

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI CONSTANTINE**



**INSTITUT DE LA NUTRITION, DE L'ALIMENTATION ET  
DES TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES  
(I.N.A.T.A.A.)  
DEPARTEMENT DE TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE**

N° d'ordre :  
N° de série :

## **MEMOIRE**

Presenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Alimentaires  
**Option** : Technologie Alimentaire

## **Thème**

\*\*\*\*\*

**Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru,  
évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur  
utilisation dans la fabrication de la crème sure**

\*\*\*\*\*

**Présenté par : LATRECHE Bilal**

**Soutenu le : 23-01-2016**

**Devant le jury composé de :**

<b>Présidente :</b>	Pr. BARKAT M.	(I.N.A.T.A.A - U.F.M.C)
<b>Promotrice :</b>	Pr. KHARROUB K.	(I.N.A.T.A.A - U.F.M.C)
<b>Examinatrices :</b>	Dr. BECILA- HIOUAL S.	(I.N.A.T.A.A - U.F.M.C)
	Dr. BENACHOUR K.	(I.N.A.T.A.A - U.F.M.C)

**Année universitaire 2015-2016**

# REMERCIEMENTS



## *Au terme de ce travail je remercie*

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

\*\*\*\*\*

*Mes reconnaissances vont tout d'abord au Professeur KHARROUB Karima qui m'a honorée en acceptant de diriger ce travail, pour son encadrement rigoureux et méthodique et les compétences dont elle m'a fait bénéficier au long de toutes mes études. Je lui adresse également ma gratitude pour son aide précieuse et d'avoir été là pour nous, par ses conseils fructueux, son soutien continu et ses encouragements permanents. Merci de m'avoir guidée avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit.*

\*\*\*\*\*

*J'exprime mon estime et mes remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations, mes sincères remerciements au Professeur BARKAT M., qui a bien voulu accepter de présider ce jury. Je tiens à exprimer ma très grande considération au Docteur BECILA-HIOUAL S., et Docteur BENACHOURK, qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce mémoire de magister et de me faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissances.*

\*\*\*\*\*

*La SARL HODNA Lait - M'sila ainsi que l'ensemble de son personnel pour m'avoir accueilli et permis d'effectuer les travaux nécessaires à la réalisation de ce travail.*

*Mes très spéciaux remerciements reviennent à M. DECHOUCHA Adel pour sa participation à mon travail de mémoire, et pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire et m'avoir donné les moyens de mener à bout cette étude.*

*Monsieur SGHIRI Kamel. Responsable des laboratoires au département de biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de Vie à l'université de M'sila. Pour sa disponibilité et ses encouragements.*

*Un grand merci à M. DAHOU Abdelkader El-amine. Le Directeur d'exploitation SARL HODNA Lait, pour son aide et son soutien.*

*M. CHAOUI Ridha. Responsable du service qualité SARL HODNA Lait pour leur accueil et leur gentillesse.*

*M. SIAB Mounir. Responsable du service recherche et développement SARL HODNA Lait, pour son aide et son soutien.*

*Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.*

# Dédicace



## *Je dédie ce travail*

*« A ma mère Mme. Khadidja BELABBES, Que ce travail soit pour toi pour ton aide précieuse pendant toutes ces années »*

*A mon père Mohammed*

*A mes beaux-frères Kamel, Hichem et Hassiba*

*A mes chers : Khadidja, Lina, Islem, Leythe*

*A toute la famille LATRECHE, BELABBES et sans oublié la famille DJOUANI. Merci particulier à Sonia et son mari El-aide*

*A mes chers amis et mes proches ;*

*Nacer-28, Walid-28, Abdel Waheb-28, Wail-34, Alla eddine-34, Anouar-24, Adel-28, Mansour-19, Darradji-28, Ali-25, Aïmed-34, Hocine-06, Karim-06, Djamel-06, Aïssa-06, Faouaz-28, Kheïlifa-28*

*A tous ceux qui ont été à mes côtés durant ces années de thésarde et tous ceux que j'oublie aujourd'hui*

*La cerise sur le Gâteau C'est une personne Chère à mon cœur et qui a donné un sens à ma vie, ma Femme « MOUNA » qui m'a beaucoup soutenue et ça depuis un long temps. ...Merci Menmoun*



*LATRECHE Bilal*

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Bilal', with a long horizontal line underneath.

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Métabolisme du lactose et du citrate par les bactéries lactique (Cocaign-Bousquet <i>et al.</i> , 1996).....	10
<b>Figure 2 :</b> Principaux procédés de fabrication des crèmes de consommation (Boutonnier, 2007).....	22
<b>Figure 3 :</b> Microstructure du beurre à température ambiante (Walstra <i>et al.</i> , 1999).....	27
<b>Figure 4 :</b> Photo du beurre et babeurre (Makhloufi, 2010).....	28
<b>Figure 5 :</b> Étapes de fabrication industrielle du beurre à 80% en masse de matière grasse par agglomération (Boutonnier, 2007) .....	31
<b>Figure 6 :</b> Mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veissyre, 1975) .....	34
<b>Figure 7 :</b> Principaux étapes de la démarche générale .....	38
<b>Figure 8 :</b> Schéma simplifié de la fabrication traditionnelle du beurre cru au niveau du laboratoire.....	42
<b>Figure 9 :</b> Clé d'identification des bactéries à Gram positif (Carr <i>et al.</i> , 2002) .....	45
<b>Figure 10 :</b> Schéma générale des étapes de l'essai de fabrication de la crème sure.....	50
<b>Figure 11 :</b> Résultat obtenu pour le test d'antibiotique des échantillons du lait cru .....	52
<b>Figure 12 :</b> Aspect visuel du beurre cru fabriquer au niveau du laboratoire .....	54
<b>Figure 13 :</b> Aspect des colonies des bactéries lactiques sur milieu solide après incubation.. .....	56
<b>Figure 14 :</b> Répartition des souches isolées selon la forme des cellules.. .....	56
<b>Figure 15 :</b> Aspect microscopique de quelques isolats lactiques ; (a) et (c), état frais ; (b), coloration de Gram (G x100) .....	57
<b>Figure 16 :</b> Exemple de résultats de quelques tests physiologiques et biochimiques ; (a) et (b), type fermentaire ; (c), test ADH ; (d), croissance à pH 9,6 ; (e), croissance à pH 4,4... ..	59
<b>Figure 17 :</b> Répartition des genres de la collection lactique (%).....	60
<b>Figure 18 :</b> Exemples des résultats de l'utilisation des API 50 CH pour l'isolat BL11 ....	62
<b>Figure 19 :</b> Résultats de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic.....	65
<b>Figure 20 :</b> Activité protéolytique (mm) des isolats lactiques.....	66
<b>Figure 21 :</b> Exemples de résultats obtenus pour l'activité protéolytique des isolats BL11 et BL23 sur milieu PCA additionnés de lait écrémé .....	67
<b>Figure 22 :</b> Activité lipolytique (mm) des isolats lactiques.....	67
<b>Figure 23:</b> Exemples des résultats obtenus pour l'activité lipolytique (isolat BL28) .....	68

<b>Figure 24:</b> Aspect de colonies des isolats lactiques BL25 et BL26 sur la gélose hypersaccharosée .....	68
<b>Figure 25 :</b> Exemples des résultats du pouvoir aromatisant des isolats lactiques .....	69
<b>Figure 26 :</b> Activité antibactérienne (mm) des isolats lactiques.....	70
<b>Figure 27 :</b> Evolution du pH à 30°C en fonction du temps des ferments mixtes .....	72
<b>Figure 28 :</b> Evolution de l'acidité Dornic à 30°C en fonction du temps des ferments mixtes .....	72
<b>Figure 29 :</b> Aspect de la crème sure fabriqué avec les deux ferments mixtes.....	75

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Genres commun des bactéries lactiques et leurs caractères différentiels (Von Wright et Axelsson, 2012).....	05
<b>Tableau 2 :</b> Teneur en éléments nutritifs de 100g de la crème (Chandan et Kilara, 2011) 19	
<b>Tableau 3 :</b> Caractéristiques et rôles de quelques espèces utilisées dans la fabrication de la crème (Lamontagne <i>et al.</i> , 2010).....	23
<b>Tableau 4 :</b> Teneur en éléments nutritifs de 100g de beurre (Chandan et Kilara, 2011) ...	26
<b>Tableau 5 :</b> Éléments structuraux du beurre (Walstra <i>et al.</i> , 1999).....	28
<b>Tableau 6 :</b> Caractéristiques physicochimiques de beurre traditionnel algérien (Lahsaoui, 2009).....	28
<b>Tableau 7 :</b> Présentation des ateliers et leurs capacités de production dans l'entreprise HODNA-Lait.....	37
<b>Tableau 8 :</b> Résultats des analyses physicochimiques du lait cru .....	51
<b>Tableau 9 :</b> Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons et exigences réglementaires nationales en matière de qualité microbiologique du lait cru .....	53
<b>Tableau 10 :</b> Résultats des analyses physicochimiques du beurre traditionnel.....	54
<b>Tableau 11 :</b> Résultats de l'analyse microbiologique du beurre cru.....	55
<b>Tableau 12 :</b> Examen microscopique des isolats lactiques du beurre cru .....	57
<b>Tableau 13 :</b> Caractérisation phénotypique des isolats lactiques .....	61
<b>Tableau 14 :</b> Résultats de l'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH.....	62
<b>Tableau 15 :</b> Résultats de la capacité fermentaire sur les 49 tests biochimiques .....	63
<b>Tableau 16 :</b> Résultats enregistrés pour l'étude du pouvoir texturant des isolats lactiques ...	68
<b>Tableau 17 :</b> Résultats enregistrés pour l'étude du pouvoir aromatisant des isolats lactiques.. .....	69
<b>Tableau 18 :</b> Résultats de l'étude des interactions entre les isolas lactiques.....	71
<b>Tableau 19 :</b> Composition des ferments mixtes reconstitués .....	71
<b>Tableau 20:</b> Résultats enregistrés de l'évaluation des aptitudes technologiques des deux ferments mixtes FMR1 et FMR2 .....	74
<b>Tableau 21:</b> Résultats des analyses physicochimiques de la crème sure .....	75
<b>Tableau 22:</b> Résultats de l'analyse microbiologique de la crème sure .....	76

## Liste des Abréviations

<b>ADH</b>	Arginine DiHydrolase
<b>ADP</b>	Adénosine DiPhosphate
<b>AC</b>	Acidité
<b>AOC</b>	Appellation d'Origine Contrôlée
<b>ARNr</b>	Acide RiboNucléique Ribosomique
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>ATP</b>	Adénosine TriPhosphate
<b>BL</b>	Bactérie lactique
<b>C4</b>	Composé à 4 atomes de carbone
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de Carbone
<b>CPS</b>	Citrate Perméase
<b>EPS</b>	ExoPolySaccharides
<b>ESD</b>	Extrait Sec Dégraissé
<b>EST</b>	Extrait Sec Total
<b>FMR1</b>	Ferments Mixtes Reconstitué 1
<b>FMR2</b>	Ferments Mixtes Reconstitué 2
<b>FTAM</b>	Flore Totale Aérobie Mésophile
<b>GC</b>	Guanine Cytosine
<b>H</b>	Hydrogène
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'Hydrogène
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfite d'hydrogène
<b>JORA</b>	Journal Officiel de la République Algérienne
<b>KOH</b>	Hydroxyde de potassium
<b>Lc</b>	<i>Lactococcus</i>
<b>Ln</b>	<i>Leuconostoc</i>
<b>LPS</b>	Lactose Perméase
<b>MG</b>	Matière Grasse
<b>N</b>	Azote
<b>Na</b>	Sodium
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>NAD<sup>+</sup>/NADH, H<sup>+</sup></b>	Couple oxydant/réducteur du Nicotinamide Adénine dinucléotide
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de sodium
<b>ND</b>	Non Déterminé
<b>P</b>	Phosphore
<b>PFGE</b>	Pulsed Field Gel Electrophoresis
<b>PEP-PTS :</b>	Système dépendant de PhosphoEnolPyruvate-PhosphatoTransferase
<b>pH</b>	potentiel Hydrogène
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>REP-PCR</b>	Repétitive Extragénic palindromique–Polymerase Chain Reaction
<b>SARL</b>	Société à responsabilité limitée
<b>UHT</b>	Ultra Haute Température
<b>USA</b>	United States of America
<b>V</b>	Volume

## **Liste des annexes**

<b>Annexe 1</b>	Milieux de culture
<b>Annexe 2</b>	Réactifs et autres produits
<b>Annexe 3</b>	Matériels et appareillages
<b>Annexe 4</b>	Protocoles
<b>Annexe 5</b>	Examen microscopique
<b>Annexe 6</b>	Fiches techniques
<b>Annexe 7</b>	Résultats en chiffres de l'évaluation de quelques aptitudes technologiques
<b>Annexe 8</b>	Tableau NPP de MAC GRADY

## TABLE DES MATIERES

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Liste des annexes	
<b>Introduction</b> .....	01

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 01: Bactéries lactiques

1- Définition des bactéries lactiques.....	03
2- Classification des bactéries lactiques .....	03
3- Habitat et caractéristiques des principaux genres .....	06
3-1- <i>Streptococcus</i> .....	06
3-2- <i>Lactococcus</i> .....	07
3-3- <i>Enterococcus</i> .....	07
3-4- <i>Leuconostoc</i> .....	07
3-5- <i>Pediococcus</i> .....	08
3-6- <i>Lactobacillus</i> .....	08
3-7- <i>Bifidobacterium</i> .....	08
3-8- <i>Carnobacterium</i> .....	09
4- Métabolisme des bactéries lactiques .....	09
4-1- Fermentations des glucides .....	11
4-2- Métabolisme du citrate.....	11
4-3- Production d'acétaldéhyde .....	12
5- Intérêts et utilisations des bactéries lactiques.....	12
5-1- Utilisation des bactéries lactiques en tant que probiotiques .....	12
5-2- Bactéries lactiques dans la biopréservation .....	12
5-3- Utilisation industrielle des bactéries lactiques.....	13
6- Propriétés technologiques des bactéries lactiques.....	13
6-1- Activité acidifiante.....	14
6-2- Activité protéolytique .....	14
6-3- Activité lipolytique et formation de substances aromatiques .....	14
6-4- Formation des exopolysaccharides (EPS).....	15
6-5- Activité aromatisante .....	15
6-6- Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques .....	15

7- Ferments lactiques.....	16
7-1- Production de ferments lactiques .....	16
7-2- Critères de sélection des ferments lactiques .....	17

## **Chapitre 02: Crème et Beurre**

1- Crème .....	18
1-1- Définition .....	18
1-2- Composition et valeur nutritionnelle .....	18
1-3- Fabrication de la crème de consommation.....	18
1-3-1- Ecrémage .....	20
1-3-2- Standardisation .....	20
1-3-3- Homogénéisation .....	20
1-3-4- Pasteurisation.....	20
1-3-5- Désaération et désodorisation .....	20
1-3-6- L'ensemencement en ferments lactiques et maturation .....	21
1-3-7- Conditionnement .....	22
1-4- Dénominations .....	23
1-4-1- Crème crue.....	23
1-4-2- Crème fraîche pasteurisée liquide.....	23
1-4-3- Crème fraîche pasteurisée épaisse (ou maturée).....	23
1-4-4- La crème UHT .....	24
1-4-5- Crème stérilisée .....	24
1-4-6- Crème chantilly.....	24
1-4-7- Crème légère.....	24
1-4-8- Crème double.....	24
1-4-9- Crème fouettée ou à fouetter .....	24
1-4-10- Crème sous pression .....	25
1-4-11- Crème sure .....	25
2- Beurre .....	25
2-1- Définition .....	25
2-2- Structure du beurre.....	27
2-3- Fabrication traditionnelle du beurre en Algérie .....	28
2-4- Procédé de fabrication technologique du beurre standard .....	29
2-4-1- Préparation de la crème .....	29
2-4-2- Maturation de la crème .....	29
2-4-2-1- Maturation physique.....	29

2-4-2-2- Maturation biologique .....	30
2-4-3- Transformation de la crème en beurre .....	32
2-4-3-1- Inversion de phase .....	32
2-4-3-2- Lavage, salage et malaxage .....	33
2-4-4- Transport et stockage intermédiaire du beurre .....	33
2-4-5-Conditionnement du beurre .....	33
2-5- Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre.....	34
2-6- Types du beurre.....	34
2-6-1- Beurre fermier.....	34
2-6-2- Beurre cru ou de crème crue.....	35
2-6-3- Beurres concentrés.....	35
2-6-4- Beurre allégé.....	35
2-6-5- Demi-beurre.....	35
2-6-6- Spécialités laitières à tartiner.....	35
2-6-7- Beurre fin.....	35
2-6-8- Beurre extra .....	35
2-6-9- Pâtes à tartiner à teneurs en lipides réduites .....	36

## **MATERIEL ET METHODES**

1- Lieu d'étude.....	37
2- Echantillonnage.....	37
3- Analyses et contrôles sur le lait cru.....	37
3- 1-Analyse physicochimique .....	39
3-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination .....	39
3-2-1- Préparation des dilutions .....	39
3-2-2- Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) .....	40
3-2-3- Dénombrement des coliformes .....	40
3-2-4- Dénombrement de la flore fongique .....	40
3-2-5- Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
3-2-6- Recherche et numération des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	41
3-2-7- Dénombrement des Streptocoques fécaux.....	41
3-2-8- Recherche de <i>Salmonella</i> .....	41
4- Fabrication traditionnelle du beurre cru et analyses physicochimique et microbiologique .....	42
4-1- Fabrication du beurre .....	42
4- 2- Analyse physicochimique du beurre .....	42

4-3- Analyse microbiologique du beurre.....	43
4-3-1- Préparation de l'échantillon.....	43
4-3-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination.....	43
4-4- Mise en place d'une collection de la flore lactique.....	43
4-4-1- Isolement et purification des bactéries lactiques.....	43
4-4-2- Caractérisation préliminaire des isolats lactiques.....	43
4-4-2-1- Étude culturale et morphologique.....	43
4-4-2-2- Test de la catalase.....	43
4-4-3- Conservation des isolats.....	43
4-5- Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques.....	44
4-5-1- Test des températures de croissance.....	44
4-5-2- Croissance en présence de NaCl.....	44
4-5-3- Croissance à pH 4,4 et 9,6.....	44
4-5-4- Recherche de type fermentaire.....	45
4-5-5- Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH).....	45
4-6- Utilisation de la galerie biochimique API 50 CH.....	46
4-7- Caractérisation technologique des souches lactiques isolées.....	46
4-7-1- Pouvoir acidifiant.....	46
4-7-2- Pouvoir protéolytique.....	47
4-7-3- Pouvoir lipolytique.....	47
4-7-4- Pouvoir texturant.....	47
4-7-5- Pouvoir aromatisant.....	47
4-7-6- Pouvoir antibactérien par la méthode de contact directe.....	47
4-8- Etude des interactions entre les souches lactiques sélectionnées.....	48
4-9- Aptitudes technologiques des ferments mixtes reconstitués.....	48
5- Application des ferments mixte reconstitués dans la fabrication technologique de la crème sure.....	48
5-1- Préparation des levains lactiques mésophiles.....	48
5-2- Fabrication de la crème sure.....	49
5-2-1- Ecrémage centrifuge.....	49
5-2-2- Homogénéisation.....	49
5-2-3- Pasteurisation.....	49
5-2-4- Ensemencement en ferments lactiques et maturation.....	49
5-2-5- Refroidissement et conditionnement.....	49
5-3- Contrôle de qualité de la crème sure.....	49

5-3-1- Analyse physicochimique.....	49
5-3-2- Analyses microbiologiques. ....	49
5-3-2-1- Préparation des échantillons.....	49
5-3-2-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination. ....	50
6- Analyses statistiques. ....	50

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

1- Analyses et contrôles sur lait cru .....	51
1-1- Analyse physicochimique .....	51
1-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination .....	52
2- Fabrication traditionnelle du beurre cru et analyses physicochimique et microbiologique .....	54
2-1- Analyse physicochimique du beurre.....	54
2-2- Analyse microbiologique du beurre.....	55
3- Mise en place d'une collection de flore lactique.....	55
3-1- Caractérisation préliminaire des isolats lactiques .....	55
3-2- Examen macroscopique .....	56
3-3- Examen microscopique.....	56
3-4- Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques .....	58
4- Résultats de l'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH .....	62
5- Caractérisation technologique des souches lactiques isolées.....	64
5-1- Pouvoir acidifiant.....	64
5-2- Pouvoir protéolytique.....	66
5-3- Pouvoir lipolytique .....	67
5-4- Pouvoir texturant.....	68
5-5- Pouvoir aromatisant .....	69
5-6- Pouvoir antibactérien .....	69
6- Etude des interactions entre les souches lactiques sélectionnées.....	70
7- Aptitudes technologiques des ferments mixtes reconstitués.....	71
7-1- Pouvoir acidifiant.....	71
7-2- Pouvoir protéolytique.....	73
7-3- Pouvoir lipolytique .....	73
7-4- Pouvoir aromatisant .....	73
7-5- Pouvoir texturant.....	74
8- Contrôle de qualité de la crème sure .....	74
8-1- Analyse physicochimique .....	75

8-2- Analyse microbiologique .....	75
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	77
Références bibliographiques.....	79
Annexes	

---

# **Introduction**

---

Les bactéries lactiques sont des microorganismes de catégorie alimentaire qui présentent un grand intérêt dans l'industrie et sont largement utilisées dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques par leurs effets bénéfiques sur la santé humaine et animale (Gorbach, 1996). Par leurs propriétés acidifiantes, aromatisantes et texturantes, elles assurent une bonne sécurité alimentaire des produits transformés. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'une large gamme de composés notamment, les acides organiques (acides lactique et acétique) qui font baisser le pH dans le milieu (Carine *et al.*, 2009).

