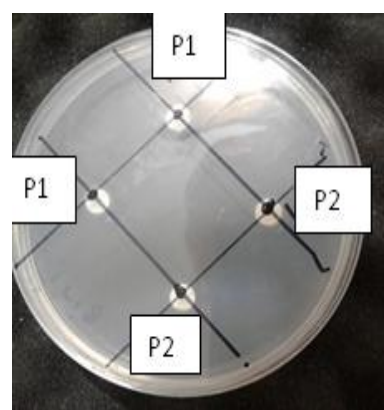


Figure17 : Activité lipolitique de pediocoque

3- Pouvoir acidifiant

Les bactéries lactiques sont reconnues par leurs pouvoirs acidifiant. Dans le présent travail, nous avons testé les 04 souches lactiques étudiées appartenant au genre *Lactococcus* et *Pediococcus*, en suivant l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 06 et représentés sur les figures 18 et 19.

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.



Figure 18 : Gel lactique produit par le pouvoir acidifiant lactocoque

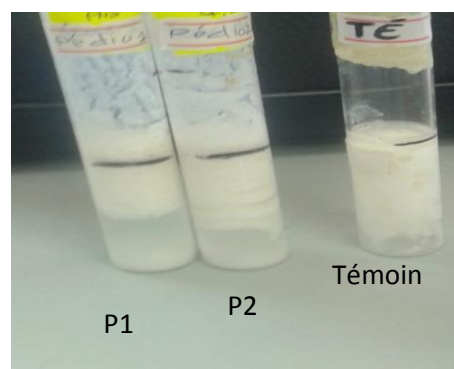


Figure 19 : Gel lactique produit par le pouvoir acidifiant pediocoque

Tableau N°06 : Evolution du pH –Acidité Dornic en fonction du temps

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
Lac1	20	6,48	23	6,38	41	5,42	110	4,71
Lac2	20	6,46	24	6,32	44	5,43	118	4,65
Ped1	17	6,64	19,5	6,53	32	6,25	72	5,28
Ped2	17	6,63	19	6,55	35	6,18	68	5,37

Les résultats obtenus sont en fonction du temps d'incubation de nos échantillons de laits reconstitués, stérilisés et additionnés avec nos souches lactiques testées. 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 Lac2 est la plus performante avec une acidité de 118°D suivie de la souche Lac1 avec une acidité de 110°D et de Ped1 –Ped2 respectivement avec des acidités Dornic de 68 et de 72 °D

Cela confirme l'activité protéolytique ainsi que lactique des pédiocoques qui jouent un rôle important dans l'affinage des fromages et l'amélioration de la consistance-goût et odeur caractéristique des fromages lactiques affinés