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

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

En Algérie, un intérêt particulier, est donné aux bactéries lactiques locales du lait cru et de nombreux travaux ont fait l'objet de publications (Karam, 1995 ; Zadi, 1998 ; Guessas et Kihal, 2004 ; Bekhouche, 2006 ; Idoui, 2008 ; Hassaine, 2013).

Le beurre cru est un produit laitier algérien, fabriqué à partir du lait cru entier par des méthodes traditionnelles. La fermentation du lait cru aboutit à la formation d'un lait caillé appelé (*Rayeb*) qui est baratté jusqu'à la séparation des grains de beurre. Il est conditionné par la suite dans des pots en plastique fermés hermétiquement et entreposés à une basse température. Ce produit cru n'ayant pas subi au préalable un traitement thermique et contient au minimum 82% de matière grasse selon la réglementation algérienne.

Un autre produit dérivé du lait est la crème fermentée dont les principaux types sont la crème sure et la crème fraîche. La crème sure, est un produit laitier fermenté qui revient sous différents noms et formes à l'échelle mondiale. Elle est riche en matières grasses, et obtenue par fermentation de la crème par des bactéries lactiques produisant de l'acide lactique. Elle est très utilisée aux USA, en Europe de l'est et centrale ainsi qu'en pays anglo-saxons (Marth et Steele, 2001).

Les objectifs de ce travail consistent en une caractérisation de la microflore lactique indigène du beurre traditionnel fabriqué à partir du lait cru provenant de la région d'El Eulma (wilaya de Sétif) ; une étude de leurs aptitudes technologiques puis constitution de ferments mixtes mésophiles dans le but d'être utilisés dans la fabrication industrielle de la crème sure. Des contrôles de qualité physicochimique et microbiologique de la matière première et des différents produits sont effectués.

Ce présent travail permettra également, d'enrichir le patrimoine national en microflore lactique indigène.

Le mémoire est structuré en trois principales parties, en plus de l'introduction et de la conclusion générale. La première partie est une revue bibliographique mettant l'accent sur les bactéries lactiques, la crème laitière et le beurre. La deuxième partie présente la démarche optée. Elle traite les analyses physicochimique et microbiologique réalisées, les techniques d'identification des bactéries lactiques, l'évaluation de leurs aptitudes technologiques suivies des étapes de fabrication industrielle de la crème sure. Enfin, la troisième partie regroupe les principaux résultats obtenus et leurs discussions.

---

# **Synthèse bibliographique**

---

## 1- Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont définies comme un groupe omniprésent et hétérogène mais une caractéristique commune permet cependant de les unifier en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique (Dellaglio *et al.*, 1994). Elles partagent en outre, un certain nombre de caractéristiques communes, qui forment la base de leur classification. Ce sont des bactéries vivantes, hétérotrophes, à Gram positif, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, apigmentées, immobiles, oxydase et catalase négatives. Cependant, *Lactobacillus sakei* et *Lactobacillus plantarum* possèdent une catalase hème-dépendante qui peut être active sur les produits carnés.

Sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques sont homofermentaire ou hétérofermentaire (Dortu, 2008), et tolèrent des pH acides. Cette dernière propriété est utilisée en agroalimentaire pour acidifier le milieu et empêcher le développement des bactéries pathogènes et d'altérations (Nielsen *et al.*, 2008). Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe parmi les bactéries à faible pourcentage en GC (Muto et Osawa, 1987).

Les bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les sucres fermentescibles (Dellaglio *et al.*, 1994).

## 2- Classification des bactéries lactiques

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen, basée sur le phénotype (morphologie, biochimie et physiologie) (Lahtinen *et al.*, 2011).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées en bacilles et coques, le genre *Weissella*, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Ho *et al.*, 2007). La caractérisation physiologique inclue, principalement, la détermination de l'intervalle de température et de salinité. L'aspect biochimique s'intéresse, spécialement, à la production de gaz à partir de glucose (Sperber et Swan, 1976), à l'hydrolyse de l'arginine (Montel et Champomier, 1987), à la détermination du profil d'hydrolyse des sucres, et à la configuration de l'acide lactique (Gutmann et Wahlfeld, 1974).

La croissance à différentes températures est utilisée pour distinguer les coques entre eux. Les *Enterococcus* classiques croissent entre 10°C et 45°C, les *Lactococcus* et *Vagococcus* à 10°C, mais pas à 45°C. En général, les *Streptococcus* ne se développent pas à 10°C. La tolérance au sel peut également être utilisée pour différencier les *Enterococcus*, *Lactococcus/Vagococcus* et *Streptococcus*. Seul le genre *Tetragenococcus* tolère une concentration de 18% (p/v) de

NaCl. La capacité à croître en conditions acides et/ou alcalines peut également être utilisée. Les *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* peuvent se développer à des valeurs de pH plus élevées que les autres bactéries lactiques (Axelsson, 2004).

L'approche moléculaire de la taxonomie, et plus particulièrement, l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont permis d'affiner cette classification. Elle a abouti à la séparation du genre *Streptococcus* en *Streptococcus* sensu stricto, *Lactococcus* et *Enterococcus* (Schleifer *et al.*, 1995). De même le genre *Carnobacterium* a été créé pour regrouper des espèces de *Lactobacillus* proches (Collins *et al.*, 1987), et les genres *Tetragenococcus* et *Aerococcus* sont issus du genre *Pediococcus* dont ils forment des lignées phylogénétiques distinctes (Collins *et al.*, 1990). Enfin le genre *Oenococcus* a été créé pour regrouper des bactéries isolées du vin et précédemment classées dans le genre *Leuconostoc* (Dicks *et al.*, 1995).

Par ailleurs, Les méthodes de typage moléculaire telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la réaction de polymérisation en chaîne utilisant des éléments répétés (REP-PCR), ainsi que les restrictions de la longueur des fragments polymorphisme (RFLP) sont extrêmement précieux pour la caractérisation et la détection des bactéries lactiques (Holzapfel *et al.*, 2001).

Le tableau 1 donne les principales caractéristiques phénotypiques des bactéries lactiques (Von Wright et Axelsson, 2012).

**Tableau 1** : Genres commun des bactéries lactiques et leurs caractères différentiels (Von Wright et Axelsson, 2012)

Famille	Genre	forme	Caractéristiques							
			CO <sub>2</sub> de glucose	Croissance à 10°C	Croissance à 45°C	Croissance à 6,5% NaCl	Croissance à 18% NaCl	Croissance à pH 4,4	Croissance à pH 9,6	Type d'acide lactique
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i>	Cocci (Tétrades)	-	+	-	+	-	-	+	L
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	- <sup>c</sup>	+	-	ND <sup>d</sup>	-	ND	-	L
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	Cocci	-	+	+	+	-	+	+	L
	<i>Tetragenococcus</i>	Cocci (Tétrades)	-	+	-	+	+	-	+	L
	<i>Vagococcus</i>	Cocci (Tétrades)	-	+	-	-	-	V	-	L
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	V	V	V	V	-	V	-	D, L, DL <sup>e</sup>
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Pediococcus</i>	Cocci (Tétrades)	-	V	V	V	-	+	-	L, DL <sup>e</sup>
	<i>Leuconostoc</i>	Cocci <sup>a</sup>	+	+	-	V	-	V	-	D
	<i>Oenococcus</i>	Cocci	+	+	-	V	-	V	-	D
	<i>Weissella</i>	Cocci/Bacilles <sup>b</sup>	+	+	-	V	-	V	-	D, DL <sup>e</sup>
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i> <sup>a</sup>	Cocci	-	+	-	-	-	V	-	L
	<i>Streptococcus</i>	Cocci	-	-	V	-	-	-	-	L

V, Variable ; ND, non déterminé ; a, dans l'ancienne littérature les lactocoques sont référées aux Streptocoques group N ; b, cocci ou bacilles ; c, faible quantité de CO<sub>2</sub> selon le milieu ; d, absence de croissance à 8% NaCl ; e, production d'acide lactique D, L ou DL est variable selon l'espèce.

### 3- Habitat et caractéristiques des principaux genres

Les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires. Elles sont associées aux produits laitiers, céréaliers et carnés, aux poissons, à la bière, aux vins, aux fruits, aux légumes marinés, à la choucroute, et aux ensilages (Horvath *et al.*, 2009).

Les bactéries lactiques peuvent vivre en symbiose entre elles et avec un hôte. Ainsi, le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par des espèces des genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*. Par ailleurs, l'appareil génital des femmes contient des *Lactobacillus*, auxquelles il apporte des nutriments comme le glycogène (Pirota *et al.*, 2004 ; Falagas *et al.*, 2006).

Les principaux genres de bactéries lactiques sont : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Oenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Horvath *et al.*, 2009).

#### 3-1- *Streptococcus*

Les espèces de *Streptococcus* ont été parmi les premières bactéries à être reconnues par les microbiologistes en raison de leur implication dans un grand nombre de maladies humaines et animales (Brown, 1919 ; Schottmüller, 1903).

Les cellules sont généralement, de formes sphériques ou ovoïdes disposées par paires ou en chaînes. La formation de chaîne est plus clairement observée dans des cultures liquides, et il est difficile de distinguer ce genre des *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus* sur une base morphologique (Wijtzes *et al.*, 1997).

La seule espèce utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Hols *et al.*, 2005), elle est isolée du lait pasteurisé, et des levains artisanaux (Bekhouche, 2006). Sa température optimale de croissance est d'environ 42°C. Cependant, elle est incapable de croître à des valeurs de pH supérieures à 9,6, à une concentration égale ou supérieure à 4% (p/v) de NaCl et en présence de 0,1% (p/v) de bleu de méthylène. Cette espèce produit de l'acide lactique uniquement à partir de quelques sucres (fructose, glucose, mannose, lactose et saccharose) (Klaenhammer *et al.*, 2002) et de l'acétaldéhyde à partir de certains acides aminés comme la thréonine issue de la protéolyse (de Roissart et Luquet, 1994).

Suite à une vaste révision taxonomique de *Streptococcus* et la découverte de nouvelles espèces, il comporte plus de 100 espèces et sous-espèces dont le contenu en guanine et cytosine est compris entre 35 et 46% (Zhang *et al.*, 2013).

### **3-2- *Lactococcus***

Les espèces de ce genre sont également isolées des végétaux et des produits laitiers (lait cru, lait fermenté, beurre, fromage) (Bachmann *et al.*, 2012).

La morphologie cellulaire commune des lactocoques est ovoïde ou sphérique de diamètre de 0,5-1,0µm et associées en paires ou en chaînettes. Ils se développent habituellement dans la gamme de température 10-40°C, bien que certaines espèces puissent se développer à des températures aussi basses que 7°C après une incubation prolongée de 10 à 14 jours. Les cultures se développent dans 4% (p/v) de NaCl. Cependant, *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* tolère seulement 2% (p/v) de NaCl mais ne pousse pas à pH 4,5 (Sakala *et al.*, 2002).

*Lactococcus Lactis* subsp. *Lactis* possède un plasmide encodant la dégradation du citrate en diacétyle, molécule aromatique responsable de l'arôme du beurre.

### **3-3- *Enterococcus***

Les entérocoques sont présents naturellement dans les eaux usées, eau douce, eau de mer, sur les végétaux, le lait et les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche (Devriese *et al.*, 2002 ; Foulquie-Moreno *et al.*, 2006). Ils ont été également isolés des intestins, des matières fécales et de la peau de l'homme et des animaux (Felis et Dellaglio, 2007).

Ce genre forme des coques qui se présentant de manière isolé, en paires, en chaînettes ou en amas et leur morphologie peut varier selon les conditions de culture (Devriese *et al.*, 2002). Par ailleurs, il est caractérisé par ses capacités à croître à des valeurs de pH élevées, de résister à l'acidité, et de se développer en présence de concentrations salines élevées (Ruiz-Moyano *et al.*, 2008).

### **3-4- *Leuconostoc***

Les espèces de ce genre sont isolées des viandes stockées, des végétaux, des produits laitiers fermentés et des vins (Thunell, 1995). Elles forment des cellules sphériques, souvent allongées, et disposées en paires ou en chaînes (Tanigawa et Watanabe, 2011). Leur métabolisme est de type hétérofermentaire avec production d'acide lactique, de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. La croissance est optimale entre 25°C et 30°C. Le développement des *Leuconostoc* entraîne, souvent, l'apparition d'une viscosité dans le milieu (Guiraud, 2003).

### **3-5- *Pediococcus***

Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages et les préparations culinaires (saucisses, anchois salés ou sauce de soja) (Bekhouche, 2006).

Les cellules sont sphériques, organisées en diplocoques ou en tétrades (Simpson et Taguchi, 1995). Selon les espèces, la température optimale de croissance varie de 25°C à 40°C. Ce genre possède, généralement, une faible activité protéolytique, et est incapable d'utiliser le lactose, et de coaguler le lait (Renouf *et al.*, 2006). Le métabolisme des glucides est de type homofermentaire (Holzapfel *et al.*, 2009).

### **3-6- *Lactobacillus***

Les lactobacilles sont souvent associés au tractus gastro-intestinal des mammifères ainsi qu'aux végétaux. Beaucoup d'espèces sont utilisées en tant que probiotiques pour la santé animale ou humaine (Hammes et Hertel, 2009 ; Lysiane, 2012).

Il s'agit de bacille généralement allongé, parfois groupés en paires et en chaînes. Il regroupe des espèces homolactique et hétérolactique produisent des acides volatils, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> en plus de l'acide lactique (Guiraud, 2003).

Des membres de ce genre sont également, capables de croître à des valeurs de pH entre 3,0 et 8,0 et sur une gamme de température allant de 2°C à 53°C et dont l'optimum est compris entre 30°C et 40°C et pour un pH de 5,5 à 6,2 (Salvetti *et al.*, 2012).

### **3-7- *Bifidobacterium***

Ce genre est ajouté aux bactéries lactiques à cause de la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques, à sa présence dans le même habitat écologique tel que le tube gastro-intestinal que les bactéries lactiques. Il est également utilisé en industrie laitière. Cependant phylogénétiquement, ce genre est éloigné des bactéries lactiques. Il a un pourcentage en GC supérieur à 50% (phylum des *Actionbacteria*) alors que les bactéries lactiques ont une teneur en GC inférieure à 50% (Phylum des *Firmicutes*) (Holzapfel *et al.*, 2001).

Les bifidobactéries sont des bâtonnets, à Gram positif, asporulés, immobiles, de formes variées, légèrement incurvées et en forme de massue ; elles sont souvent ramifiées (Felis *et al.*, 2007). Les bâtonnets peuvent être isolés, en amas ou en paires de formes V. La température de croissance varie de 36°C à 43°C (Ho *et al.*, 2007).

Toutes les espèces du genre *Bifidobacterium* utilisent une voie particulière métabolique (le shunt bifide) pour la dégradation des hexoses qui diffère de celle des autres genres de bactéries lactiques (Felis et Dellaglio, 2007).

*Bifidobacterium* est présent naturellement dans l'intestin qu'il colonise durant la première semaine après la naissance (Ishibashi *et al.*, 1997). Il représente environ 95% du microbiote de l'enfant et 3% de l'adulte. On a dénombré environ 30 espèces de *Bifidobacterium* dont certaines sont considérées comme probiotiques (Trebichavsky *et al.*, 2009). Leur présence entraînerait une protection contre les agents infectieux au niveau intestinal grâce à la présence d'un facteur bifidogène (Sondergaard, 2005).

### **3-8- *Carnobacterium***

Le genre *Carnobacterium* a été proposé en 1987 par Collins et ses collaborateurs pour classer les souches ressemblant à *Lactobacillus* (Carr *et al.*, 2002). On retrouve cette bactérie essentiellement dans les produits carnés, les produits de la mer et dans les produits laitiers (Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 2002 ; Sakala *et al.*, 2002 ; Dalgaard *et al.*, 2003).

Ce genre est constitué de bacilles minces, droits ou légèrement incurvés, se présentant de manière isolée ou groupée par deux (formant un V caractéristique) ou parfois en chaînettes, mobiles ou immobiles, et à métabolisme hétérofermentaire (Carr *et al.*, 2002). Il est incapable de croître en présence de 8% (p/v) de NaCl et à 45°C, mais donne des colonies visibles à 10°C et parfois à 0°C. Sa température optimale de croissance varie de 23°C à 30°C et son pH optimum de 6,0 à 7,4. Son comportement vis-à-vis de l'oxygène est anaérobie ou aérotolérant (Edima, 2007).

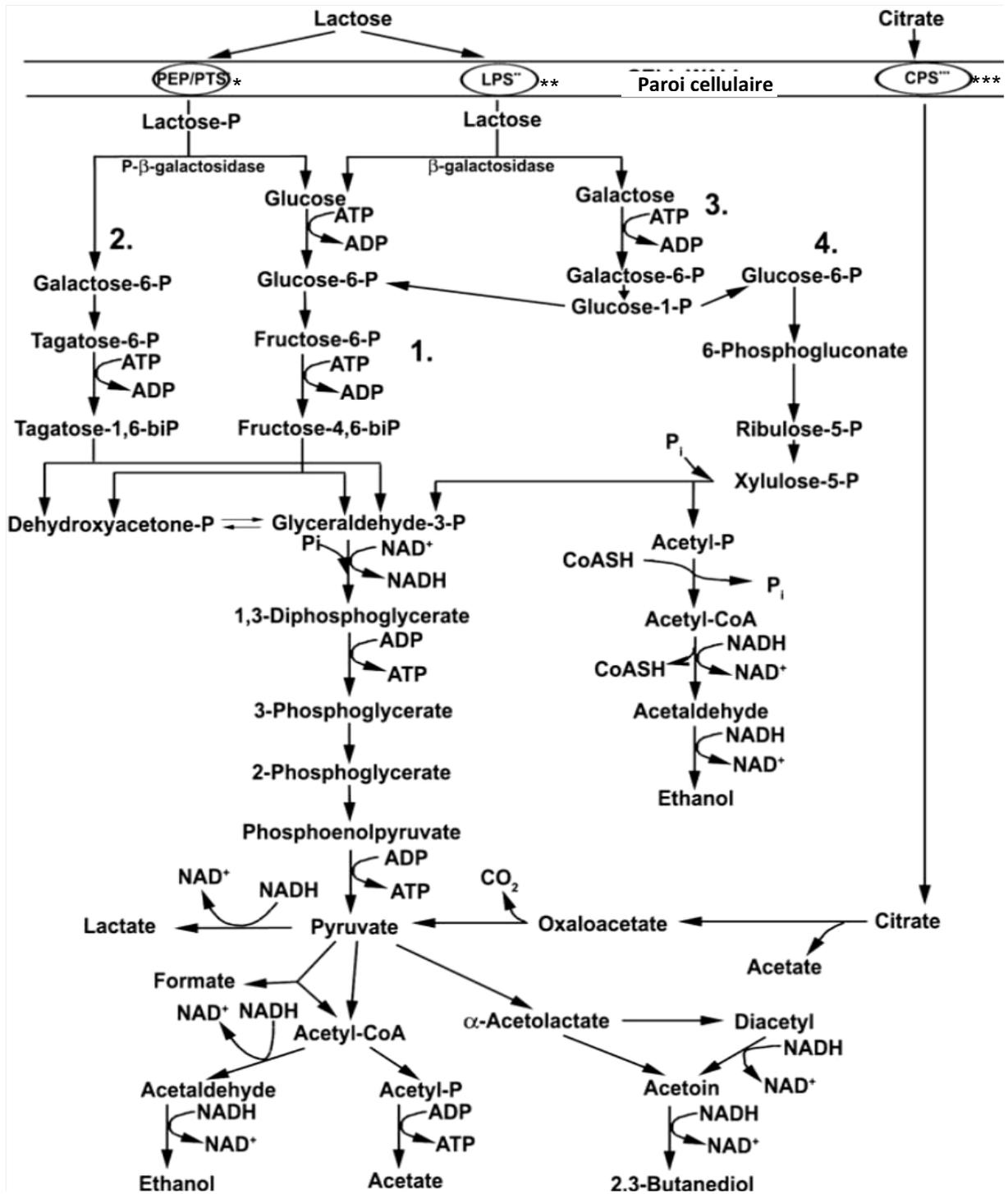
## **4- Métabolisme des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont auxotrophes mais leur besoin en acides aminés est très variable entre les espèces et parfois entre les souches de la même espèce (Lysiane, 2012). Cependant, elles sont capables de fermenter des sucres en acides lactiques (Loubiere et Coccagn-Bousquet, 2009).