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.(2005)**

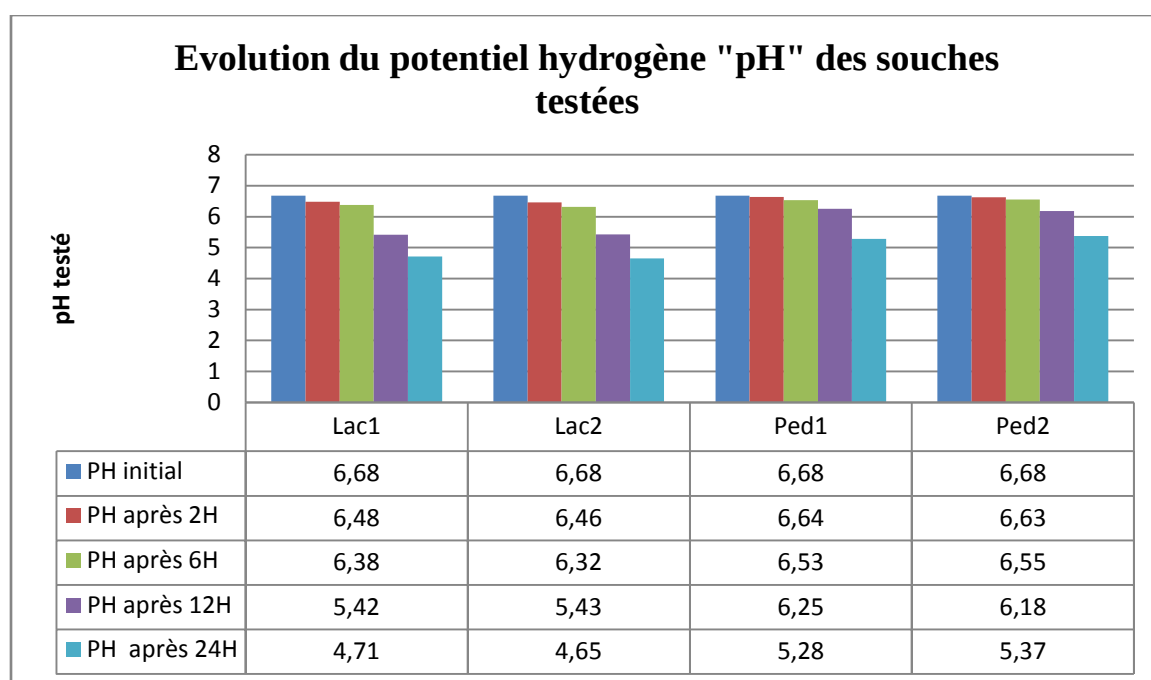


Figure 20 : Évolution du pH des souches testées

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). (Figure 20 profil fermentaire de nos souches étudiée). 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**)

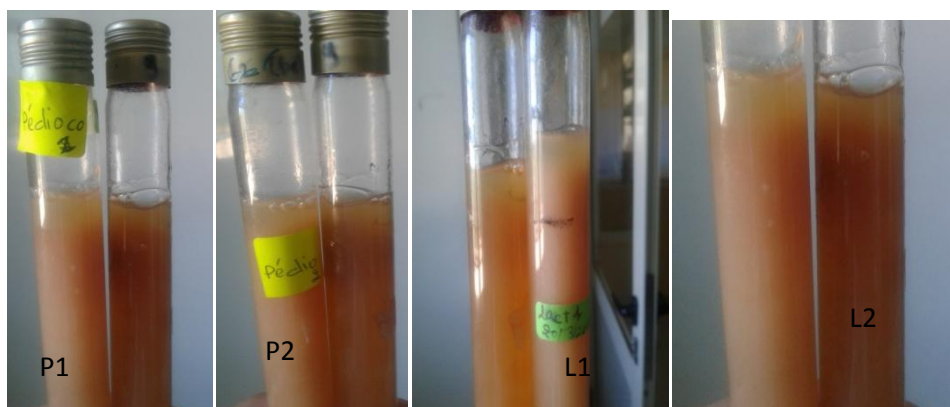


Figure 21 : Profil fermentaire de nos souches étudiées

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.

Nos espèces étudiées n'arrivent pas à produire des arômes (acétoïne) par la non formation de l'anneau rouge caractéristique.

Certaines études établies par **Leroy et De Vuyst, (2004)** et **Raynaud et al., (2016)** ont montré que l' α -acétolactate est un composé instable (responsable de l'anneau rouge caractéristique), il peut se transformer spontanément en diacétyle c'est ce qui a été obtenu dans notre étude où les pédiocoques qualifiés de bactéries lactiques aromatiques non pas développées d'anneau de présence d'acétoïne par la transformation de l' α -acétolactate en diacétyle. 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 diacétyle, d'acétoïne et de CO_2 , participant aux qualités aromatiques et texturales des fromages (**Raynaud et al., 2016**)



Figure 22: Absence de production d'acétoïne par les *Lactococcus* et les *Pediococcus*

2.6- Pouvoir texturant

La production des exopolysaccharides EPS produits ; par les souches lactiques étudiées a donné des résultats négatifs sur la gélose hypersaccharosée. Ce test a montré que les souches étudiées de *Lactococcus* et de *Pediococcus* 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. 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 souches productrices d'EPS, dans la fabrication de fromage prévient la réduction de sa rigidité durant sa maturation.