Les sucres peuvent être des monosaccharides tels que les hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), des sucres alcools (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des dissaccharides (lactose, saccharose, cellobiose, maltose, tréhalose) (Loubiere et Coccagn-Bousquet, 2009).

La fermentation, conduit généralement à une gamme de produits, qui comprennent principalement les acides organiques, l'alcool, et le dioxyde de carbone. Ces métabolites assurent un effet de conservation en inhibant la croissance de la microflore pathogène. En outre, d'autres métabolites peuvent être produits qui améliore la qualité des produits fermentés, tels que le diacétyle et l'acétaldéhyde, ainsi que des composés qui peuvent avoir des conséquences positives sur la santé tels que des vitamines, des antioxydants et des peptides bioactive (de Vos, 1996).

Le figure 1 présente le métabolisme de lactose et du citrate par les bactéries lactiques (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996).



**Figure 1** : Métabolisme du lactose et du citrate par les bactéries lactiques

(1) voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (glycolyse) ; (2) voie de tagatose; (3) voie de Leloir ; (4) voie phosphocétolase (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996, cité par Vasiljevic et Shah, 2007).

\*PEP-PTS : système dépendant de phosphoenolpyruvate-phosphatotransférase

\*\* LPS : lactose perméase

\*\*\* CPS : le citrate perméase

#### 4-1- Fermentations des glucides

Les bactéries lactiques utilisent la fermentation lactique selon deux voies pour dégrader les glucides (figure 1). La voie homofermentaire regroupe la voie de la glycolyse, aussi connue sous le nom de voie d'Embden-Meyerhof (Parnas), suivie de la conversion de 2 molécules de pyruvate en 2 molécules de lactate. Elle est surtout utilisée par les bactéries appartenant aux genres *Streptococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus lactis* et *Lactobacillus plantarum* et par *Thermobacterium yoghurti* (Makhloufi, 2011).

La voie hétérofermentaire, communément appelée voie des pentoses phosphate (transcétolases) se produit chez les espèces appartenant à *Lactobacillus*, telles que *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti* et chez *Leuconostoc*, telles que *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc pentosaceus*. Ces bactéries dégradent les hexoses avec formation quasi stœchiométrique d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule de CO<sub>2</sub> et d'une molécule d'éthanol. Les sucres à cinq atomes de carbone ou pentoses, peuvent parfois être fermentés et donnent alors une molécule d'éthanol et une molécule d'acide lactique. Outre ces produits, qui représentent plus de 80% des métabolites obtenus, on obtient également de l'acide acétique et du glycérol.

Il existe d'autres types de fermentations telles que la fermentation malolactique, moins connue, qui est principalement utilisée par *Oenococcus oeni* pour la désacidification du vin. La fermentation malolactique commence après la fermentation alcoolique et consiste en la conversion de l'acide malique en acide lactique avec dégagement de CO<sub>2</sub> (Makhloufi, 2011).

#### 4-2- Métabolisme du citrate

Les homofermentative, *Lactococcus lactis* ssp. biovar *lactis diacetylactis* et les leuconostocs hétérofermentaires, y compris les souches de *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Cremoris*, sont capable de métaboliser le citrate. Il n'est pas utilisé comme une source d'énergie, son métabolisme est effectué uniquement en présence d'un sucre fermentescible comme le lactose. Les principaux métabolites résultant du métabolisme du citrate sont : l'acide acétique, CO<sub>2</sub>, et "les produits de C4", y compris le diacétyle, responsable de la saveur dans plusieurs produits laitiers (Walstra *et al.*, 1999).

Les souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ne peuvent pas métaboliser le citrate, par conséquent, le diacétyle et l'acétoïne doivent être formé à partir du pyruvate produit durant le métabolisme du sucre (Walstra *et al.*, 1999).

### 4-3- Production d'acétaldéhyde

L'acétaldéhyde est un composant important de l'arôme des produits fermentés. Il est, principalement, produit par des bactéries lactiques qui ne possèdent pas l'alcool déshydrogénase. Ces bactéries ne peuvent pas réduire l'acétaldéhyde formé à partir de l'éthanol. Des exemples de bactéries productrices d'acétaldéhyde ; *Lactococcus lactis* ssp. biovar *lactis diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* (Walstra *et al.*, 1999).

### 5- Intérêts et utilisations des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs secteurs d'activités, notamment dans le domaine de l'agriculture, de la santé et de l'industrie agroalimentaire. Dans le dernier secteur, elles sont responsables du développement des caractéristiques organoleptiques et de l'augmentation de la durée de conservation des aliments (Stiles et Holzapfel, 1997).

#### 5-1- Utilisation des bactéries lactiques en tant que probiotiques

Des propriétés probiotiques sont attribuées à de nombreuses souches appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Bifidobacterium* (Shah, 2007). Les effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, associés aux probiotiques incluent des activités antimicrobiennes, des propriétés antimutagènes et anticarcinogènes.

Les bactéries lactiques produisent également des enzymes comme la lactase impliquée dans le soulagement des symptômes associés à une intolérance au lactose. Elles sont responsables de la réduction du cholestérol (Shah, 2007), de la stimulation du système immunitaire et de la réduction d'allergies chez les sujets à risques (Kalliomaki *et al.*, 2001 ; Savilahti *et al.*, 2008 ; Gourbeyre *et al.*, 2011).

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans des produits comme les yaourts ou bien dans des préparations pharmaceutiques sous forme de gélules (Picard *et al.*, 2005).

#### 5-2- Bactéries lactiques dans la biopréservation

La biopréservation consiste à ajouter sur un aliment un ou des microorganismes et/ou leurs métabolites, sélectionnés pour leurs capacités à inhiber le développement des microorganismes indésirables, afin d'augmenter la durée de vie des denrées alimentaires et/ou de limiter la croissance des germes pathogènes. Ce concept s'inscrit dans l'utilisation des technologies de barrière, en complément d'autres méthodes de conservation comme la réfrigération, la conservation sous vide ou sous atmosphère modifiée, etc. (Pilet *et al.*, 2009).

La diversité des bactéries lactiques permet d'avoir recours à un grand nombre de souches possédant des activités inhibitrices envers les bactéries pathogènes ou d'altérations par des mécanismes variés (production d'acides organiques, production de peroxyde d'hydrogène, production de bactériocines, compétition nutritionnelle) (Sánchez *et al.*, 2009).

La technologie de biopréservation utilisant des bactéries lactiques inhibitrices constitue un outil supplémentaire au service des industriels qui peut contribuer à l'amélioration de la qualité et de la sécurité microbiologique. Elle constitue une alternative pour la conservation des produits réfrigérés qui ont une durée de conservation de plusieurs jours à plusieurs semaines. Cependant, leur application exige une sélection ciblée des souches permettant de répondre au mieux aux caractéristiques des produits (Pilet *et al.*, 2009).

### **5-3- Utilisation industrielle des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques font partie de l'alimentation humaine depuis l'antiquité. Elles participent à la fermentation de nombreux aliments d'où changement de la saveur de l'aliment et de sa texture. D'autre part, les bactéries lactiques produisent des peptides et des molécules comme l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétyl ou l'éthanol.

L'industrie laitière est, sans doute, le plus grand consommateur de ferments lactiques commerciaux, pour la production de laits fermentés, fromages, crèmes et beurres. La fermentation du lait par des bactéries lactiques est à l'origine de nombreux produits différents, chacun avec ses caractéristiques spécifiques d'arôme, de texture et de qualité (Hugenholtz *et al.*, 2002).

Les bactéries lactiques sont aussi utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical et dans l'industrie des additifs alimentaires (Wisselink *et al.*, 2002).

### **6- Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

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

### **6-1- Activité acidifiante**

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques dans la fabrication des produits fermentés, les bactéries lactiques provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone (Visessanguan *et al.*, 2006).

Dans la pratique industrielle, les principales voies permettant d'agir sur les profils d'acidification sont le choix des ferments, les doses d'ensemencement et les profils de température (Dacosta, 2000). L'activité acidifiante des ferments dépend de la nature et de l'équilibre entre les différentes souches présentes, en particulier, la présence de certaines espèces ou mélanges d'espèces différentes va permettre d'obtenir l'activité voulue. Cependant, il est important de souligner qu'il existe une forte variabilité de l'activité acidifiante des bactéries lactiques, y compris au sein d'une même espèce (Corrieu et Luquet, 2008).

Les conséquences, d'ordre physicochimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi Béal *et al.*, (2008) :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux ;
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

### **6-2- Activité protéolytique**

La protéolyse joue un rôle clé dans plusieurs processus biologiques chez les bactéries lactiques: nutrition azotée, activation de protéines et dégradation de protéines. La machinerie protéolytique des bactéries lactiques est constituée d'un ensemble d'enzymes qui hydrolysent des oligopeptides et de ce fait, produisent les substances responsables de la flaveur et de la texture des produits fermentés (Ammor *et al.*, 2005). Elles possèdent un système protéolytique complexe qui assure leur croissance dans des milieux à faibles concentrations en acides aminés libres et oligopeptides comme le lait (Vasiljevic *et al.*, 2005).

### **6-3- Activité lipolytique et formation de substances aromatiques**

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

#### 6-4- Formation des exopolysaccharides (EPS)

Les EPS sont des polysaccharides d'origine microbienne constitués de longues chaînes d'unités répétitives de sucres simples et/ou de dérivés de glucides plus ou moins ramifiées (Ruas-Madiedo *et al.*, 2002).

La plupart des bactéries lactiques synthétisent les polysaccharides. Certains se trouvent à l'intérieur de la cellule, d'autres sont des composants de la paroi. Un troisième groupe de polysaccharides est excrété à l'extérieur de la cellule d'où vient le terme "exopolysaccharide" (EPS) (Topisirovic *et al.*, 2006).

Les EPS ont l'avantage d'être «naturels», requis en faible concentration et ne peuvent remplacer les agents stabilisants par leurs propriétés de modifier positivement la texture, la viscosité et la sensation en bouche des laits fermentés (Marshall et Rawson, 1999). Ils peuvent alors servir d'émulsifiants ou d'agents gélifiants (Welman *et al.*, 2003).

Les EPS contribueraient également à protéger les bactéries lactiques contre les environnements hostiles et/ou toxiques, les bactériophages, la séquestration de certains cations essentiels et la reconnaissance cellulaire. Ils pourraient jouer un rôle dans les phénomènes de compétition (Broadbent *et al.*, 2003).

Dans le cas des deux bactéries du yogourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. La production d'EPS est régulée par plusieurs gènes au niveau chromosomique (Cerning, 1995). Généralement, pour les bactéries thermophiles, la production d'EPS est associée à la croissance bactérienne (Petry *et al.*, 2003).

#### 6-5- Activité aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' $\alpha$ -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne, le 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, etc. (Cholet, 2006).

#### 6-6- Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques (Liu, 2003). Leurs propriétés inhibitrices incluent, principalement, la compétition pour les nutriments, les changements physicochimiques du milieu, tels que l'acidification et la production de métabolites antimicrobiens. En effet, les bactéries lactiques ont la propriété de produire de nombreuses substances inhibitrices telles que les acides organiques (acide lactique), du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), du  $CO_2$ , du diacétyl, de l'acétaldéhyde, la reutéline et des bactériocines (O'sullivan *et al.*, 2002).

## **7- Ferments lactiques**

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plus. Les ferments lactiques constituent un groupe diversifié de bactéries lactiques qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes (Lamontagne *et al.*, 2010). Ils sont ajoutés à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation (Leroy et De Vuyst, 2004).

Aujourd'hui, les producteurs d'aliments fermentés ont le choix d'acheter des levains prêts à l'emploi, sous forme concentrée, ou de procéder eux-mêmes à la propagation des souches dans l'usine. La solution la plus employée reste l'utilisation de levains commerciaux en inoculation directe (Hansen, 2002).

On distingue deux catégories principales de ferments:

### **Ferments artisanaux**

Tous les ferments disponibles, généralement, sont dérivés des *starters* artisanaux de composition non définie (contenant un mélange de différentes souches et/ou espèces non définies) (Brusetti *et al.*, 2008).

La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » est dérivée d'une pratique antique dénommée “ *back slopping* ” (l'utilisation d'un vieux batch d'un produit fermenté pour inoculer un produit neuf) et/ou par l'application des pressions sélectives (traitement thermique, température d'incubation, baisse de pH) (Carminati *et al.*, 2010).

### **Ferments commerciaux**

Les ferments commerciaux sont en général commercialisés sous forme lyophilisée et peuvent être utilisés pour l'inoculation directe de la cuve de fermentation ce qui évite la contrainte de la propagation sur place. Ces ferments sont développés en grands volumes à partir d'une culture initiale définie ou non définie, concentrée et ensuite congelée ou lyophilisée pour le stockage et la distribution (Robinson, 2002).

#### **7-1- Production de ferments lactiques**

Les bactéries lactiques sont traditionnellement propagées en cuve fermée, par fermentation discontinue ou «batch» Dans ce cas, le milieu de culture est initialementensemencé et n'est pas renouvelé jusqu'à la fin de la fermentation. Le principal facteur limitant la production de ferments lactiques par cette technique réside dans l'accumulation de produits toxiques du métabolisme bactérien, principalement, l'acide lactique. Cette technique peut être utilisée pour propager des cultures pures ou mixtes. Dans ce dernier cas, le contrôle de la population de chacune des souches est plus délicat mais il permet une réduction des besoins

d'équipement par rapport au mode de propagation en cultures pures suivi d'un mélange pour obtenir la culture mixte désirée (Doleyres, 2003).

Les fermentations continues utilisent des systèmes dans lesquels la cuve est continuellement alimentée en milieu de culture frais alors que le milieu fermenté est retiré avec le même débit. Cette technologie est encore peu utilisée en milieu industriel mais offre de nombreux avantages comparativement aux cultures discontinues. Elle permet en effet d'éviter le problème d'accumulation de produits inhibiteurs par l'emploi de taux de dilution adéquats et d'augmenter la productivité de l'installation. Cependant, les risques de contamination sont plus importants et, en culture mixte, les interactions entre les souches et leur différente compétitivité peuvent conduire rapidement à l'élimination d'une ou de plusieurs souches dans le bioréacteur. Par ailleurs, les cultures continues nécessitent des équipements plus complexes ainsi qu'un travail en aval adapté (Doleyres, 2003).

### **7-2- 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 leur performance et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée (Béal *et al.*, 2008).

## **1- Crème**

### **1-1- Définition**

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

### **1-2- Composition et valeur nutritionnelle**

Les rapports essentiels de la crème sont constitués par les lipides et la vitamine A. Elle fournit également une quantité intéressante de calcium et de potassium (tableau 2).

Les protéines de la crème sont des protéines lactiques de très bonne qualité, elles représentent environ les 2/3 de la teneur protéique trouvée dans le lait. La crème renferme des acides gras à chaîne courte qui sont très digestes. L'apport en cholestérol moyen est de 110 mg/100 g avec des valeurs extrêmes de 53 à 70 mg/100 g pour la crème légère et de 140 mg/100 g pour une crème très riche en matières grasses. Pour les glucides, ils sont essentiellement représentés par le lactose mais cette teneur reste négligeable et les minéraux restent aussi en quantité négligeable (Fredot, 2005).

### **1-3- Fabrication de la crème de consommation**

Les crèmes de consommation se distinguent en fonction :

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

Par conséquent, elles font appel à différentes opérations et traitements afin d'atteindre les objectifs fixés (Boutonnier, 2007).

**Tableau 2:** Teneur en éléments nutritifs de 100g de la crème, cité par (Chandan et Kilara, 2011)

Nutriments	Unités	Crème
Poids	g	100
Humidité	%	57,71
Energie	kcal	345
Energie	kJ	1443
Protéine	G	2,05
Matière Grasse	g	37,00
Les acides gras saturés	g	23,032
Les acides gras mono-insaturés	g	10,686
Les acides gras poly-insaturés	g	1,374
Cholestérol	mg	137
Glucides	g	2,79
Fibre alimentaire	g	0
Calcium	mg	65
Fer	mg	0,03
Magnésium	mg	7
Phosphore	mg	62
Potassium	mg	75
Sodium	mg	38
Zinc	mg	0,23
Cuivre	mg	0,006
Manganèse	mg	0,001
Sélénium	µg	0,5
Vitamine C	mg	0,6
Thiamine	mg	0,022
Riboflavine	mg	0,110
Niacine	mg	0,039
Acide pantothénique	mg	0,255
Vitamine B 6	mg	0,026
Acide folique	µg	4
Vitamine B 12	µg	0,18
Vitamine A	µg	411
Vitamine D	µg	27
Vitamine E	mg	1,06
Vitamine K	µg	3,2
Tryptophane	g	0,029
Thréonine	g	0,093
Isoleucine	g	0,124
Leucine	g	0,201
Lysine	g	0,163
Méthionine	g	0,051
Cystéine	g	0,019
Phénylalanine	g	0,099
Tyrosine	g	0,099
Valine	g	0,137
Arginine	g	0,074
Histidine	g	0,056
Alanine	g	0,071
Acide aspartique	g	0,156
Acide glutamique	g	0,429
Glycine	g	0,043
Proline	g	0,199
Serine	g	0,111

### **1-3-1- Ecrémage**

Le lait est chauffé à 50°C suivie d'une séparation de la matière grasse du lait au cours de l'opération d'écémage donnant deux produits: le lait écrémé et la crème. Cette séparation se fait par centrifugation avec des machines perfectionnées à une température de 35°C (Boutonnier, 2007).

### **1-3-2- Standardisation**

C'est une opération qui consiste à ajuster le taux de matière grasse par addition de crème plus riche en matière grasse ou encore de lait écrémé à une crème riche en matière grasse (Vignola *et al.*, 2002).

### **1-3-3- Homogénéisation**

Ce traitement permet d'obtenir des crèmes relativement visqueuses avec des taux de matière grasse assez faibles. Les paramètres d'homogénéisation sont variables suivant la teneur en matière grasse de la crème (pression élevée pour les crèmes légères) (Partridge, 2008).

### **1-3-4- Pasteurisation**

La pasteurisation consiste en un traitement thermique à haute température qui se fait entre 85°C et 90°C pendant 15 à 20 secondes tout en préservant les qualités organoleptiques de la crème. Elle provoque la destruction des germes pathogènes et de la plupart des germes saprophytes, la destruction des lipases facteurs de rancissement, la formation de composés sulfurés réducteurs qui s'opposent à l'oxydation des lipides, et la maîtrise ultérieure de la maturation lactique de la crème (Fredot, 2005).

### **1-3-5- Désaération et désodorisation**

La présence d'air, sous forme dissoute ou dispersée dans la crème, est issue des nombreuses opérations de transvasement du lait ou de la crème.

Cet air occasionne, notamment l'incrustation des surfaces d'échange thermique à haute température, des pertes de précision au niveau des mesures volumétriques, ainsi que des risques d'oxydation des acides gras insaturés.

En outre, la crème peut contenir des substances malodorantes :

- Issues de l'alimentation (plantes sauvages en pâturage, chou fourrager, etc.).
- Originaires d'une fixation, par la matière grasse du lait, d'odeurs de substances diverses (produits d'hygiène, solvants divers, etc.).
- Résultant d'une activité enzymatique ou microbienne.

Ce traitement s'effectue généralement dans un cyclone au sein duquel la crème circule en couche mince tangentielle à la paroi. La pression dans cette enceinte est réduite de manière à faciliter l'extraction de l'air et la vaporisation des substances malodorantes sans provoquer l'ébullition de la crème (Boutonnier, 2007).

### 1-3-6- L'ensemencement en ferments lactiques et maturation

Si on veut accroître la viscosité de la crème pour obtenir une crème épaisse afin de faciliter certaines applications, on lui fait subir une maturation biologique.

Onensemence la crème, pasteurisée puis refroidie, avec un mélange de souches de ferments lactiques mésophiles qui comprend :

- d'une part, des **souches acidifiantes**, comme *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris*, qui transforment le lactose en acide lactique. Ce dernier permet un abaissement du pH, et l'inhibition des microorganismes de contamination ;
- d'autre part, des **souches aromatiques** comme *Lactococcus diacetylactis* et *Leuconostoc cremoris*, qui fermentent les citrates et produisent du diacétyle.

Cette maturation dure entre 15 et 20 heures. Elle s'opère à des températures soit basses vers 14-15°C pour favoriser les souches microbiennes aromatiques, soit plus élevées vers 20-23°C afin, au contraire, de privilégier les souches microbiennes acidifiantes (Boutonnier, 2007).