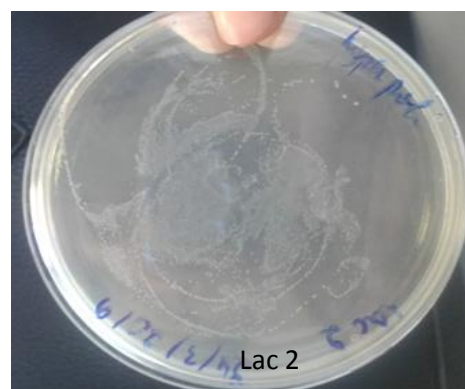
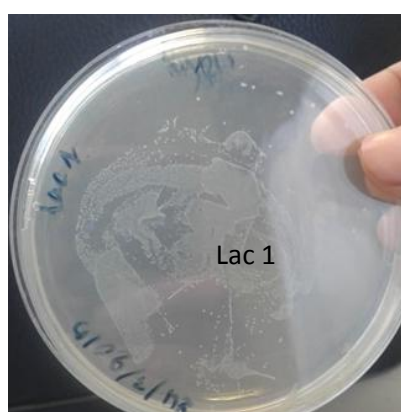


Figure 23 : Aspect des colonies de lact 1 et 2 sur milieu hypersaccharosé



Figure 24 : Aspect des colonies de ped1 et 2 sur milieu hypersaccharosée

III 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 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 mésophiles revivifiées que nous avons contrôlées ont été utilisées dans la transformation d'un lait épuré, 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 », innovation technologique de traitement initial de la matière première, nécessaire à la maîtrise des populations microbiennes et l'obtention d'un fromage contrôlé bactériologiquement.

3.1 Suivi de l'évolution physico-chimique et microbiologique des fromages en affinage

Tableau 07 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages au démoulage

Type d'analyse	Fromage au démoulage	
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage	Témoin mésophile	Mésophile avec flore d'affinage
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>		
PH	4,8	4,8
Acidité Dornic	90	90
EST%	41	41
MG%	16	16
MP%	23,5	23,5
Humidité%	54	54
Taux de sel%	0,25	0,25
G/S %	39,02	39,02
Température °C	18	18
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>		
Flore totale UFC/g	1750000	1800000
Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g (cellules viables)	1280000	1215000
Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g (cellules viables)	Absence	950

Résultats et Discussion

Tableau 08 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages après salage

Type d'analyse	Fromage après salage	
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage	Témoin mésophile	Mésophile avec flore d'affinage
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>		
PH	4,7	4,7
Acidité Dornic	95	95
EST%	41,5	41,5
MG%	15,8	15,8
MP%	23	23
Humidité%	54	50
Taux de sel%	1,85	1,9
G/S %	38,07	38,05
Température °C	15	15
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>		
Flore totale UFC/g	1250000	1350000
Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g (cellules viables)	1215000	1100000
Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g (cellules viables)	Absence	785

Tableau 09 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages à j+3

Type d'analyse	Fromage à j+3	
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage	Témoin mésophile	Mésophile avec flore d'affinage
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>		
PH	4,7	4,7
Acidité Dornic	95	95
EST%	41	41
MG%	15,6	15,6
MP%	22,7	22,7
Humidité%	52	52
Taux de sel%	1,9	1,9
G/S %	38,05	38,05
Température °C	12,7	12,8
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>		
Flore totale UFC/g	1200000	1275
Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g (cellules viables)	1185000	97500
Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g (cellules viables)	Absence	1250

Résultats et Discussion

Tableau 10 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages à j+7

Type d'analyse	Fromage à j+7	
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage	Temoin mésophile	Mésophile avec flore d'affinage
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>		
PH	5	5,2
Acidité Dornic	70	75
EST%	40,7	40,5
MG%	15,5	15,2
MP%	22,5	22,1
Humidité%	51,7	51,8
Taux de sel%	1,87	1,85
G/S %	38,08	37,53
Température °C	12,5	12,4
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>		
Flore totale UFC/g	975000	925000
Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g (cellules viables)	75000	65000
Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g (cellules viables)	Absence	5200

Tableau 11 : Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des fromages à j+10

Type d'analyse	Fromage à j+10	
Analyses physico-chimiques des fromages en affinage	Témoin mésophile	Mésophile avec flore d'affinage
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>		
PH	5,3	5,6
Acidité Dornic	71	62
EST%	40,2	40,2
MG%	15,4	15
MP%	21,8	21,3
Humidité%	51,4	51,6
Taux de sel%	1,82	1,8
G/S %	38,31	37,31
température °C	13,4	13,5
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>		
Flore totale UFC /g	750000	715000
Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g (cellules viables)	13500	27500
Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g (cellules viables)	Absence	98000

Tableau 12 : Normes de suivi « F.I.L » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018

Normes de suivi des fromages de la Fédération Internationale du Lait	
<u>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES FROMAGES</u>	
PH	5,8 à 6,5
Acidité Dornic	55 à 60
EST%	34,5 à 37,5
MG%	15,10 à 15,5
MP%	20 à 21
Humidité%	52 à 56
Taux de sel%	1,5 à 1,65
G/S %	40 à 45
Température °C	12 à 15
<u>2/ ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES</u>	
Flore totale UFC /g	750000 à 1000000

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 chimiques des produits laitiers dont le fromage à pâte molle type camembert traditionnel fabriqué avec une flore mésophile

Notre essai de fromage a atteint les qualités physico-chimiques , microbiologiques et sensorielles souhaitées après seulement 16 jours d'affinage car conformément un camembert traditionnel à base de flore mésophile développe ses qualités organoleptiques entre 12 et 20 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 **Desmaures., 1995 et Leclercq-Perlatet *al.* 2004** concordent en effet; il est nécessaire de modéliser la technologie de transformation avec les souches lactiques mixtes utilisées aux propriétés biochimiques spécifiques très ciblées afin d'obtenir un équilibre contrôlé et un camembert aux propriétés intrinsèques recherchées.

3.2 Appréciation sensorielle de nos essais de fromage

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

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

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	4
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 L'ensemble des caractères est cotée bonne. Les résultats indiquent une différence significative par rapport au témoin. Des notes de 7,80 sont données au fromage fabriqué avec notre flore mésophile contre 7,03 au témoin.

Cela est dû à ce qui suit :

Notre fromage 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

Cela indique que nos souches sélectionnées possèdent des bonnes aptitudes technologiques qui peuvent être exploitées.

3.3 Contrôle de la viabilité des cellules lactiques

La détermination de la concentration moyenne en cellules bactériennes viables de nos mélanges de culture mésophile a été effectuée au fur et à mesure de l'avancement de l'affinage. On constate que les proportions de dominance sont différentes tout au long de l'affinage à cause des réactions biochimiques et des interactions bactériennes qui s'opèrent et qui sont à l'origine de la croissance séquentielle avec une diminution de la flore lactique en fin d'affinage. Parmi les principaux facteurs d'induction de déclin de croissance de nos bactéries, il convient de signaler la présence de la flore acidifiante dont les lactocoques et la prolifération exponentielle d'autres telles que la flore halotolérante représentée par la flore fongique le *Penicillium camemberti* ou *candidum*. On remarquera également l'influence de certains facteurs physico-chimiques dont la température, le pH du substrat fromager sans oublier le choc osmotique induit par le salage, ce qui provoque la destruction de certaines cellules bactériennes et la libération de leur contenu intracellulaire composé d'enzymes ayant un rôle important dans le développement de la flaveur et de la texture au fromage, ainsi que des acides nucléiques, des vitamines et des minéraux pouvant directement ou indirectement, stimuler la croissance d'autres microorganismes responsables de l'affinage (**Lortal et Chapot-Chartier, 2005**) .