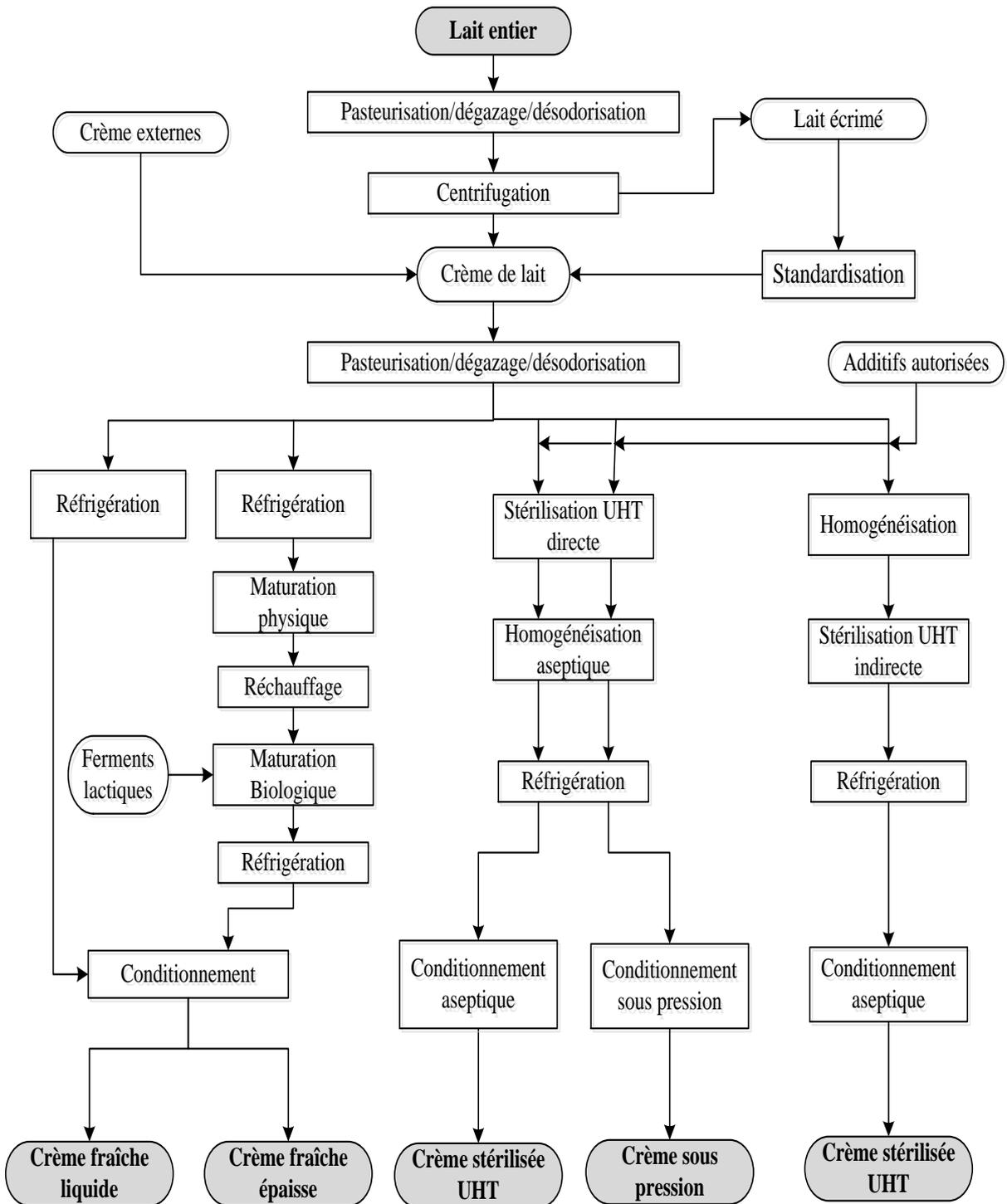
Les valeurs de pH varient selon le type de la crème, elles sont de 6,2 à 6,3 pour les crèmes fraîches et 4,5 à 4,6 pour les crèmes acides. C'est surtout à partir de pH 5,0 que l'augmentation de la viscosité de la crème est plus importante et que les *Leuconostoc* se développent en produisant de l'arôme (Jeantet *et al.*, 2008).

L'abaissement du pH à une valeur de 4,6, point isoélectrique de la caséine, provoque une coagulation des micelles de caséine. Le gel protéique obtenu sous forme d'un réseau tridimensionnel emprisonne les globules gras et contribue ainsi à l'accroissement de la viscosité de la crème. Hormis l'homogénéisation, procédé physique, et la maturation, processus biologique, on peut épaissir les crèmes de consommation en ajoutant des épaississants et des gélifiants autorisés. Cependant, dans ce dernier cas, le produit fini perd l'appellation de crème et devient une «spécialité laitière à base de crème» (Boutonnier, 2007). Le tableau 3 présente quelques grandes caractéristiques des bactéries lactiques utilisées dans la fabrication de la crème de consommation.

**1-3-7- Conditionnement**

Le mode de conditionnement et le type d'emballage utilisés varient selon le produit, la crème est répartie dans les pots sur une conditionneuse dotée de doseurs à piston. Les pots sont ensuite étiquetés puis stockés en chambre froide (Dudez *et al.*, 2002).

La figure 2 présente les étapes de fabrication des crèmes de consommation selon Boutonnier (2007).



**Figure 2** : Principaux procédés de fabrication des crèmes de consommation (Boutonnier, 2007)

**Tableau 3** : Caractéristiques et rôles de quelques espèces utilisées dans la fabrication de la crème (Lamontagne *et al.*, 2010)

Espèce	pH optimal de croissance	Température de croissance		Rôle
		Optimale	Maximale	
<i>Lc. cremoris</i>	6,0 -6,5	28-32°C	34-39°C	Acidification au cours de la production Protéolyse en cours de maturation; amertume si cette protéolyse n'est pas contrôlée
<i>Lc. lactis</i>	6,0-6,5	29-34°C	40-42°C	
<i>Lc. diacetylactis</i>	6,0-6,5	30-34°C	40-42°C	Même rôle que pour <i>Lc. lactis</i> et <i>Lc. cremoris</i>
				Fermentation du citrate avec production d'arômes et de gaz
<i>Ln. lactis</i>	5,5-6,0	20-27°C	34-36°C	Fermentation du citrate avec production d'arômes
<i>Ln. cremoris</i>	5,5-6,0	20-27°C	34-36°C	

#### 1-4- Dénominations

##### 1-4-1- Crème crue

C'est la crème obtenue juste après l'écémage qui n'a subi aucun traitement thermique particulier, sa consistance est liquide et sa saveur est douce (Vignola *et al.*, 2002).

##### 1-4-2- Crème fraîche pasteurisée liquide

Elle n'a pas subi d'ensemencement ni de maturation, elle conserve par conséquent sa texture fluide et douce mais elle est assez fragile. Cette crème est rarement commercialisée sauf pour les restaurateurs sous l'appellation « crème fleurette » mais cette appellation est générique et non légale. Elle est très appréciée pour son aptitude au foisonnement c'est-à-dire à être battue pour intégrer l'air ce qui la rend légère et volumineuse jusqu'au stade de la chantilly (Fredot, 2005).

##### 1-4-3- Crème fraîche pasteurisée épaisse (ou maturée)

A la suite de la pasteurisation, si l'on souhaite une crème épaisse, on procède à la maturation. Le procédé consiste à refroidir la crème pour « cristalliser » une partie de la matière grasse (maturation physique) puis à l'ensemencer avec des ferments lactiques prélevés sur des crèmes, particulièrement, aromatiques (maturation biologique) et possédant un taux d'acidité élevé (Fredot, 2005).

#### **1-4-4- La crème UHT**

Le traitement UHT des crèmes est une pratique de plus en plus répandue dans l'industrie en raison de leur conservation prolongée, appropriée pour un produit plus dispendieux. Les qualités organoleptiques, nutritionnelles et fonctionnelles sont ainsi conservées. Le conditionnement se fait de manière aseptique (Pouliot *et al.*, 2010).

#### **1-4-5- Crème stérilisée**

Une fois conditionnée, la crème crue est stérilisée à 115°C durant 15 à 20 minutes, puis refroidie. Ce procédé développant un goût de cuit ou de caramel (Merigaud *et al.*, 2009).

#### **1-4-6- Crème chantilly**

Cette dénomination est réservée à la crème fouettée qui contient au moins 30g de matière grasse pour 100g et dont les seuls produits d'addition sont le saccharose et d'éventuelles matières aromatisantes naturelles (Vignola *et al.*, 2002).

#### **1-4-7- Crème légère**

A l'écémage, on cherche à obtenir une teneur en matière grasse légèrement plus élevée ou égale à celle du produit fini, car l'émulsion dans une crème riche en gras (45% ou plus) est moins stable. L'écémage à froid préserve la viscosité de la crème alors qu'à chaud, il doit être suivi le plus tôt possible de la pasteurisation pour limiter l'action des lipases activées par la température et l'agitation.

Pour la standardisation, le lait entier est préférable au lait écrémé puisqu'il peut mieux prévenir la séparation de la crème du sérum (Pouliot *et al.*, 2010).

#### **1-4-8- Crème double**

Il s'agit d'une crème «extra-épaisse» dont la viscosité est beaucoup plus élevée que la normale. L'homogénéisation n'est pas nécessaire mais son utilisation en combinaison avec un refroidissement contrôlé permet de produire des crèmes à viscosité très variable (Varnam et Sutherland, 1994).

#### **1-4-9- Crème fouettée ou à fouetter**

La crème à fouetter doit être très visqueuse, contenir entre 32 et 40% de matière grasse. Un des principaux problèmes rencontrés dans la fabrication de cette crème est l'agglomération des globules de gras qui réduit la stabilité de l'émulsion. Ces agglomérations se produisent lorsque les globules de gras, partiellement, cristallisés et dont la membrane est à ce moment fragile sont soumis à des manipulations mécaniques difficiles.

La crème fouettée n'est pas homogénéisée, et est conservée au froid au moins 24 heures avant le fouettage. Cette maturation à basse température permettra aux globules de gras liquéfiés lors de la pasteurisation, de se solidifier et de s'agglomérer. Il en résultera ainsi un fouettage plus rapide, de même qu'une consistance et une stabilité meilleures (Pouliot *et al.*, 2010).

#### **1-4-10- Crème sous pression**

Elle est toujours pasteurisée ou stérilisée et son taux de foisonnement ainsi que sa composition sont similaires à celle de la crème à fouetter, à l'exception des stabilisateurs dont l'addition est limitée à 0,1%. Son conditionnement se fait sous pression grâce à l'injection d'un gaz neutre dont l'échappement provoque son foisonnement (Fredot, 2005).

#### **1-4-11- Crème sure**

Elle est riche en graisses, obtenue par la fermentation de la crème par des bactéries produisant de l'acide lactique. Elle est très utilisée au USA, en Europe de l'est et centrale ainsi qu'en pays anglo-saxons. Par définition, la crème aigre ou crème sure au Québec est un produit de crème pasteurisée qui est acidifié par des bactéries productrices d'acide lactique; il doit contenir au moins 18% de matière grasse et au moins 0,5% d'acide lactique (FDA, 2008).

C'est un produit laitier fermenté populaire qui revient sous différentes noms et des formes légèrement différentes à l'échelle mondiale. Cette variation de la forme est due principalement à la teneur en matière grasse et aussi l'acidité et/ou la viscosité de produit finis.

En outre, l'utilisation finale du produit ou leur application dans l'alimentation varie de pays à pays. Dans les États-Unis la crème acide est utilisé comme une garniture savoureuse, et peut également se trouver comme ingrédient de gâteaux, de biscuits, et/ou comme un ingrédient clé dans divers aliments chauds, tandis qu'en France, la crème aigre, est généralement utilisé comme une garniture pour les fruits, et pour les salades (Meunier-Goddik, 2004).

## **2- Beurre**

### **2-1- Définition**

Le beurre est un aliment préparé, conformément aux bonnes pratiques industrielles, à partir du lait ou des produits du lait et doit contenir au moins 80% de matière grasse du lait. Il peut également contenir des solides du lait, des cultures bactériennes, du sel et un colorant alimentaire. Conformément au *Codex Alimentarius*, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement, sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile (Paul, 2010).

Il contient de 80 à 81% de matière grasse laitière, 17% d'humidité, 1% de glucides et de protéines, et 1,2 à 1,5% de chlorure de sodium (Kornacki *et al.*, 2001) (tableau 4).

**Tableau 4:** Teneur en éléments nutritifs de 100g de beurre, cité par (Chandan et Kilara, 2011)

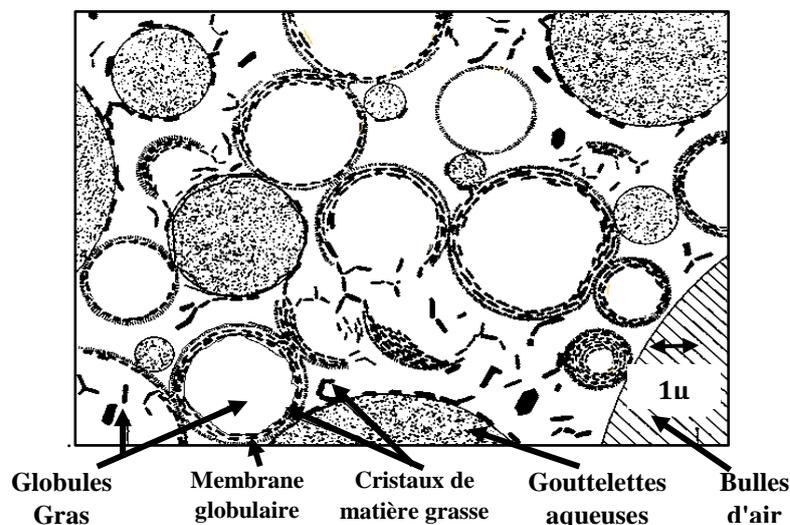
Nutriments	Unités	Beurre Salé	Beurre non salé
Poids	g	100	100
Humidité	%	15,87	17,94
Energie	kcal	717	717
Energie	kJ	2999	2999
Protéine	g	0,85	0,85
Matière Grasse	g	81,11	81,11
Les acides gras saturés	g	51,368	51,368
Les acides gras mono-insaturés	g	21,021	21,021
Les acides gras polyinsaturés	g	3,043	3,043
Cholestérol	mg	215	215
Glucides	g	0,06	0,06
Fibre alimentaire	g	0	0
Calcium	mg	24	24
Fer	mg	0,02	0,02
Magnésium	mg	2	2
Phosphore	mg	24	24
Potassium	mg	24	24
Sodium	mg	576	11
Zinc	mg	0,02	0,09
Cuivre	mg	0	0,016
Manganèse	mg	0	0,004
Sélénium	µg	1,0	1,0
Vitamine C	mg	0	0
Thiamine	mg	0,005	0,005
Riboflavine	mg	0,034	0,034
Niacine	mg	0,042	0,042
Acide pantothénique	mg	0,110	0,110
Vitamine B 6	mg	0,003	0,003
Acide folique	µg	3	3
Vitamine B 12	µg	0,17	0,17
Vitamine A	µg	684	684
Vitamine D	µg	60	60
Vitamine E	mg	2,32	2,32
Vitamine K	µg	7,0	7,0
Tryptophane	g	0,012	0,012
Thréonine	g	0,038	0,038
Isoleucine	g	0,051	0,051
Leucine	g	0,083	0,083
Lysine	g	0,067	0,067
Méthionine	g	0,021	0,021
Cystéine	g	0,008	0,008
Phénylalanine	g	0,041	0,041
Tyrosine	g	0,041	0,041
Valine	g	0,057	0,057
Arginine	g	0,031	0,031
Histidine	g	0,023	0,023
Alanine	g	0,029	0,029
Acide aspartique	g	0,064	0,064
Acide glutamique	g	0,178	0,178
Glycine	g	0,018	0,018
Proline	g	0,082	0,082
Serine	g	0,046	0,046

## 2-2- Structure du beurre

La matière grasse existe dans le beurre sous deux formes ; matière grasse globulaire et libre. Une partie de la matière grasse sous ces deux formes est à l'état cristallisé et un peu à l'état liquide. La dureté et la consistance du beurre dépendent donc de la proportion et de la composition de ces deux formes de matière grasse. L'incorporation d'air dans le beurre forme des crevasses internes et peut à un certain degré contribuer à la consistance du beurre. En outre, il contient jusqu'à environ 4% (v/v) d'air dissous (Walstra *et al.*, 1999).

Le globule gras joue un rôle prépondérant dans la fabrication du beurre, et les caractéristiques physiques et chimiques de la matière grasse du lait varient avec la race, la période de lactation et l'alimentation. Ainsi, en été, la proportion des acides gras insaturés, plus mous, est plus grande qu'en hiver. Les agglutinines peuvent s'associer à la couche périphérique des globules gras individuels et favoriser leur juxtaposition sous forme de grappes de plusieurs centaines d'unités, facilitant d'autant l'ascension de la matière grasse. De plus, certains globules ont une membrane plus ou moins enveloppante et forment ainsi différents types d'agglomérations de globules gras (Paul, 2010). Le diamètre moyen des globules de la matière grasse dans le beurre est d'environ 3,5 à 4,0 $\mu\text{m}$ . Ils sont sphériques, entourés d'une couche biréfringente, constituée par les molécules des matières grasses à point de fusion le plus élevé, orientée radialement par rapport à la surface du globule. La matière grasse libre ne contient ordinairement pas de cristaux de matière grasse visibles au microscope. Les gouttelettes de la phase aqueuse ont un diamètre d'environ 1 à 30 $\mu\text{m}$ . Elles sont généralement sphériques, ne contiennent pas de globules de matière grasse, et n'ont jamais de couche biréfringente (Mohr et Baur, 1949).

La figure 3 et le tableau 5 donnent une impression générale sur la microstructure du beurre.



**Figure 3** : Microstructure du beurre a temperature ambiante (Walstra *et al.*, 1999)

**Tableau 5** : Éléments structuraux du beurre (Walstra *et al.*, 1999)

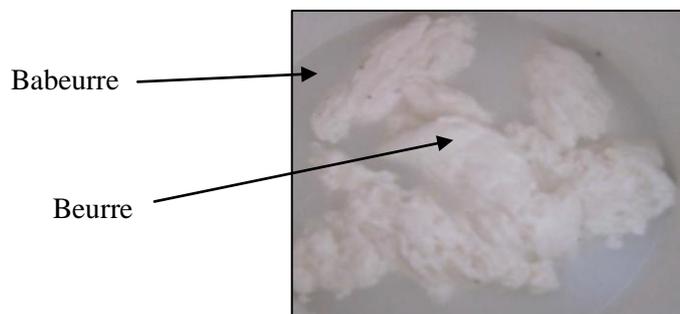
Élément de structure	Concentration approximative (mL <sup>-1</sup> )	Pourcentage dans le beurre	Dimension (µm)
Globules gras <sup>a</sup>	10 <sup>10</sup>	10-50 <sup>c</sup>	2-8
Cristaux de matière grasse <sup>b</sup>	10 <sup>13</sup>	10-40 <sup>d</sup>	0,01 - 2
Gouttelettes d'eau	10 <sup>10</sup>	15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

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

### 2-3- Fabrication traditionnelle du beurre en Algérie

Il est reconnu depuis l'antiquité que les femmes des nomades ont joué un rôle très important dans la transformation du lait en produits dérivés traditionnels, notamment le beurre (Le Quellec *et al.*, 2006).

Le beurre frais est obtenu après barattage du *Rayeb*. Ce dernier est occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50°C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre. Les globules gras apparaissant en surface, à la suite du barattage, sont séparés par une cuillère perforée. Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau (figure 4) (Benkerroum et Tamine, 2004). Une caractérisation physicochimique d'un beurre algérien est donnée par le tableau 6.

**Figure 4** : Photo du beurre et babeurre (Makhloufi, 2010)**Tableau 6**: Caractéristiques physicochimiques de beurre traditionnel algérien (Lahsaoui, 2009)

Paramètres	Unité	Valeurs moyennes
Humidité	%	14,0
NaCl	%	1,5
Lactose	g/100g	1,2
Matière grasse	g/100g	81,0
Protéines	g/100g	3,2
Lipides insaponifiables	g/100g	0,3
Indice d'acide	mg KOH/g lipide	52,0
Indice peroxyde	mg KOH/g lipide	3,7

## **2-4- Procédé de fabrication technologique du beurre standard**

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

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

Le diagramme général de la fabrication industrielle du beurre à 80% en masse de matière grasse par agglomération est représenté dans la figure 5 (Boutonnier, 2007).

### **2-4-1- Préparation de la crème**

Certaines opérations sont identiques à celle présentées dans le cadre des crèmes de consommations (1-3), à savoir la standardisation, l'homogénéisation, la pasteurisation et la désaération/désodorisation,

La crème est standardisée entre 35 et 40% de MG en fabrication traditionnelle et entre 40 et 45% de MG en fabrication continue. Dans le cas des crèmes acides, on procède à une désacidification pour ramener l'acidité du non gras entre 15 et 20°D soit par lavage à l'eau suivi d'un écrémage afin d'éliminer la phase non grasse altérée, soit par addition de neutralisants (Jeantet *et al.*, 2008).

### **2-4-2- Maturation de la crème**

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

#### **2-4-2-1- Maturation physique**

Les propriétés rhéologiques des beurres dépendent fortement des propriétés thermiques et structurales des triglycérides constituant la matière grasse. La maturation physique qui vise à solidifier une partie des triglycérides est une opération incontournable pour obtenir un beurre de qualité optimale et constante malgré le degré de variabilité de la qualité de la crème. L'application d'un cycle thermique adapté permet de diriger la cristallisation des triglycérides et de corriger ainsi les effets liés à la saison.

Par conséquent, le régime de refroidissement pratiqué lors de la maturation physique influence, à la fois, la quantité de matière grasse solidifiée par cristallisation, ainsi que le degré d'agglomération des globules gras. Ce dernier facteur est fondamental car il conditionne

l'aptitude de la crème au barattage. Les globules gras sont dans un état métastable de grande fragilité au niveau de la crème pendant une dizaine de minutes après le refroidissement. Aussi, tout stress mécanique, pendant cette phase, entraîne une libération de matière grasse liquide qui agglomère les globules gras. La crème étant plus visqueuse, l'agitation doit être plus longue et plus énergique (Boutonnier, 2007). Deux paramètres interviennent au cours du refroidissement de la crème :

- **Température de refroidissement**

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

- **Vitesse de refroidissement**

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

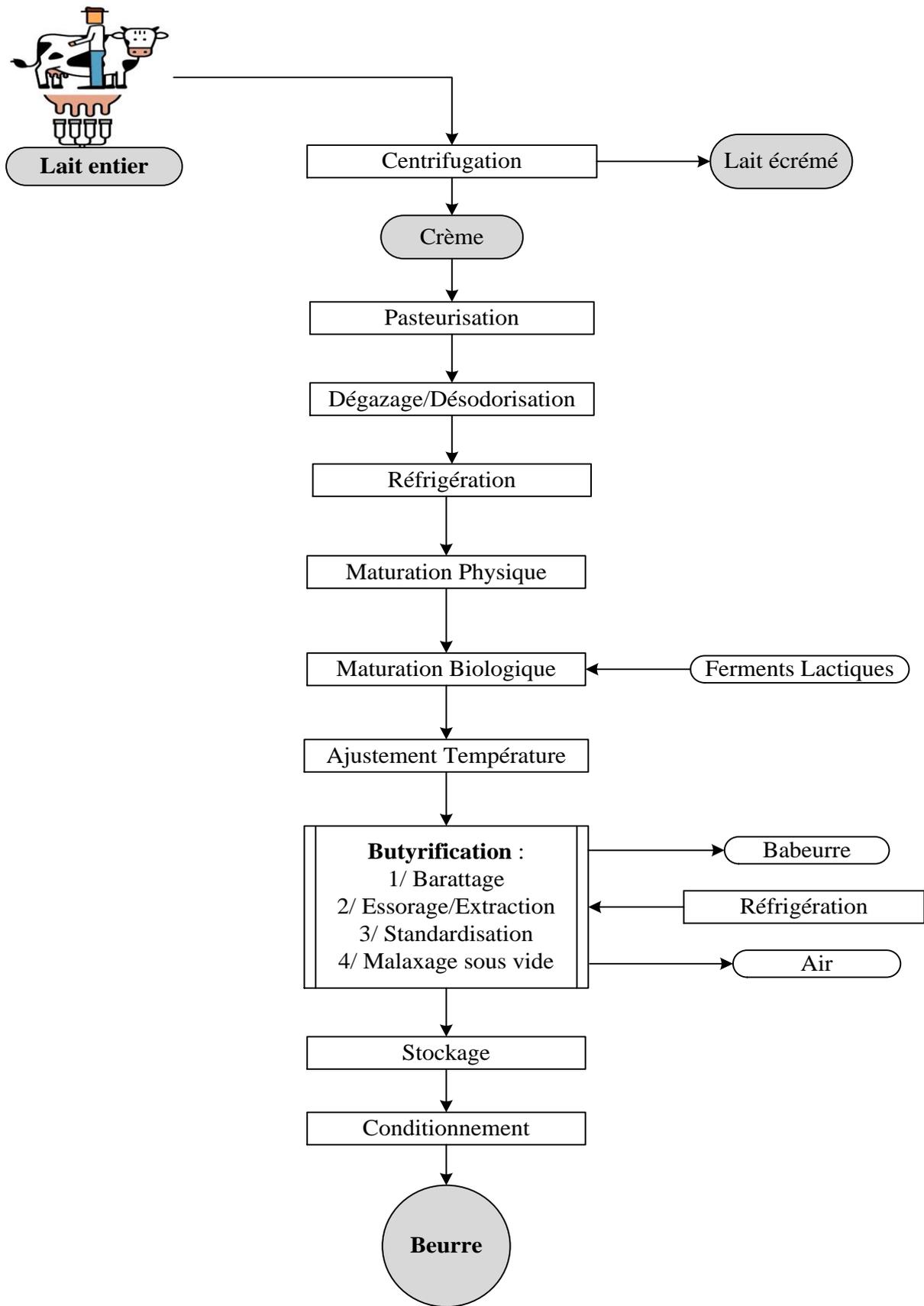
#### **2-4-2-2- Maturation biologique**

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

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

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

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



**Figures 5:** Étapes de fabrication industrielle du beurre à 80% en masse de matière grasse par agglomération (Boutonnier, 2007)

### **2-4-3- Transformation de la crème en beurre**

#### **2-4-3-1- Inversion de phase**

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

- **Procédé par concentration**

Le principe de fabrication par concentration fait appel à une concentration préalable de la crème, obtenue par écrémage centrifuge, à une teneur en matière grasse voisine de celle du beurre. La crème concentrée étant instable en raison du rapprochement des globules gras et de leur déformation, l'inversion de phase s'effectue par le refroidissement à l'entrée du butyrateur et par le frottement mécanique des vis à propulsion ou des agitateurs. On termine la fabrication par un barattage et un malaxage en continu (Angers, 2010).

- **Procédé par émulsion ou combinaison**

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

- **Procédé par agglomération**

C'est le plus répandu dans le monde. Il s'est imposé grâce à sa maîtrise de la qualité du produit fini, sa souplesse d'utilisation et surtout par la productivité des appareils qu'il met en œuvre.

Sous l'effet de l'agitation de la crème et de la formation de mousse fine par des palettes tournant à grande vitesse (2000tr/min), il se forme très rapidement, en deçà de trois secondes, une agglomération des globules de gras en grains de beurre qui sont transportés vers une section de malaxage, le babeurre étant expulsé de façon continue. La crème traitée est de concentration normale, de 40 à 50% de matière grasse (Angers, 2010).

### **2-4-3-2- Lavage, salage et malaxage**

#### **▪ Lavage**

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

#### **▪ Salage**

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

#### **▪ Malaxage**

Le malaxage est le traitement visant à disperser uniformément l'air, l'eau, le sel et composés aromatiques dans la masse butyrique, à poursuivre l'expulsion du gras liquide et des cristaux dans les globules gras endommagés par l'opération de barattage, et à mélanger intimement les grains de beurre pour obtenir un produit fini de consistance et de texture désirables. Il permet également la soudure des grains de beurre et la pulvérisation de la phase aqueuse en fines gouttelettes de diamètre moyen inférieur à 5µm au sein de la matière grasse. Lorsqu'il est correctement réalisé, il permet d'obtenir de l'ordre de 10<sup>10</sup> gouttelettes de non gras par gramme de beurre. De façon générale, il recommande de poursuivre le malaxage jusqu'à l'absence de gouttelettes d'eau visibles à l'intérieur du beurre et jusqu'à l'obtention d'une consistance ferme, d'une texture cireuse et d'une apparence lustrée (Angers, 2010).

### **2-4-4- Transport et stockage intermédiaire du beurre**

Le beurre est ensuite stocké de manière temporaire avant le conditionnement dans des tanks silos qui sont directement reliés au butyrateur (Boutonnier, 2007).

### **2-4-5-Conditionnement du beurre**

L'emballage du beurre sert à préserver le produit des détériorations chimiques et microbiologiques et à le protéger des chocs mécaniques (Angers, 2010). Les matériaux utilisés sont les papiers, l'aluminium et certains plastiques thermoformés : ils doivent présenter une bonne étanchéité, une protection contre la lumière, l'oxygène et les odeurs de l'environnement (Jeantet *et al.*, 2008).

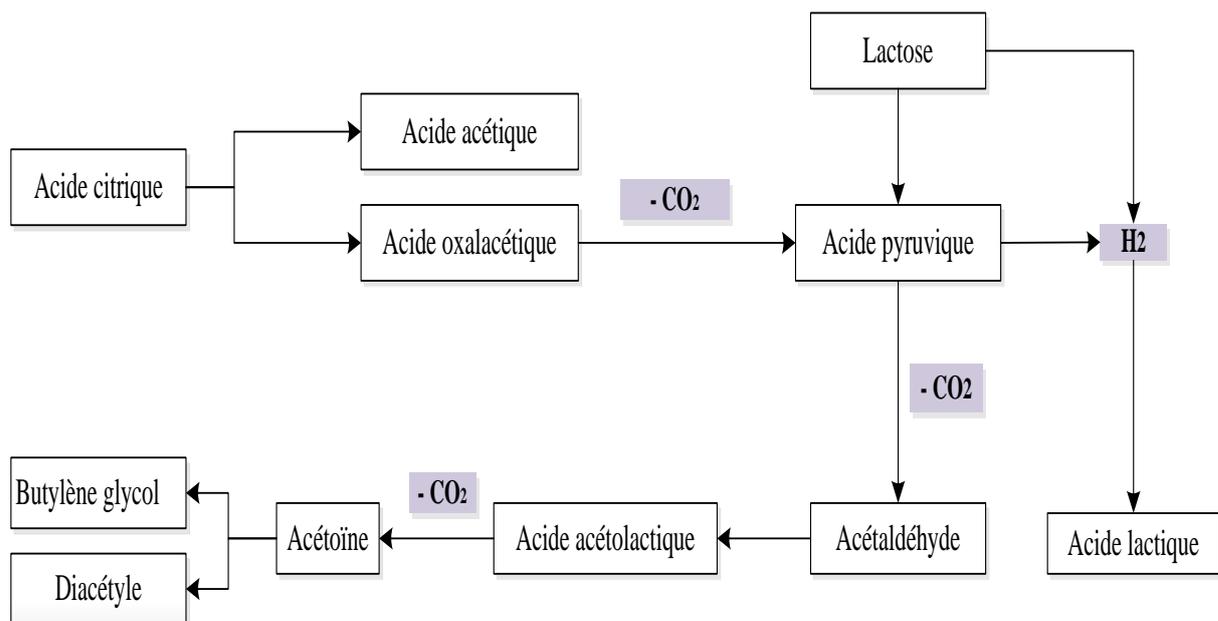
Le conditionnement du beurre est variable selon les exigences du commerce (Angers, 2010):

- Les grands formats, en contenants cubiques, servent pour le commerce de gros et pour le stockage de longue durée ;

- Les petits formats destinés au marché de détail se présentent généralement sous forme de pain.

## 2-5- Bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du beurre

La substance aromatique recherchée essentiellement dans le beurre est le diacétyl : il est le fruit de l'oxydation de l'acétoïne produit par *Leuconostoc cremoris* et *Leuconostoc dextranicum* à partir du lactose et de l'acide citrique. Ces espèces produisent leur effet aromatisant seulement en milieu acide : c'est pourquoi on les utilise en mélange avec des ferments de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* ou *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*. Il existe cependant des souches de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* (biovar, *diacetylactis*) capable de former à la fois de l'acide lactique et des substances aromatisantes. La fermentation de la crème doit permettre une production suffisante et la conservation du diacétyl (Angers, 2010). La figure 6 présente le mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veissyre, 1975).



**Figure 6** : Mécanisme biochimique de la formation de l'arôme du beurre à partir du lactose et de l'acide citrique (Veissyre, 1975)

## 2-6- Types du beurre

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

### 2-6-1- Beurre fermier

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

### **2-6-2- Beurre cru ou de crème crue**

Le lait utilisé n'a subi aucun traitement thermique hormis la réfrigération après la traite. La crème barattée est non pasteurisée et reste sous forme crue. Ce type de beurre est aussi de plus en plus rare de par ses critères microbiologiques moins rigoureux en ce qui concerne les germes non pathogènes (Fredot, 2005).

### **2-6-3- Beurres concentrés**

Il existe deux types :

- Beurre concentré destiné à la consommation directe : il est pasteurisé, déshydraté et contient au moins 96% de matières grasses d'origine laitière. Ce produit est commercialisé sous le nom « beurre de cuisine » et est plus stable au cours du stockage car quasiment toute l'eau et la matière non grasse ont été éliminées.

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

### **2-6-4- Beurre allégé**

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

### **2-6-5- Demi-beurre**

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

### **2-6-6- Spécialités laitières à tartiner**

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

### **2-6-7- Beurre fin**

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

### **2-6-8- Beurre extra**

Il doit être fabriqué 72 heures au plus tard du lait ou de la crème. La pasteurisation et le barattage de la crème doivent se faire dans les 48 heures qui suivent l'écémage ; la crème ne

devant pas avoir subi de désacidification, ni d'assainissement sauf la pasteurisation, ni avoir été congelée ou surgelée (Vierling, 2003).

#### **2-6-9- Pâtes à tartiner à teneurs en lipides réduites**

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

---

# **Matériel & Méthodes**

---

## 1- Lieu d'étude

Le travail expérimental est réalisé au niveau du laboratoire central de la qualité dans l'entreprise HODNA-Lait, spécialisée dans la fabrication de lait et des produits laitiers. Créée en 1999, HODNA-Lait est une société à responsabilité limitée (SARL), sise dans la zone industrielle du chef-lieu de la wilaya de M'sila, elle s'étale sur une superficie de six hectares. Elle comprend 6 ateliers de production (tableau 7) qui fonctionnent en régime continu (trois équipes × 8 heures).

**Tableau 7** : Présentation des ateliers et leurs capacités de production dans l'entreprise HODNA-Lait

Atelier	Création	Type de produit	Capacité (litres/jour)	Effectif (personnes)
01	Octobre 1999	Lait pasteurisé, l'ben et raib en coussin plastique	220000	80
02	Septembre 2004	Produits lacto-fermentés et desserts lactés	200000	240
03	Février 2010	Produits lacto-fermentés	95000	60
		Fromage frais		
		Produits desserts lactés		
04	Août 2010	Yaourt à boire aromatisé et fruité	200000	30
		L'ben		
		Raib		
05	Avril 2013	Lait UHT en TetrabriK de 01 litre	200000	30
		Beurre en carton de 25kg		
		Beurre en barquette de 250gr		
06	Janvier 2014	Crème dessert	70000	30
		Flan au caramel de nappage		

## 2- Echantillonnage

Un mélange de deux litres du lait cru a été collecté de trois fermes situées dans la commune d'El Eulma (wilaya de Sétif) en avril 2015.

Le prélèvement des échantillons est effectué après la traite mécanique directement à partir des cuves de stockage dans des flacons en verre stériles. Ils sont transportés à 4°C et à l'obscurité jusqu'au laboratoire où les analyses sont effectuées.

## 3- Analyses et contrôles sur le lait cru

Cette étude comprend les étapes décrites dans la figure 7. Les résultats obtenus représentent la moyenne de deux répétitions successives.

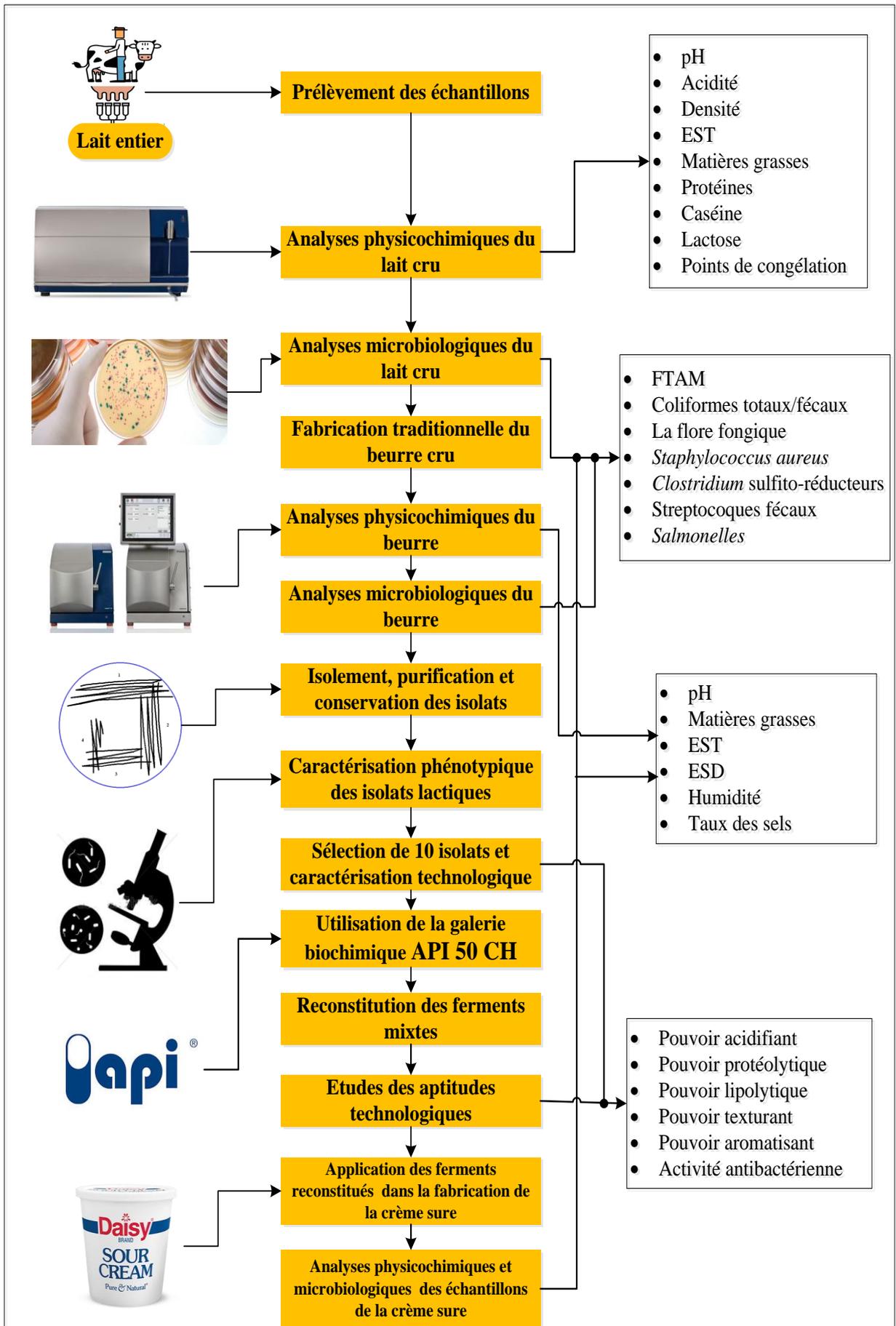


Figure 7 : Principaux étapes de la démarche générale

### 3- 1-Analyse physicochimique

L'analyse physicochimique du lait cru est effectuée avec l'analyseur infrarouge **MilkoScan™ FT2– FOSS** dont le principe de fonctionnement est décrit en annexe 6. Elle comprend les paramètres suivants :

Mesure du pH qui donne la concentration des ions H<sup>+</sup> en solution de lait, déterminations de la matière grasse composée, principalement, de triglycérides et de phospholipides, du taux de protéines, du lactose (l'hydrate de carbone le plus important du lait), de l'extrait sec total ou le taux de matière sèche, du point de congélation, de la densité ou la masse volumique, de l'acidité dornic, et du taux de caséine (représente près de 80% de toutes les protéines du lait).

#### - Recherche d'antibiotiques

La présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers fermentés ralentit ou inhibe la croissance des ferments lactiques qui aura un effet sur l'acidification et le caillage du lait et résultera en de graves problèmes de texture.

L'appareil **BetaStar® Combo 25 Neogen** a servi à la détection des antibiotiques. Son mode opératoire est détaillé en annexe 6. Il détecte les β-lactamines (pénicillines et céphalosporines) et les tétracyclines (oxytétracycline, chlortétracycline et doxycycline).

### 3-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination

On entend par «microorganisme de contamination» tout microorganisme autre que ceux responsables de fermentations spécifiques du type du lait fermenté considéré (JORA n° 32 du 23 mai 2004. Arrêté du 27 mars 2004).