Conclusion et Perspectives :

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers. Elles ont un intérêt industriel tout particulier, où elles sont utilisées pour améliorer les caractères organoleptiques de différents produits alimentaires (le goût, la saveur, la texture, l'arôme de produits comme par exemple le lait fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnés...etc.)

Au cours de cette étude, quatre souches lactiques mésophiles appartenant au genre *Lactococcus* et *Pediococcus* ont fait préalablement l'objet d'une évaluation in vitro de leurs aptitudes technologiques à savoir: Le suivi du pouvoir acidifiant, de la production d'acide lactique, des activités protéolytiques et lipolytiques, du pouvoir de production de molécules aromatiques, de la croissance sur milieu hyper-saccharosé (pour la production d'EPS) et de leur profil fermentaire. Enfin toute cette évaluation pour une application de ces souches lactiques dans un essai de fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert traditionnel.

Les souches (Lc1 et Lc2) étaient les plus performantes en production d'acide lactique ; cette acidité produite stimule la coagulation du lait et en même temps la bioconservation du produit laitier fabriqué, ces lactocoques présentent aussi un pouvoir protéolytique très important, une hydrolyse des lipides (par des lipases) ; ce qui contribue à l'aromatisation des produits laitiers.

Les souches *Pediococcus* 1 et 2 sont moins performantes par la production d'acide lactique et par l'activité protéolytique et aromatisants, mais ne sont pas lipolytiques (aromatisation non caractérisée sur test d'acétoïne). En effet, ces bactéries, ont montré une bonne production du diacétyle améliorant la qualité organoleptique de l'essai de fromage très apprécié par le jury de dégustation par rapport à un témoin de type stabilisé plus fade en saveur aromatique d'un camembert traditionnel.

Les souches étudiées ont donné satisfaction à l'essai de fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert traditionnel

Par leurs activités surtout acidifiantes et protéolytiques, on a pu obtenir un coagulum ferme sans pertes de protéines sériques lors de la synérèse du lactosérum avec un bon rendement fromager sans oublier par leur capacité de dégrader la caséine du caillé lactique ; nos souches sont capables de contribuer à l'hydrolyse des protéines en affinage en acides

Conclusion et Perspectives

aminés indispensable à la maturation du caillé fromager et à l'obtention de la qualité sensorielle sollicité

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

- ☐ Plusieurs répétitions ;
- ☐ Augmenter le nombre de combinaisons des bactéries lactiques à intérêt du souchier disponible au laboratoire de recherche LSTPA ;
- ☐ Identifier génétiquement les souches ;
- ☐ Etudier l'activité protéolytique pour les cultures mixtes ;

A

Alice A. & Sanchez-Rivas C. (1997). DNA supercoiling and osmoresistance in *Bacillus subtilis* 168. *Current Microbiology*, 35:309-315.

Ammor S., Taveron G., Dufor E., et Chevalier L., 2006 .Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-screening and characterization et antibacterial compound food control 17:454-461

Axelsson L.T. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In lactic acid bacteria – microbiology and functional aspects, edited by S. Salminen, S. von Wright, A. Ouwehand et al. (eds), Marcel Dekker, Inc. 633. Pp 1-66.

B

Badis, A., Aouabdia-Sellami, L. Guetarni, D. , Kihal, M., Ouzrout, R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences et Technologie C N°23* :30-37

Belyagoubi L., 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de doctorat en biologie. université aboubakr belkaïd-tlemcen. 170p..

Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F et Obert JP. (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Carrieu G et Luquet FM). Tec & Doc. Lavoisier, Paris , 1-144.

Bourgeois _CM et Larpent JP. (1996). Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et _Branger A., Richer M.M. et Roustel S., 2007. Microbiochimie et alimentation. Educagri Edition. 166-168. fermentations alimentaires. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 432-704

Bousmaha L, Bekkara FA, Tomi F, Casanova J (2005). Advances in the chemical composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. *J. Essent. Oil Res.*, 17: 292-295.