#### 3-2-1- Préparation des dilutions

Une série de dilutions est réalisée à partir du lait cru que l'on aura homogénéisé par au moins 10 secondes d'agitation au vortex. La première dilution est préparée de façon classique en prélevant 1mL du lait cru dans 9mL d'eau physiologique stérile (Guiraud, 2003). Il est souvent nécessaire d'aller jusqu'à la dilution 10<sup>-7</sup>. Ensemencement de deux boîtes de Pétri par dilution et par milieu de culture.

La composition des milieux de culture utilisée est en annexe 1.

En tenant compte que les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies. Le nombre de microorganismes par mL est calculé à l'aide de la formule suivante (Guiraud, 2003) :

$$N = \frac{\sum C}{(n1+0,1 n2)d}$$

**C** : nombre de colonies comptées par boîte

**n1** : nombre de boîtes comptées dans la première dilution

**n2** : nombre de boîtes comptées dans la deuxième dilution

**d** : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus

### 3-2-2- Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de cette flore reflète la qualité microbiologique générale du lait, et peut donner une indication sur l'état de sa fraîcheur ou de son altération.

1mL des dilutions ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-7}$ ) estensemencé dans la masse d'une gélose *Plate Count Agar* (PCA). Les cultures sont incubées à 30°C pendant 72 heures. Le résultat s'exprime en unités formant colonies (UFC)/mL (Lebres *et al.*, 2002).

### 3-2-3- Dénombrement des coliformes

Leur présence dans l'échantillon est une indication d'une contamination fécale récente (Guiraud, 2003).

Le dénombrement est effectué par ensemencement dans la masse des dilutions ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-7}$ ) d'une gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL). L'incubation est faite pendant 24 à 48 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C durant 24 à 48 heures pour les coliformes fécaux. Les coliformes totaux et fécaux forment sur ce milieu des colonies rouges foncées, d'un diamètre de moins de 0,5mm et ayant une forme ronde ou lenticulaire (Lebres *et al.*, 2002).

### 3-2-4- Dénombrement de la flore fongique

La flore fongique comprend les levures et les moisissures. Son dénombrement est réalisé par ensemencement dans la masse de 1mL de lait ou de ses dilutions ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-4}$ ) de la gélose à l'oxytétracycline-glucose (OGA), avec ajout de 20mL/L d'oxytétracycline à 5mg/mL. Les boîtes sont incubées pendant 5 jours à 25°C. La première lecture est faite au bout de 3 jours et le nombre des colonies est noté. Cette double numérotation est indispensable lorsque les moisissures se développent rapidement car elles risquent d'envahir le milieu (Guiraud, 2003).

### 3-2-5- Recherche de *Staphylococcus aureus*

Elle est faite sur une gélose Baird Parker (BP). A 225mL de cette gélose en surfusion, 15mL d'une solution de jaune d'œuf au téllurite de potassium est ajoutée. 0,1mL de la solution mère et des premières dilutions ( $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ ) estensemencé en surface. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C, les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sont noires, brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui peut être translucide.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonies de *Staphylococcus aureus*, une recherche de la catalase est effectuée sur 2 à 3 colonies par boîte de Pétri (Lebres *et al.*, 2002).

### 3-2-6- Recherche et numération des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Le dénombrement est réalisé en anaérobiose et repose sur l'appréciation de la réduction du sulfite en H<sub>2</sub>S dont la mise en évidence est obtenue par addition au milieu d'alun de fer.

A 20mL de gélose viande-foie (VF) régénérée et ramenée à 50°C, on ajoute 0,5mL d'une solution aqueuse de sulfite de Na à 5% (p/v) (stérilisé par filtration) et 0,2mL d'une solution aqueuse d'alun de fer à 5% (p/v) (stérilisé par filtration).

1mL de la solution mère et des dilutions 10<sup>-1</sup> et 10<sup>-2</sup> est introduit dans le tube en surfusion. Refroidissement et incubation à 37°C pendant 24 heures. Les colonies des bactéries sulfito-réductrices sont noires ; leur taille varie selon l'espèce (Lebres *et al.*, 2002).

### 3-2-7- Dénombrement des Streptocoques fécaux

Les streptocoques du groupe D ou streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (Nombre le plus probable) (Lebres *et al.*, 2002).

Test présomptif : le milieu à l'azide de sodium (Rothe) estensemencé en triple, à partir de trois dilutions successives (10<sup>-1</sup> à 10<sup>-3</sup>). Après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C, les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

Test confirmatif : Chaque tube positif du test de présomption a fait l'objet d'une confirmation sur milieu EVA Litsky par repiquage à l'aide d'une öse. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les tubes présentant à la fois un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond sont considérés positifs. Le dénombrement est fait par usage de la table de McGrady à trois tubes.

### 3-2-8- Recherche de *Salmonella*

La recherche des salmonelles a été effectuée selon le protocole décrit par Lebres *et al.* (2002) :

Pour le Pré-enrichissement, ajouter 25mL du lait à 225mL d'une eau peptonée tamponnée. Incubation à 37°C pendant 18 heures.

L'enrichissement est réalisé à partir du milieu de pré-enrichissement, 10mL est transféré dans deux flacons contenant 100mL du bouillon au sélénite et à la cystéine, l'incubation se fait à 37°C pour le premier flacon et à 42°C pour le deuxième flacon pendant 24 à 48 heures.

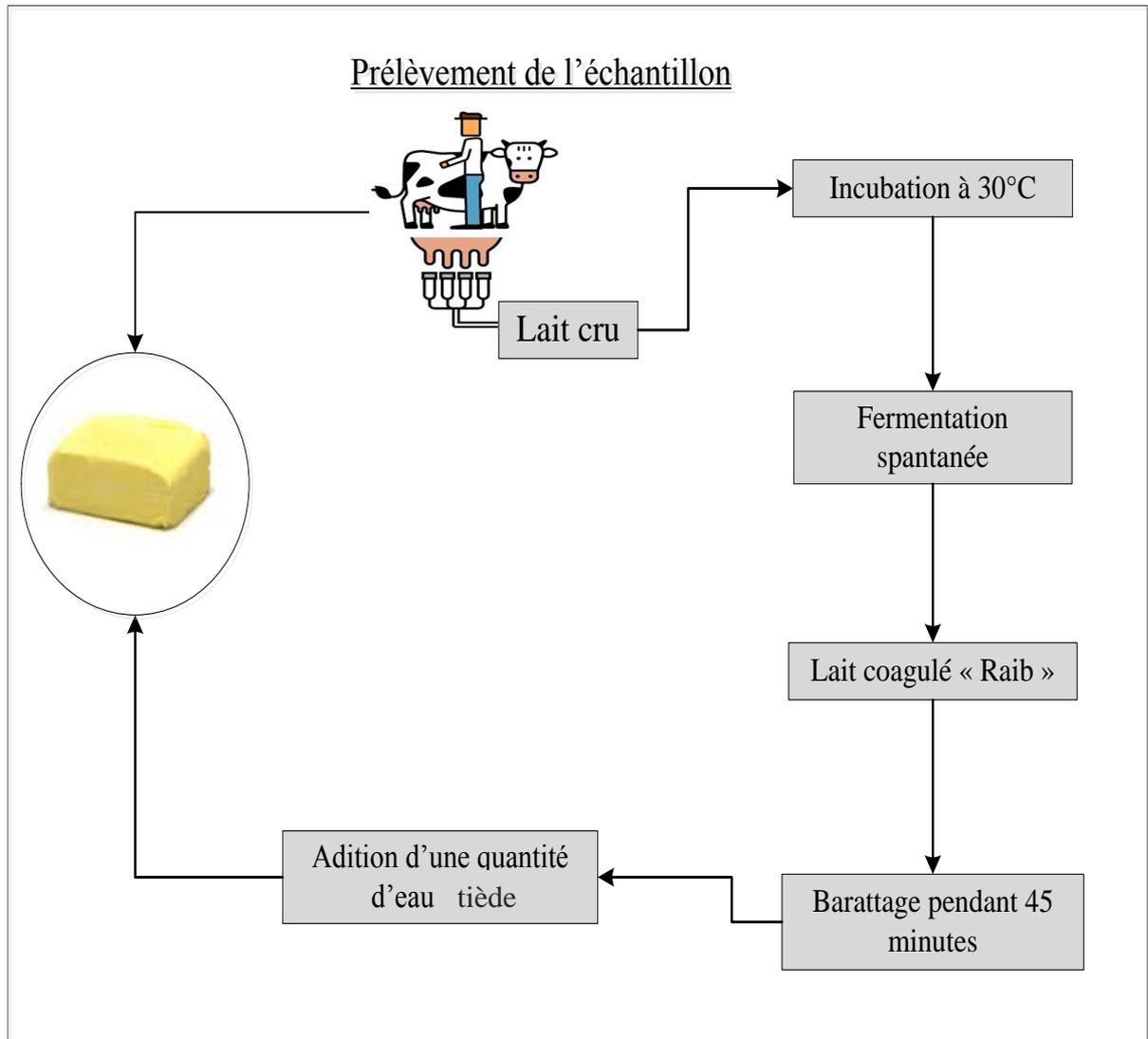
L'isolement est effectué par ensemencement d'une öse du milieu d'enrichissement à la surface de la gélose biliée lactosée au vert brillant et au rouge de phénol. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Les salmonelles forment des colonies roses entourées d'une zone rouge.

#### 4- Fabrication traditionnelle du beurre cru et analyses physicochimique et microbiologique

##### 4-1- Fabrication du beurre

Le lait cru est incubé à 30°C pour le déclenchement de la fermentation spontanée. Cette dernière aboutit à la formation d'un lait caillé appelé (*Rayeb*) qui est soumis à une agitation pendant 45 minutes. Une quantité d'eau tiède est ajoutée afin de favoriser la séparation des grains de beurre (figure 8).



**Figure 8:** Schéma simplifié de la fabrication traditionnelle du beurre cru au niveau du laboratoire

##### 4- 2- Analyse physicochimique du beurre

Une boîte de Pétri est remplie de beurre puis introduite dans l'analyseur **Food Scan™** - **FOSS** (annexe 6). Cette analyse comprend les mesures du pH, du taux de la matière grasse, de l'humidité, de l'extrait sec total, de l'extrait sec dégraissé et du taux des sels.

### **4-3- Analyse microbiologique du beurre**

#### **4-3-1- Préparation de l'échantillon**

2,5g de l'échantillon sont placés dans un tube à essai avec 2,1mL d'eau physiologique stérile puis incubé à 45°C jusqu'à fusion. Après homogénéisation vigoureuse, le mélange est conservé au bain-Marie à 45°C jusqu'à séparation des deux phases. 1mL de la phase aqueuse prélevé à la pipette stérile servira à la préparation des dilutions pour l'analyse microbiologique (Guiraud, 2003).

#### **4-3-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination**

La recherche et le dénombrement des germes de contamination du beurre est identique à celle de la section 3-2. Les dilutions sont généralement effectués jusqu'à  $10^{-7}$ .

### **4-4- Mise en place d'une collection de flore lactique**

#### **4-4-1- Isolement et purification des bactéries lactiques**

L'isolement des bacilles lactiques est réalisé par étalement de 0,1mL des dilutions  $10^{-4}$  à  $10^{-8}$  à la surface de la gélose MRS (Man, Rogosa, et Sharpe) et celui des coques lactiques sur la gélose M17 (Gélose de Terzaghi). L'incubation des boîtes de Pétri est faite à 30°C pendant 48 à 72 heures (Guiraud, 2003). De chaque boîte, une dizaine de colonies apparemment caractéristiques du groupe est prélevée puis purifiée par repiquage successifs.

#### **4-4-2- Caractérisation préliminaire des isolats lactiques**

##### **4-4-2-1- Étude culturelle et morphologique**

L'examen macroscopique des colonies (forme, taille, couleur, etc.) est fait à l'aide d'une loupe binoculaire.

La forme, le groupement cellulaire et le Gram des souches sont déterminés par la technique de coloration différentielle décrite par Gram (1884) à l'aide d'un microscope photonique (modèle OPTIKA). La mobilité cellulaire est déterminée par une observation à l'état frais selon le protocole décrit par Guiraud (2003) (annexe 4).

##### **4-4-2-2- Test de la catalase**

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

##### **4-4-3- Conservation des isolats**

La conservation des isolats à court terme est faite sur gélose inclinée à 4°C. A long terme, des cultures pures sont placées en tubes Eppendorfs contenant les bouillons MRS (bacilles) ou

M17 (cocci) additionnés de 30% (v/v) de glycérol stérile puis conservés à -20°C (Idoui *et al.*, 2009).

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

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

#### **4-5- Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques**

Trente (30) isolats à Gram positif (cocci ou bacilles) et catalase négative sont retenus comme étant des bactéries lactiques. Leur identification est faite conformément au protocole de Carr *et al.* (2002) (figure 9), et usage des caractères biochimiques et physiologiques différentiels de Von Wright et Axelsson (2012) (tableau 1).

##### **4-5-1- Test des températures de croissance**

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

##### **4-5-2- Croissance en présence de NaCl**

La méthode consiste à ensemencer des bouillons hypersalés à concentrations finales en NaCl de 6,5% et 18% (p/v) par des cultures jeunes. Après incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Sherman, 1937 ; Carr *et al.*, 2002 ; Axelsson, 2012).

##### **4-5-3- Croissance à pH 4,4 et 9,6**

Des cultures jeunes sont ensemencées sur bouillons hyperalcalin (pH 9,6) et hyperacide (pH 4,4). Après une incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures, l'aptitude à croître sur ces milieux se traduit par l'apparition d'un trouble.

La croissance est appréciée par examen des milieux de culture et par comparaison avec un tube de milieu de culture non ensemencé incubé à la même température (Carr *et al.*, 2002 ; Mathara *et al.*, 2004).

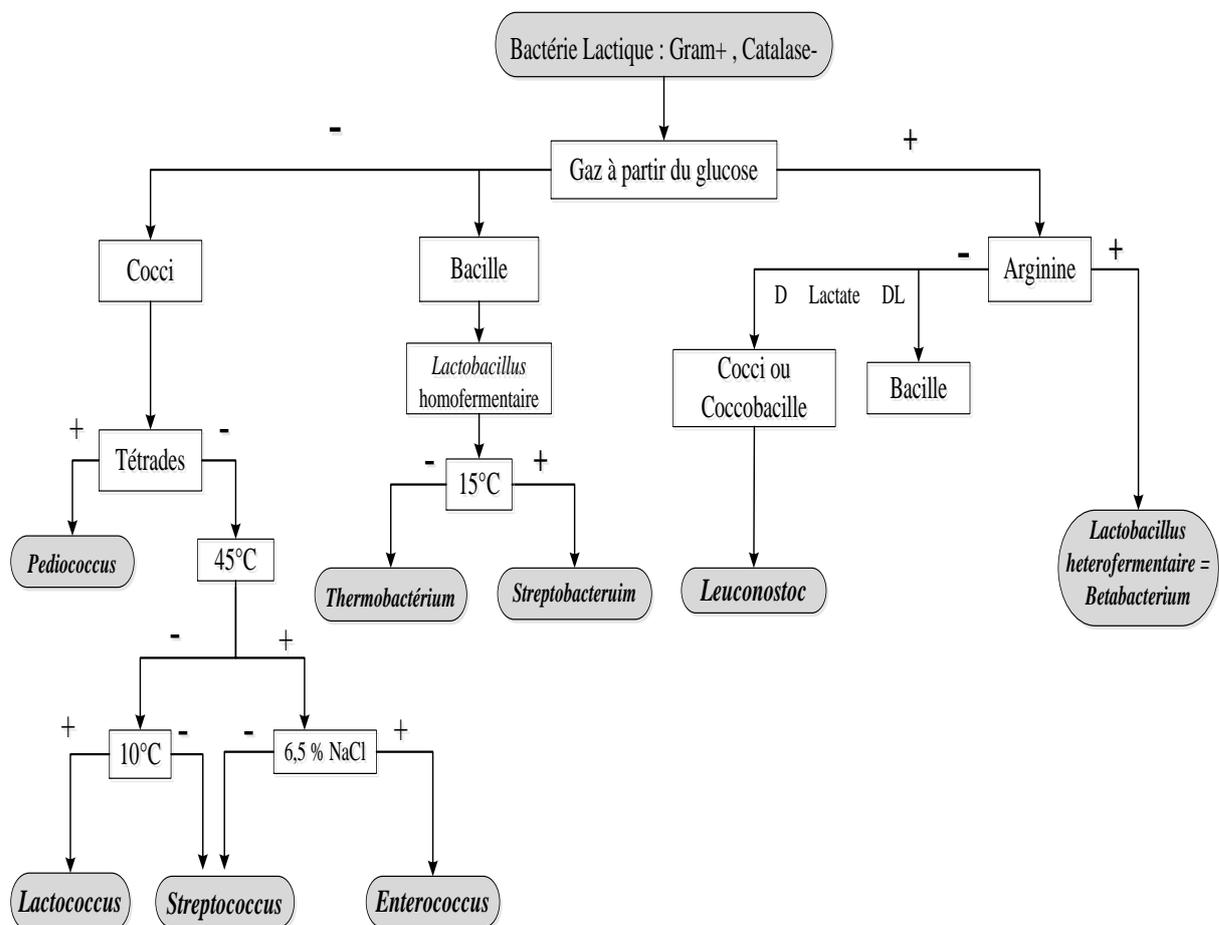
#### 4-5-4- Recherche de type fermentaire

Ce test permet de discriminer les isolats lactiques homofermentaires des hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO<sub>2</sub>) à partir du glucose. La culture des isolats est faite sur bouillon MRS modifié par suppression de citrate d'ammonium et d'extrait de viande et supplémenté de glucose et de la cloche de Durham. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, la production de CO<sub>2</sub> se traduit par une présence de gaz dans la cloche (Holzapfel et Gerber, 1983 ; Müller, 1990 ; Carr *et al.*, 2002).

#### 4-5-5- Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)

Cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'arginine. Pour réaliser ce test, chaque souche est ensemencée dans un tube de bouillon Möeller avec arginine et sur un autre sans arginine (tube contrôle). Les deux tubes sont recouverts avec de l'huile de vaseline stérile. L'incubation est faite à 30°C pendant au moins 4 jours.

Les souches possédant l'ADH vont acidifier le milieu en fermentant le glucose (virage au jaune). Cette acidification favorise l'activité de l'arginine dihydrolase qui va dégrader l'arginine et libérer l'ammoniac d'où virage de la couleur au violet (Gelman *et al.*, 2000).



**Figure 9:** Clé d'identification des bactéries à Gram positif (Carr *et al.*, 2002)

#### 4-6- Utilisation de la galerie biochimique API 50 CH

Une dizaine de souches a été sélectionnée parmi la trentaine (section 4-7-1) pour une caractérisation biochimique à l'aide des API 50 CH (bioMérieux, France). C'est un système standardisé associant 49 tests biochimiques permettant l'étude du métabolisme des hydrates de carbone des microorganismes.

API 50 CH est utilisé en combinaison avec API 50 CHL Medium pour l'identification des *Lactobacillus* et genres apparentés (annexe 6).

L'ensemencement de la galerie a été réalisée selon les instructions du fabricant, une première lecture est faite après 24 heures et la seconde après 48 heures.

#### 4-7- Caractérisation technologique des souches lactiques isolées

Les principales fonctions d'une souche dite « performante » étant son pouvoir acidifiant, son activité protéolytique et sa stabilité en culture mixte (Cogan *et al.*, 1997).

##### 4-7-1-Pouvoir acidifiant

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

En se basant sur la vitesse d'acidification, dix souches ont été retenues pour une étude technologique.

La vitesse d'acidification est évaluée par le calcul de  $\Delta\text{pH}$ , en inoculant (1%, v/v) de culture bactérienne de 18 heures dans le lait écrémé à 10% (p/v) et incubé à 30°C. Le pH est mesuré après 6 heures d'incubation (Bradeley *et al.*, 1992).

$$\Delta \text{pH} = \text{pH}_i - \text{pH}_n$$

pH<sub>i</sub> : pH initial du lait écrémé

pH<sub>n</sub> : pH obtenu après 6 heures

L'évolution de l'acidité dans le milieu en fonction du temps a été effectuée en dosant la quantité d'acide lactique produite dans le lait par titrimétrie. 2 à 5 gouttes d'un indicateur coloré (phénophtaléine) sont ajoutées à 10mL d'échantillon du lait à analyser. Le titrage est réalisé avec une solution de soude (N/9) jusqu'au virage de la couleur blanche au rose pâle. A ce moment, le volume de la soude écoulé est noté et les résultats sont exprimés en degrés Dornic (°D). La mesure de pH est faite par un pH-mètre (Guiraud, 2003).

$$(\text{D}^\circ) : \text{Acidité} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

V<sub>NaOH</sub> : volume de soude écoulé pour titrer 10mL de lait

1°D = 0,1 g/L de lactate

#### **4-7-2-Pouvoir protéolytique**

L'évaluation qualitative de l'activité protéolytique des souches testées a été réalisée sur gélose *Plate Count Agar* (PCA) additionnée du lait écrémé à 10% (p/v). Des disques de papier Wattman stérile sont déposés à la surface de cette gélose, puis chaque disque reçoit 10µL une culture jeune et incubés à 30°C pendant 5 jours. L'activité protéolytique est reconnaissable par la présence d'un halo clair autour des colonies puis les diamètres des zones translucides de protéolyse sont mesurés (Thapa *et al.*, 2006).