Boyaval P (1989) Continuous fermentation of sweet whey permeate for propionic acid production in a CSTR with UF recycle. *Biotechnol Lett* 9, 801-806

BOUIX M., et LEVEAU J-Y., 1991 -Les levures Ds : Bourgeois C.M., Leveau J.Y., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. édition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3 : 206-229.

Branger A., Richer M.M. et Roustel S., 2007. Microbiochimie et alimentation. Educagri Edition. 166-168.

Brulé G, Lenoir J et Remouf 1997 la micelle de caséine et la coagulation du lait In le fromager .Ed. Eck A ., 3ème édition Tec et DOC Lavoisier, Paris , pp . 7-41

Broadbent J.R., 2001. Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.). 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 243-300.

Buffa M, Morais J , Jimenez –Belenguer A . (2005) Technological characterisation of Lactic acid bacteria isolated from raw ewe's milk for cheese making .Milchwissenschaft.61,404-407

C

Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., 2010. Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In: Biotechnology of lactic acid bacteria : Novel Applications (Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.). 177-192.

Carr FJ ,Hill D, Maida N .(2002) .The lactic acid bacteria : Aliterature survey .Crit.Rev.Microbial.28, 281-370

Chamba F.J., 2008. Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 787-813. _Cholet O, (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16

Cholet O., 2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie etMicrobiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

Collins Md, Samelis J, Metaxopoulos J et Wallbanks S. (1993). Taxonomic studies of some Leuconostoc-like organisms from fermented sausages, decription of a new genus Weissella for the Leuconostoc paramesenteroides group of species .J. Appl. Bacteriolvol. 75, 595-603.

Cogitore A., (1987). Traité pratique de la reglementation laitière. 3ième éd., 240-252, les sapins d'or, Paris. (1987).

D

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 luquetf.m.). Lorica, uriage. 1 : 25-116.

Desmazeaud M., 1998. Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières .INRA. 1-3.

Desasures N., 1995. Etude des laits de haute qualité: caractéristiques et aptitudes microbiologiques à la transformation en camembert au lait cru.Thèse, Université de Caen.

Desmazeaud M.J. et De Roissard H.1992. Métabolisme général des bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques.Ed. Lorica Uriage. 1, 169-207.

Desmazeaud M. 1983. L'état des connaissances en matière de nutrition sur les bactéries lactiques. LeLait. 63, 286-310.

Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T et Shaha NP. (2007). Proteolyticactivity of dairylacticacidbacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensinconverting enzyme inhibitoryactivity in fermentedmilk. INRA, EDP Sciences. 86, 21-38.

Dortu C. et Thonart P ., 2009 les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires .Biotechnol .Agron.Soc.Environ. 13.143-154

E

Edima H.C., 2007. Carnobacterium maltaromatticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. 57-66.

EnnadirJ., 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

F

«F.I.L» référence ISO 707/FIL octobre 2018 Normes définies pour les analyses microbiologiques et chimiques des produits laitiers

G

Gardinier G., Ross R.P., Collins J.K., Fitzgerald G. et Stanton C., 1998. Development of a probiotic cheddar cheesecontaininghuman-derived Lactobacillus paracaseistrains. Appl. Env. Microbiol. 64 : 2192-2199

Ghaly A. E., Kamal M. and Correia L. R. 2005. Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. Bioresource Technology 96(10): 1143-1152.

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.

Guégen L., (1979). Cach. Nutr. Diét., 14, 213-217

Gerrit S, Bart AS et Wim JME. (2005). Flavour formation by lacticacidbacteria and biochemicalflavourprofiling of cheeseproducts. FEMS. Microbiol. Rev. 29: 591-610.

Guiraud J.P., 2003. Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292.

Guiraud J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. 1e Ed., Dunod. Paris. 136-144.

H

Hassan A.N. et Frank J.F., 2001. Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.

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 green table olives. Food microbiology. 32, 308-316.

Ho TNT, 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.

Hogg T., 2005. Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190.

Holt J G, Krieg N, R, Sneath PH, Staley JT and Williams S T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9ème Edition, William & Wilkins, Baltimore.

Holzappel W.H., Haberer P., Geisen R., Bjorkroth J. et Schillinger U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73 (Suppl): 365-373.

J

Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brulé G., 2007. Science des aliments : Technologie des produits alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 2 : 40-55.

Juillard .V, H.E. Spinnler, M.J. DES Mazeaud, C.V. Boquien. Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. (1987), vol. 67 n°2, p. 149-172.

K

Kandler, O., 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 49 : 209-224.

Kunji E.R., Mierau I., Hagting A., Poolman B. And Konings W.N., 1996. The proteolytic system of lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 70:187-221.

L

Larpent J.P. And Larpent G.M., 1990. Mémento technique de microbiologie 2ème éd. technique et documentaire Lavoisier, Paris, p: 417

Leclercq-Perlat M. N., Buono F., Lambert D., Spinnler H. E. and Corrieu G. 2004. Controlled Production of Camembert-Type Cheeses: Part I. Microbiological and physico-chemical evolutions. *Journal of Dairy Research* 71(3): 346-354.

Lenoir, J., (1985). Les caséines du lait. *Rev. Lait. Fr.*, 440, 17-23

Leroy F Et De Vuyst L, (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation in **Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** *Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel.* Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87. *industry. Tre.foodsci. Technol.* 15, 67-78.

Leveau J.Y. et Bouix M., 1993. *Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel.* Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.

Lortal S. and Chapot-Chartier M.-P. 2005. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *International Dairy Journal* 15(6-9): 857-871

Luquet F.M et Corrieu G., 2005. *Bactéries lactiques et probiotiques . Edit .Tech.Doc .Lavoisier (Paris).P.343-408.*

M

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.

Mäyrä-Mäkinen A Et Bigret M. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. Et Ouweland A.). 3e ed., Marcel Dekker, Inc. New York, 73-102.

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

Moller C., Boukhelmann W., Ammann A., Heller K.J. production of fermented milk with mild test by a *Lactococcus lactis* mutant with altered proteolysis properties. **(2007)**, vol. 2, n°4, p. 469-479.

Monnet V, Latrille E, Béal 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.

Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M., 2010. *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications.* Blackwell. Publishing. 13.

N

Novel G., 1993. Les bactéries lactiques in microbiologie industrielle les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau j-y., bouix m. Tec & doc, lavoisier, pp : 170-374 .

P

Piard J.C. and Desmazeaud M.J., 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. bacteriocins and other antimicrobial substances. *Le Lait*. 72, 113-142.

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

Pot B., 2008. The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1-106.

Pot B., Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. et Kersters K., 1996. Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol.* 19 : 213-222

Prioilt G 2003 : Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez les souris et étude de leur mécanisme d'action .these ph d . Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation .université laval, quebec , pq , canada .

R

-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

-Revue ENIL "Ecole Nationale des Industries Laitières " N°345 du mois de Décembre 2016 ,32 pages

Roissart, H Et Luquet , Fm. (1994). Bactéries lactiques, i et ii ; lorica (chemin de saint georges), f38410, france.

Roissart, H Et Luquet , Fm. (1994). Bactéries lactiques, i et ii ; lorica (chemin de saint georges), f38410, france.

Roissard Et Luquet .1985. Les bactéries lactiques édition lorisa , volume 1, luquet f . M, lait et produits laitiers , tec et doc , édition lavoisier , paris ,p362-400-402 dans les industries agr_Leveau J.Y., Boiux M. Et De Roissart H.B., 1991. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle o- alimentaires. 2ème ed., tec & doc, lavoisier. Paris. 3: 2-40.

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.

Rodriguez J.M., Martínez M.I., Horn N. et Dodd H.M., 2003. Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 80 : 101-116.

S

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

-Singleton P., 2002 . Bactériologie, Dunod, Paris, pp : 381-394.