#### **4-7-3-Pouvoir lipolytique**

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

#### **4-7-4-Pouvoir texturant**

Des cultures jeunes sont ensemencées en stries sur une gélose hypersaccharosée déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes (Leveau *et al.*, 1991).

#### **4-7-5- Pouvoir aromatisant**

La capacité des souches lactiques à produire des composés aromatisants au cours de processus de fermentation peut être mise en évidence sur le milieu de culture Clark et Lubs. Les souches sont cultivées sur ce milieu ; après 24 à 48 heures d'incubation à 30°C, 2mL de cette culture sont transvasés dans un tube à hémolyse stérile puis 0,5mL de KOH à 40% (p/v) (réactif VP1) et 0,5mL d'alpha-naphtol (v/p) (réactif VP2) sont ajoutés. La présence d'acétoïne se traduit par une coloration rose (Zourari *et al.*, 1992).

#### **4-7-6- Pouvoir antibactérien par la méthode de contact directe**

Chaque isolat est ensemencé par touche à la surface de la gélose MRS. Après 18 heures d'incubation à 30°C, 7mL de milieu Mueller-Hinton (MH) semi-solide (à 0,7% d'agar- agar) inoculé par 100µL d'une culture jeune de 24 heures des souches pathogènes tests, est versé par-dessus la première gélose conformément à la méthode de la double couche.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 24 à 72 heures. La formation d'un halo autour des souches ensemencées par touches indiquera une inhibition de la souche pathogène test (Hernandez *et al.*, 2005).

Les souches pathogènes tests utilisés sont : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia Coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 10876) et *Micrococcus luteus* (ATCC 4698).

#### **4-8- Etude des interactions entre les souches lactiques sélectionnées**

Les interactions sont généralement classées en deux groupes : antagonisme (interaction négative) et stimulation (interaction positive) (Grattepanche, 2005). Le choix des ferments mixtes repose sur l'étude du type d'interactions qui existe entre eux.

L'interaction entre les isolats sélectionnés est étudiée par la méthode décrite par Tadesse *et al.* (2004). Une des souches retenues estensemencée à la surface de la gélose MRS puis des disques de papier Wattman stériles sont imbibés par les autres souches lactiques et placés à la surface de la gélose. Les boîtes sont laissées sécher sur la paille pendant 30 minutes. L'antagonisme se traduit par la présence d'une zone d'inhibition après incubation à 30°C pendant 48 à 72 heures.

Les souches ayant une symbiose entre elles sont choisies pour la reconstitution de ferments mixtes mésophiles.

#### **4-9- Aptitudes technologiques des ferments mixtes reconstitués**

Les ferments mixtes mésophiles reconstitués sont soumis à une évaluation des aptitudes technologiques : pouvoirs acidifiant, protéolytique, lipolytique, aromatisant, et texturant (voir section 4-7).

### **5- Application des ferments mixtes reconstitués dans la fabrication technologique de la crème sure**

Les deux principaux produits de la crème fermentée sont la crème sure et la crème fraîche (Marth et Steele, 2001). Pour la présente étude, le choix est porté sur la fabrication de la crème sure, non produite en Algérie.

#### **5-1- Préparation des levains lactiques mésophiles**

Les levains mixtes comprenant, selon des proportions définies, des souches productrices d'arôme associés à des souches acidifiantes. La proportion des bactéries aromatisantes doit être d'environ de 20 à 40% (Veisseyre, 1975).

Pour préparer la culture avec laquelle la crème doit êtreensemencée. On commence parensemencer de ferment mixte dans un récipient stérile contenant du lait écrémé stérile à raison de 1% (v/v) (Veisseyre, 1975 ; Kosikowski et Mistry, 1997). Après une incubation à 25°C, pendant une quinzaine d'heures et jusqu'à ce que l'acidité finale du lait écrémé soit comprise entre 75 et 90°D, le récipient de lait, à présent caillé, servira àensemencer la crème sure (Veisseyre, 1975).

## **5-2- Fabrication de la crème sure**

Les étapes de fabrication industriel de la crème sure sont représentées dans la figure 10. Elles dérivent des diagrammes de fabrication de Kosikowski et Mistry (1997) et de Costello (2009).

### **5-2-1- Ecrémage centrifuge**

L'écrémage du lait a lieu dans une écrémeuse centrifuge qui permet par sa rotation très rapide (6000 t/min) à l'intérieur d'une cuve la séparation de la crème, il se fait à une température de 68°C.

### **5-2-2- Homogénéisation**

Elle se fait à des pressions de 18kPa, et à une température de 71°C, ces paramètres varient en fonction de la teneur en matières grasses.

### **5-2-3- Pasteurisation**

La pasteurisation est effectuée à une température de 95°C pendant 15 à 20 secondes et permet la destruction des germes pathogènes. Après pasteurisation 0,2% (v/v) d'acide citrique stérile sont ajoutés à la crème pasteurisé.

### **5-2-4- Ensemencement en ferments lactiques et maturation**

Cette étape se réalise à une température de 25°C. La crème estensemencée à raison de 1% (v/v) par les ferments lactiques reconstitués qui permettent sa maturation. Elle s'acidifie, s'épaissie, et développe de nouveaux arômes (formation notamment de diacétyle). Au cours de l'ensemencement de la crème un volume de la présure est ajouté à raison de 0,00095% (v/v).

### **5-2-5- Refroidissement et conditionnement**

Le refroidissant se fait à une température inférieure à 10°C. Le conditionnement est fait dans des flacons en verre stériles.

## **5-3- Contrôle de qualité de la crème sure**

### **5-3-1- Analyse physicochimique**

Elle est effectuée avec l'analyseur infrarouge **Food Scan™ - FOSS** (voir section 4-2).

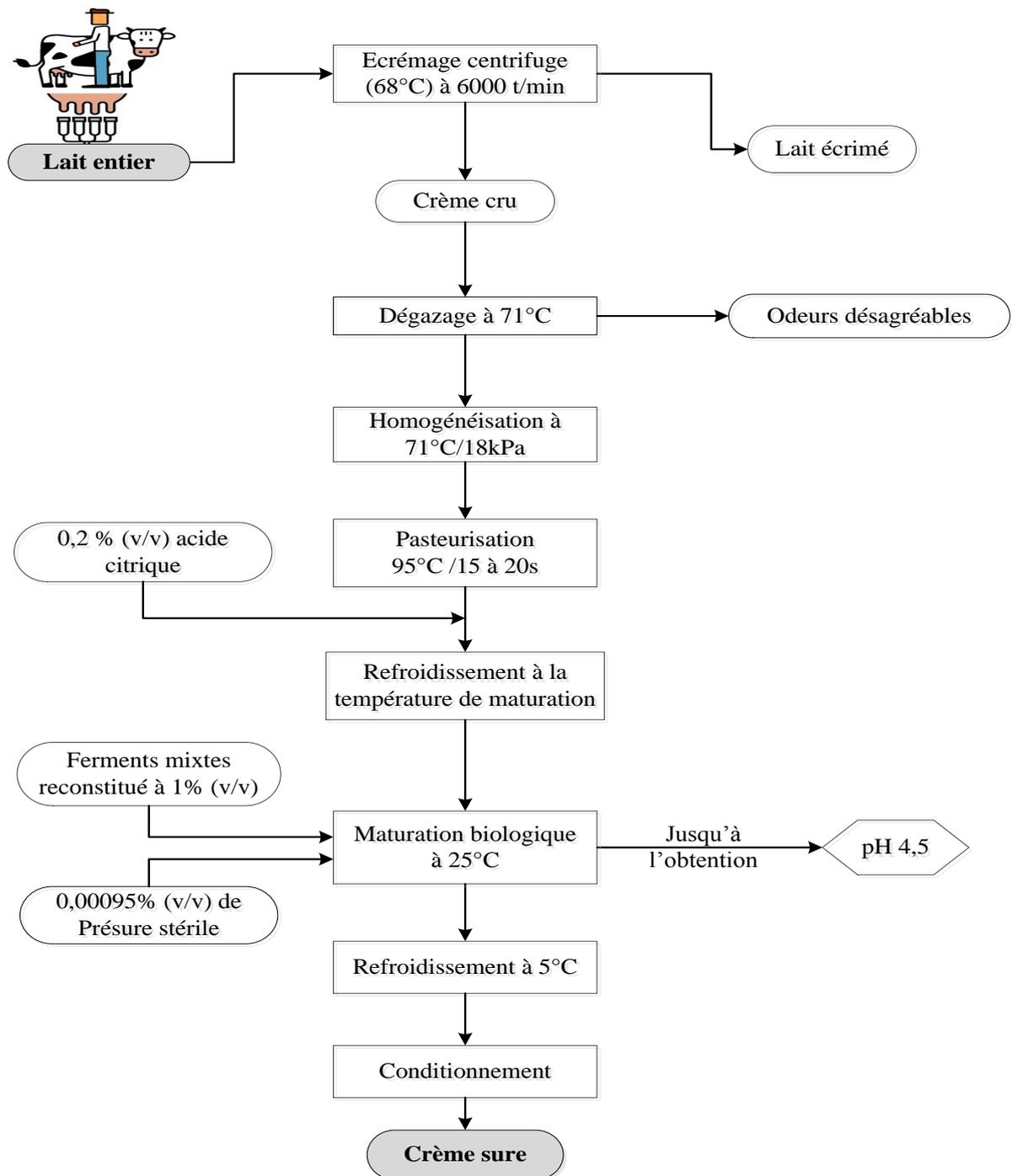
### **5-3-2- Analyses microbiologiques**

#### **5-3-2-1- Préparation des échantillons**

L'échantillon de la crème (5g) est placé dans un récipient stérile avec 45mL d'eau physiologique stérile. L'ensemble est homogénéisé et sert à préparer les dilutions jusqu'à 10<sup>-4</sup> (Guiraud, 2003).

### 5-3-2-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination

La recherche et le dénombrement des germes de contamination de la crème sure est identique à celle de la section 4-3-2.



**Figure 10:** Schéma générale des étapes de l'essai de fabrication de la crème sure

## 6- Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. Les courbes et les histogrammes sont tracés avec le logiciel Microsoft Excel 2007.

---

# **Résultats & Discussion**

---

## 1- Analyses et contrôles sur le lait cru

### 1-1- Analyse physicochimique

La qualité du lait représente une notion complexe car elle possède plusieurs dimensions telles que la qualité physicochimique et microbiologique. Elle peut être jugée par son efficacité à la transformation en crème, en beurre ou en fromage.

Les résultats de l'analyse physicochimique du lait cru par l'analyseur infrarouge sont présentés dans le tableau 8.

**Tableau 8** : Résultats des analyses physicochimiques du lait cru

Paramètre	Valeur	JORA n°069 du 27-10-1993
pH	6,52±0,02	-
Acidité (°D)	20,27±0,5	16 à 18
Densité (g/cm <sup>3</sup> )	1,031±0,004	1,030 à 1,034
EST(%)	12,31±0,06	-
MG (%)	3,46±0,06	3,4 au minimum
Protéine (%)	3,13±0,04	-
Caséine (%)	2,37±0,01	-
Lactose (%)	4,57±0,09	-
Point de congélation (°C)	- 0,523±0,001	-

-, absence de norme nationale

La valeur moyenne enregistrée de pH du lait est légèrement inférieure à celles mentionnées par d'autres auteurs qui sont de 6,6 et 6,8 à 20°C (Sharma, 2006 ; Kailasapathy *et al.*, 2011). Généralement, le pH a tendance encore à diminuer avec le stockage du lait.

L'acidité est parmi les principaux paramètres qui déterminent la qualité du lait cru. La valeur trouvée est de 20,27±0,5°D. Elle est plus élevée que celle recommandée par la norme algérienne. Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en sels minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la microflore microbienne et de son activité (Amiot *et al.*, 2010).

Quant à la valeur moyenne de la densité du lait cru, elle est comprise dans l'intervalle des valeurs recommandées par la norme algérienne. La densité dépend, principalement, de la teneur en matière sèche qui est liée fortement à la fréquence de l'abreuvement (Siboukeur, 2007).

En ce qui concerne la moyenne de l'extrait sec total du lait (EST), elle est comparable à celles rapportées par plusieurs auteurs (10,5 – 14,5%) (Vignola *et al.*, 2002 ; Chandan *et al.*, 2006 ; Kailasapathy *et al.*, 2008).

La valeur moyenne de la teneur en protéines est dans la fourchette de Sandholm et Saarela (2003) et de Kailasapathy *et al.* (2011) soit 3 à 5%. Le lactose, principal sucre présent dans le

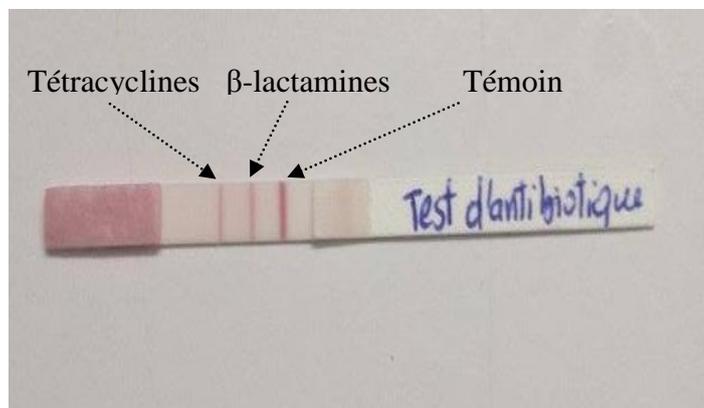
lait est dans l'intervalle 40-50g/L, teneur normale pour un lait cru alors que la valeur de la caséine donnée par l'analyseur est légèrement inférieure à celles des nombreux auteurs (Sandholm et Saarela 2003 ; Kailasapathy *et al.*, 2011) soit (2,5 à 2,7%).

Le point de congélation du lait est inférieur à celui de l'eau pure en raison des composants dissous tels que le lactose et les sels solubles. Il permet de contrôler si le lait de vache a été dilué avec de l'eau (Chandan *et al.*, 2008). La valeur moyenne obtenue est en accord avec celles de Kailasapathy *et al.* (2011). Quant à la teneur moyenne en matière grasse (MG), le résultat trouvé est dans l'intervalle des valeurs données par Amiot *et al.* (2010) (2,5 à 5%).

La légère différence qui existent entre nos valeurs et celles citées par d'autres auteurs peut être due à des différences de race, du climat, du stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, et aux conditions de la traite et de transport comme cela a été justifié par Walstra *et al.* (1999), Chandan *et al.* (2008) et Kailasapathy *et al.* (2011).

#### - Test d'antibiotiques

La recherche d'antibiotiques dans le lait cru réalisée par l'appareil **BetaStar® Combo 25 Neogen** a révélé leur absence (figure11). Cette absence est recommandée par les réglementations nationale et internationale (Arrêté de 24 janvier 1998, JORA N° 35 du 27-05-1998 ; Arrêté française du 18 mars 1994).



**Figure 11:** Résultat obtenu pour le test d'antibiotique des échantillons du lait cru

#### 1-2- Recherche et dénombrement des germes de contamination

Le lait cru est un produit hautement nutritif sur le plan nutritionnel, par conséquent, il constitue un milieu favorable pour le développement des microorganismes. Sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine.

Une évaluation de la qualité microbiologique du lait de vache consiste à rechercher la microflore de contamination. Elle a été réalisée par le dénombrement de la flore totale aérobie

mésophile, des coliformes totaux et fécaux, de la flore fongique, de *Staphylococcus aureus*, de *Clostridium* sulfitoréducteurs, des Streptocoques fécaux et de *Salmonella* (tableau 9).

Les résultats obtenus sont discutés en fonction des critères microbiologiques requis par la réglementation algérienne (Arrêté interministériel du 27 mai 1998), relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

La numération des différentes flores microbiennes a donné des valeurs nettement supérieures aux normes admises par le journal officiel algérien et aux normes internationales (arrêté française de 02 mars 1995) et aussi aux travaux de plusieurs auteurs. Cependant, on a noté une charge en *Clostridium* sulfitoréducteurs inférieure à la norme algérienne et une absence des salmonelles dans le lait cru.

**Tableau 9:** Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons et exigences réglementaires nationales en matière de qualité microbiologique du lait cru

Germes	Nombre	Norme nationale
FTAM	$1,2 \cdot 10^8$ UFC/mL	$10^5$
Coliformes totaux	$9,2 \cdot 10^7$ UFC/mL	-
Coliformes fécaux	$2,7 \cdot 10^7$ UFC/mL	$10^3$
Levures	$2,6 \cdot 10^4$ UFC/mL	-
Moisissures	$6,1 \cdot 10^3$ UFC/mL	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,9 \cdot 10^4$ UFC/mL	Absence
<i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs	$1 \cdot 10$ UFC/mL	50
Streptocoques fécaux	11 germes/mL	Absence
<i>Salmonella</i>	Absence	-

-, absence de norme nationale

La forte contamination microbienne est sans doute liée au manque d'hygiène lors de la traite ou des équipements utilisés pour la traite. L'existence des coliformes totaux n'indique pas nécessairement une contamination fécale directe du lait, mais elle est considérée comme un indicateur de mauvaises pratiques d'hygiène et sanitaire. Alors que la présence des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux qui sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux est un indice d'une contamination par les fèces des vaches ou par les mains du trayeur (Hamama, 1989). Quant à *Staphylococcus aureus*, il est présent au niveau de la peau de la mamelle et des trayons et a donc tout loisir de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle (Faye et Loiseau, 2002). Etant donné son habitat et sa fréquente mise en cause dans les mammites, la présence de staphylocoques dans le lait paraît quasi inévitable.

## 2- Fabrication traditionnelle du beurre cru et analyses physicochimique et microbiologique

Le beurre cru est un aliment fragile et altérable par la chaleur notamment ou par d'autres facteurs capables de nuire sa qualité physicochimique et microbiologique. Il est fabriqué de manière traditionnelle (figure 12) au niveau du laboratoire de l'unité HODNA lait puis soumis à un contrôle de qualité physicochimique et microbiologique.

A partir de 1,7L du lait cru environ de 57,7g du beurre sont obtenus, 2,5g sont utilisés pour les analyses microbiologiques et le reste pour les analyses physicochimiques.



**Figure 12 :** Aspect visuel du beurre cru fabriqué au niveau du laboratoire

### 2-1- Analyse physicochimique du beurre

Le but principal des analyses consiste à vérifier la conformité des échantillons analysés aux critères et normes fixés par la réglementation. Les résultats physicochimiques sont donnés par l'analyseur infrarouge. Le pH obtenu est de  $4,92 \pm 0,10$ , cette valeur se trouve dans l'intervalle 4,7 à 5,8, indiqué par Jeantet *et al.* (2008).

Dans l'ensemble, les valeurs données par l'analyseur diffèrent de celles de la norme algérienne (JORA n°096 du 23-12-1998) (tableau 10) et de celles données par plusieurs auteurs (Walstra *et al.*, 1999 ; Chandan *et al.*, 2008).

Concernant le taux des sels, la valeur enregistrée est nettement supérieure à celle recommandée par Jeantet *et al.* (2008) soit 0,1% pour un beurre industriel.

**Tableau 10 :** Résultats des analyses physicochimiques du beurre traditionnel

Paramètre	Valeur	JORA n°096 du 23-12-1998
pH	$4,92 \pm 0,10$	-
MG (%)	$72,28 \pm 0,04$	82 au minimum
EST (%)	$74,87 \pm 0,03$	84 au minimum
ESD (%)	$2,58 \pm 0,01$	2 au maximum
Humidité (%)	$25,14 \pm 0,03$	16 au maximum
Taux des sels (%)	$0,93 \pm 0,06$	-

-, absence de norme nationale.

Cette différence dans les paramètres physicochimiques du beurre cru fabriqué par la méthode traditionnelle peut être liée, à la qualité physicochimique et à l'activité microbienne de lait cru utilisé pour leur fabrication et aussi à la méthode de fabrication traditionnelle comme cela a été mentionné par quelques auteurs (El-Marrakchi *et al.*, 1986 ; Lahsaoui, 2009).