Siegumfeldt H., Rechinger K.B. And Jakobsen M., 2000. Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.

St-Gelais D., Tirard-Coller P., Bélanger G., Couture R. et Drapeau R., 2002. Fromage. In : Science et technologie du lait : transformation du lait (Vignola C.L.). Presses. Int. Polytechnique. 349-407.

_Stiles M.E. et Holzapfel W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.

Streit F., Corrieu G. Et Béal C., 2007. Acidification improves cryotolerance of lactobacillus delbrueckii subsp. *Bulgaricus* cfl1. *J. Biotechnol.* 128 : 659-667.

T

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366

Thompson J., 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 : 239- 290.

V

Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Kersters K. et Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60 : 407.

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

W

Références Bibliographiques

-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.

Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J. et Smit G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. Int. Dairy J. 12 : 91-109.

Y

Yvon M. (2006) .Key enzymes for flavor formation by lactic acid bacteria .Australian

ANNEXES A

1-Les milieux de culture

Gélose MSE (pH 6.8)

- Extrait de viande..... 10g
- Extrait de levure 3g
- Peptone 2.5g
- Saccharose 150g
- K₂HPO₄ 2g
- NaCl..... 1g
- MgSO₄, 7H₂O..... 0.2g
- Agar 15g
- Eau distillée qsp 1000 ml
- Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Gélose aux triglycérides (pH 6.5)

- Peptone 5g
- Extrait de levure 3g
- Triglycérides 10ml
- Agar 15g
- Stérilisation à 110°C pendant 5min.

Milieu Gibson-Abdelmalek (pH 6.5)

- Extrait de levure 2.5g
- Glucose 50g
- Jus de tomate..... 100ml
- Lait 800ml
- Gélose nutritive ordinaire 200ml
- Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.

Le milieu PCA au lait écrémé

- On a utilisé de la PCA avec du milieu lait écrémé sans levures à 10%

Milieu Plat count agar PCA(pH7)

- Tryptone.....6g
- Extrait de levure.....2,5g
- glucose.....1g
- agar agar.....15g
- Stérilisation par autoclavage à 121°C pendant 15 min.

Gélose nutritive ordinaire (milieu GNO)

- Extrait de viande.....5g
- Peptone..... 10g

- Gélose 15g
- Chlorure de sodium..... 5g
- PH=7,2. Autoclaver 20 min à 120°C.

Le milieu lait écrémé:

- Composition.....g/l
- Lait 100g
- Extrait de levure.....5g
- Eau distillé 1000 ml

Annexes B

2 La solution NaOH pour le titrage:

Composition.....g/l

- NaOH 40 g
- Phénol phaline (indicateur de couleur : rose) 0,05ml
- d'alcool 30ml
- eau distillé.....500ml

3 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.

4. Produits chimiques et réactifs

- Violet de gentiane
- Fuschine
- Cristal violet
- Bleu de méthylène
- Phénolphtaléine
- Réactif de VogesProskaeur (VPI et VPII)
- Éthanol
- Lugol
- Eau oxygénée

5. Appareillage :

- Plaque chauffante avec agitateur
- Autoclave
- Bain marie
- Balance
- Étuves
- Microscope optique
- pH mètre
- Réfrigérateur de conservation
- Vortex électrique

Petits matériels :

- Anse de platine
- bec bunsen
- boites pétri,
- éppendorfs
- micropipette et de la verrerie.

4 Fiche de dégustation : Analyse sensorielle des fromages

Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)

Date :

Nom du dégustateur :
type du fromage :

Fonction :

Lieu :

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

5 Etape de fabrication de camembert :

1_ Lait de mélange pasteurisé



2_ Lait de mélange refroidi à la température d'ensemencement



3_ Ensemencement – maturation



4- Coagulation du lait



5- Découpage du caillé et exsudation du lactosérum



6- Moulage et égouttage :



7- Démoulage et salage



8- Affinage





Fromage « camembert traditionnel » avec la flore mésophile testée (affinage à J+16)