## 2-2- Analyse microbiologiques du beurre

Le beurre cru fabriqué contient une charge microbienne importante représentée par la flore totale aérobie mésophile, les germes de contamination fécale (coliformes totaux et fécaux) et la flore fongique. On a noté également la présence de la bactérie pathogène *Staphylococcus aureus* (tableau 11). Les dénombrements ont donné des valeurs nettement supérieures aux normes fixées par le journal officiel algérien (Arrêté interministériel du 27 mai 1998) et aux normes internationales (arrêté française de 15 avril 1986) et aux travaux de plusieurs auteurs. Dans la législation algérienne et française nous n'avons pas trouvée des normes concernant la flore totale aérobie mésophile, les coliformes fécaux, les *Clostridium* sulfitoréducteurs, pour le beurre cru mais uniquement le beurre pasteurisé et autres types du beurre. Par ailleurs, la charge microbienne n'a pas diminué de la matière première (lait cru) vers le produit qu'est le beurre. Beerens et Luquet (1987), ont rapporté l'existence d'un transfert de microorganismes du lait vers le beurre. Les flores microbiennes semblent peu gênées par l'acidification du lait. Le beurre fabriqué ne contient pas de *Clostridium* sulfitoréducteurs.

**Tableau 11:** Résultats de l'analyse microbiologique du beurre cru

Germes	Nombre moyen	Norme nationale
FTAM	$1,45.10^8$ UFC/g	-
Coliformes totaux	$1,26.10^7$ UFC/g	10
Coliformes fécaux	$1,15.10^7$ UFC/g	-
Levures	$1,8.10^4$ UFC/g	$10^3$
Moisissures	$2,7.10^4$ UFC/g	$3.10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$0,7.10^4$ UFC/g	$10^2$
<i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs	0	-

-, absence de norme nationale

## 3- Mise en place d'une collection de flore lactique

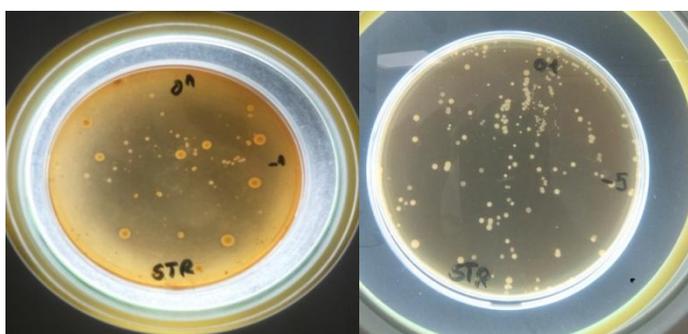
### 3-1- Caractérisation préliminaire des isolats lactiques

La collection d'isolats lactiques constituée a fait l'objet d'une étude d'aptitudes technologiques qui permettra la sélection de souches mixtes qui seront utilisées pour la fabrication de la crème sure.

Un premier soucier de 64 isolats lactiques a été constitué à partir du beurre cru. Après leur purification, des tests préliminaires d'identification sont effectués. Il s'agit d'une détermination de l'aspect macroscopique, microscopique et de la recherche de la catalase. Sur la base des résultats obtenus (bacilles ou cocci à Gram positif et catalase négative), 30 isolats considérés comme étant des bactéries lactiques sont retenus pour une identification phénotypique. Ils sont désignés par un code composé de lettre et de numéro.

### 3-2- Examen macroscopique

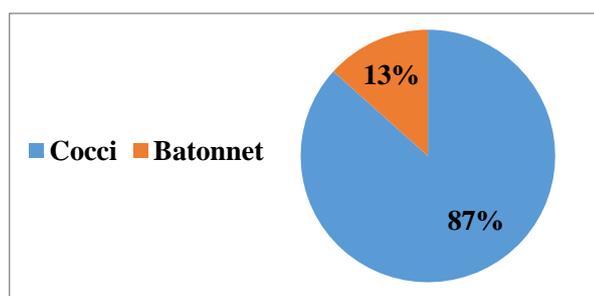
L'aspect macroscopique déterminé sur milieu solide par la loupe binoculaire a permis d'observer des colonies blanchâtres, crèmes et parfois translucides, à contour régulier ou irrégulier et dont le diamètre varie de 0,5 à 2mm. Des exemples d'aspects culturels sont donnés par la figure 13.



**Figure 13:** Aspect des colonies des bactéries lactiques sur milieu solide après incubation

### 3-3- Examen microscopique

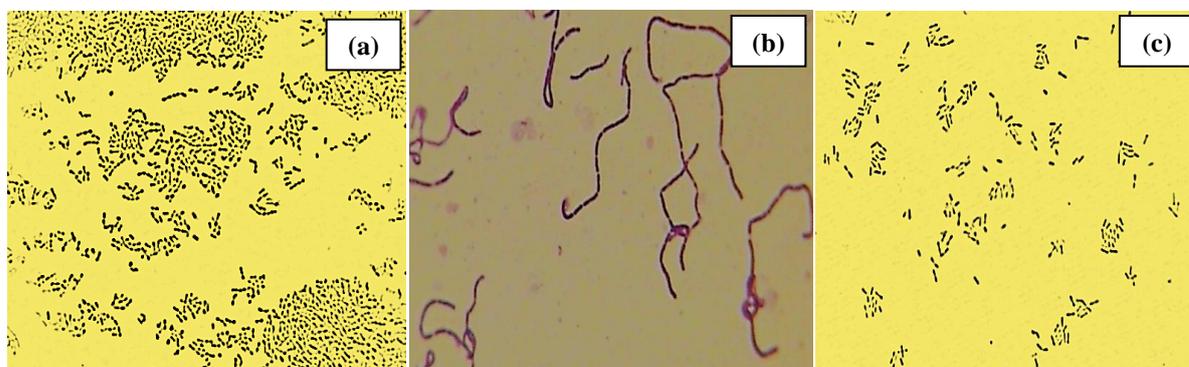
L'observation microscopique des trente souches après coloration de Gram a identifié 4 isolats de forme bacillaire et le reste sont des cocci qui représentent un pourcentage de 87% (figure 14). Les cellules sont disposées sous forme isolée, en paires ou en chaînes. Cette dominance des coques par rapport aux bacilles est déjà obtenue avec Bakhouché (2006) qui a travaillé sur le lait cru de vache (80,3% isolats des coques et 19,7% ont la forme bacillaire). Cet examen microscopique est complété par une observation à l'état frais (annexe 5) qui a mis en évidence l'immobilité de l'ensemble des isolats (tableau 12).



**Figure 14 :** Répartition des souches isolées selon la forme des cellules

**Tableau 12:** Examen microscopique des isolats lactiques du beurre cru

Souche	Morphologie cellulaire	Mode d'association	Mobilité
BL 1	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 2	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 3	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 4	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 5	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 6	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 7	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 8	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 9	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 10	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 11	Bacille	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 12	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 13	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 14	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 15	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 16	Bacille	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 17	Cocci	Isolé, en paires	-
BL 18	Cocci	Isolé, en paires	-
BL 19	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 20	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 21	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 22	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 23	Cocci	Isolé, en paires	-
BL 24	Bacille	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 25	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 26	Cocci	En paires, en chaîne	-
BL 27	Bacille	Isolé, en paires	-
BL 28	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 29	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-
BL 30	Cocci	Isolé, en paires, en chaîne	-



**Figure 15 :** Aspect microscopique de quelques isolats lactiques ; (a) et (c), état frais ; (b), coloration de Gram (G x100)

### 3-4- Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques sont consignés dans le tableau 13. Cette identification phénétique a permis d'affilier les souches au genre correspondant. Le test ADH a été effectué uniquement pour les isolats hétérofermentaires.

Parmi les coques lactiques, cinq souches (**BL14, BL19, BL22, BL23, BL30**) sont homofermentaires, poussent à 10°C, mais sont incapables de se développer à 45°C, à 6,5%, et à 18% (p/v) de NaCl et à pH 9,6. Elles se rapprochent du genre *Lactococcus*.

Les cinq autres coques codés (**BL5, BL6, BL7, BL9, BL13**) sont homofermentaires, ne poussent pas à 10°C, à 6,5% et à 18% (p/v) de NaCl, aux pH 4,4 et 9,6. Ces caractéristiques sont celles du genre *Streptococcus*. Alors que les souches suivantes (**BL10, BL15, BL25, BL26**) sont hétérofermentaires, poussent à 10°C, mais pas à 45°C, à pH 9,6 et à 18% (p/v) de NaCl, et qui sont ADH négatif, elles ont été orientées vers le genre *Leuconostoc*.

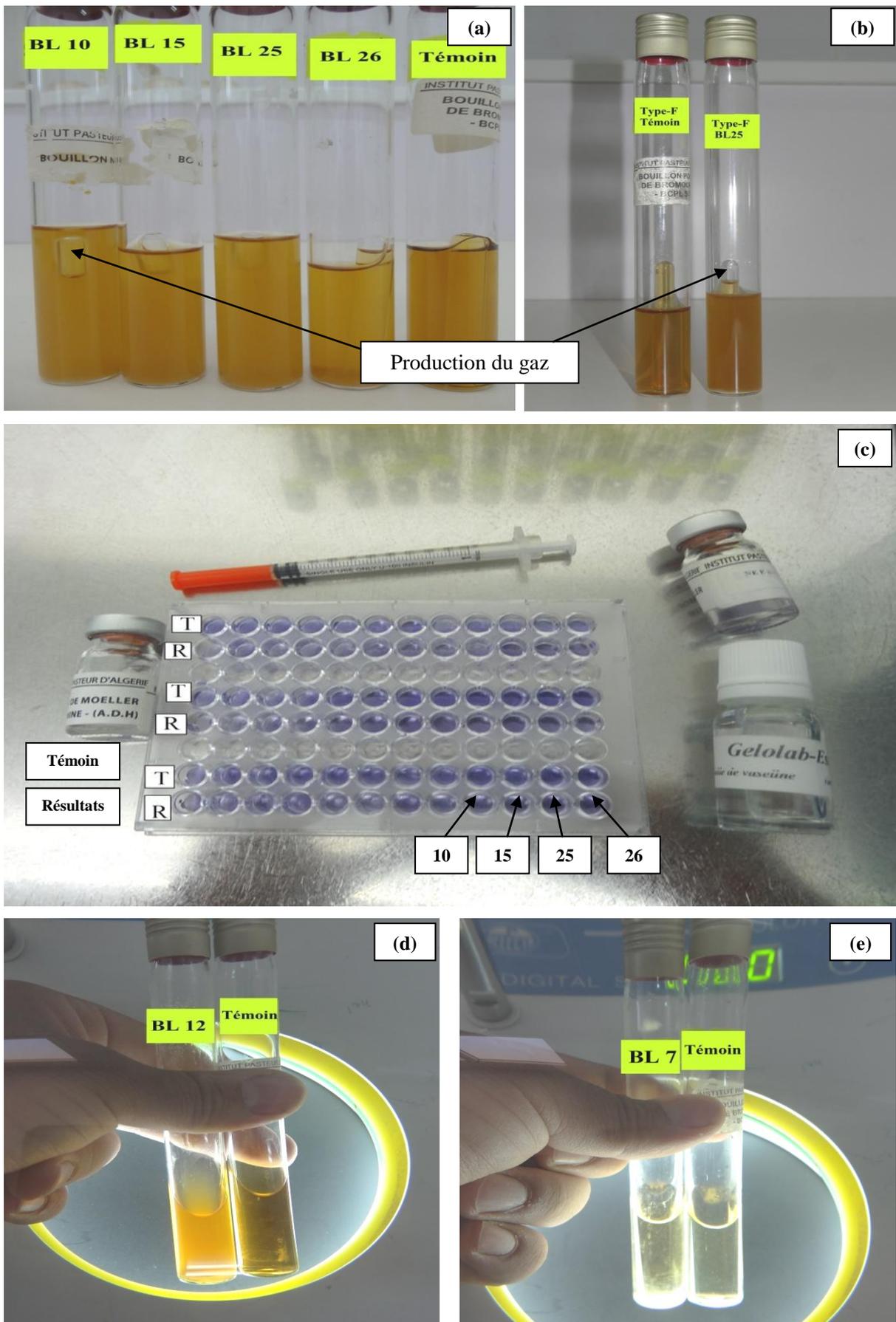
Le reste des coques homofermentaires (**BL1, BL2, BL3, BL4, BL8, BL12, BL17, BL18, BL20, BL21, BL28, BL29**), ont la capacité de croître à 10°C, à 45°C, aux pH de 4,4 et 9,6, et à une concentration en NaCl de 6,5 % (p/v), mais pas à 18%, traits caractéristiques du genre *Enterococcus*.

Les quatre souches de forme bacillaire sont représentées par **BL11, BL16, BL24, BL27** et appartenant probablement au genre *Lactobacillus*. Les trois premiers isolats sont homofermentaires et thermophiles (se développent à 45°C, mais pas à 10°C). Ces caractéristiques sont celles du groupe *Thermobacterium*. Alors que la dernière souche est mésophile (pousse à 10°C mais pas à 45°C); il s'agit probablement du groupe de *Streptobacterium*.

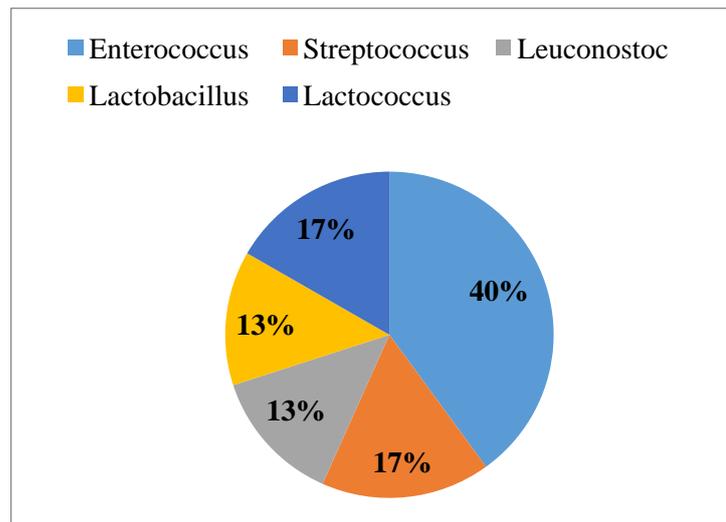
L'identification selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques a permis de mettre en place une collection représentée par cinq genres de bactéries lactiques dont leur distribution selon le pourcentage d'apparition est illustrée par la figure 17.

La dominance du genre *Enterococcus* représenté par 40% est claire. Il est suivi par les genres *Streptococcus* et *Lactococcus* avec un pourcentage de 17. Enfin, les genres *Leuconostoc* et *Lactobacillus* ont un pourcentage de 13.

La figure 16 représente quelques photos des résultats obtenus pour la caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques.



**Figure 16 :** Exemple de résultats de quelques tests physiologiques et biochimiques ; (a) et (b), type fermentaire ; (c), test ADH ; (d), croissance à pH 9,6 ; (e), croissance à pH 4,4.



**Figure 17:** Répartition des genres de la collection lactique (%)

Il n'y avait pas assez de recherche en ce qui concerne l'isolement de bactéries lactiques à partir du beurre de vache traditionnel, mais il existe d'autres parts plusieurs travaux ayant portés sur les produits laitiers. Les résultats obtenus sont proches de celles obtenus avec plusieurs études.

L'identification réalisée par Bakhouche en 2006 de soixante six souches à partir de 18 échantillons du lait cru de vache appartenant à six stations d'élevage de la région de Constantine a permis l'isolement des genres suivantes : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, et *Lactobacillus*. Alors que l'étude faite par Badis et *al.* (2004) sur 725 isolats lactiques du lait de chèvre a permis leur classement dans les genres *Lactobacillus* (31,6%), *Lactococcus* (28,4%), *Leuconostoc* (22,2%), *Streptococcus* (13,7%) et *Pediococcus* (4,1%). Trois genres (*Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*) ont été identifiés dans le travail portant sur lben et jben marocains selon des critères morphologiques et biochimiques (Lairini et *al.*, 2014).

Quant à la dominance du genre *Enterococcus*, elle peut être due aux mauvaises conditions de la traite et aussi à la résistance du germe à ces conditions (Garvie, 1986). Selon Giraffa (2003), les entérocoques doivent être considérés comme faisant partie de la flore microbienne normale du lait cru.

Il faut noter que l'identification phénotypique est très limitée et sans doute, l'utilisation des techniques moléculaires apportent plus de description de la biodiversité microbienne dans cet écosystème.

**Tableau 13** : Caractérisation phénotypique des isolats lactiques

Test \ Souche	BL1	BL2	BL3	BL4	BL5	BL6	BL7	BL8	BL9	BL10	BL11	BL12	BL13	BL14	BL15	BL16	BL17	BL18	BL19	BL20	BL21	BL22	BL23	BL24	BL25	BL26	BL27	BL28	BL29	BL30
<b>Morphologie cellulaire</b>	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci	Cocci	Cocci
<b>Gram</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Catalase</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mobilité</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>CO<sub>2</sub> de glucose</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
<b>Croissance à 45°C</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	±	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	±	+	-
<b>Croissance à 10°C</b>	±	+	+	±	±	-	-	±	-	+	-	+	-	±	+	-	+	+	+	+	±	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<b>Croissance à 6,5% (p/v) NaCl</b>	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
<b>Croissance à 18% (p/v) NaCl</b>	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
<b>Croissance à pH 4,4</b>	±	+	±	+	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	±	±	±
<b>Croissance à pH 9,6</b>	+	+	+	+	-	±	-	+	±	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-
<b>Test ADH</b>										-					-															
<b>Genre</b>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>

– , test négatif ; +, test positif ; ±, réaction intermédiaire

#### 4- Résultats de l'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH

Les dix isolats sélectionnés selon leur vitesse d'acidification (voir section 5-1) appartiennent aux genres *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Lactococcus*. Ils sont analysés pour leur capacité fermentaire sur les 49 tests biochimiques constituant les galeries API 50 CH. Les profils de fermentation des glucides obtenus sont répertoriés dans le tableau 15. On recherche dans chaque tube l'acidification produite qui se traduit par le virage au jaune du pourpre de bromocrésol (l'indicateur de pH contenu dans le milieu), pour le test esculine (tube 25), on observe un virage du pourpre au noir.

La comparaison des profils de fermentations des sucres des isolats avec le logiciel d'identification de Biomérieux a permis l'identification de sept isolats. Deux isolats sont des *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides*, un *Leuconostoc lactis*, un *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis*, deux *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis* et un isolat *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*. Cependant, le système API 50 CH ne semble pas assez discriminant pour la caractérisation des souches du genre *Enterococcus*.

L'étude réalisée par Ouadghiri (2009) sur l'identification de 300 bactéries lactiques du lait cru et de ses dérivés « Lben » et « Jben » marocains par des méthodes biochimiques (API 50 CH), moléculaires (SDS-PAGE) et génotypiques (GTG)<sub>5</sub>-PCR a indiqué que l'identification par le système API manque de précision.

**Tableau 14:** Résultats de l'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH

Code	Souches caractérisées
BL10	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>Mesenteroides</i>
BL11	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>Lactis</i>
BL14	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>
BL22	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Diacetylactis</i>
BL23	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Diacetylactis</i>
BL25	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>Mesenteroides</i>
BL26	<i>Leuconostoc lactis</i>



**Figure 18:** Exemples des résultats de l'utilisation des API 50 CH pour l'isolat BL11

**Tableau 15:** Résultats de la capacité fermentaire sur les 49 tests biochimiques

	Test / Isolats	BL10	BL11	BL14	BL22	BL23	BL25	BL26
0	Témoin	-	-	-	-	-	-	-
1	Glycérol	-	-	-	-	-	-	-
2	Erythritol	-	-	-	-	-	-	-
3	D-Arabinose	-	-	-	±	-	-	-
4	L-Arabinose	+	-	-	-	-	+	-
5	D-Ribose	-	-	+	-	-	-	-
6	D-Xylose	+	-	-	-	±	+	-
7	L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-
8	D-Adonitol	-	-	-	-	-	-	-
9	Méthyl-βD-Xylopyranoside	-	-	-	-	-	-	-
10	D-Galactose	±	+	-	-	+	+	±
11	D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+
12	D-Fructose	+	+	+	±	±	+	+
13	D-Mannose	+	+	+	-	-	+	±
14	L-Sorbose	-	-	-	-	-	-	-
15	L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
16	Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-
17	Inositol	-	-	-	-	-	-	-
18	D-Mannitol	-	-	±	-	-	-	-
19	D-Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
20	Méthyl-αD-Mannopyranoside	-	-	-	-	-	-	-
21	Méthyl-αD-Glucopyranoside	+	-	-	-	±	+	-
22	N-Acétyleglucosamine	+	+	+	+	+	+	+
23	Amygdaline	+	-	±	±	-	+	-
24	Arbutine	+	-	+	+	+	+	-
25	Esculine citrate de fer	+	-	+	-	-	+	-
26	Salicine	+	-	+	+	±	+	-
27	D-Cellobiose	+	-	+	+	±	+	-
28	D-Maltose	+	-	+	+	+	+	+
29	D-Lactose (origine bovine)	±	+	+	+	+	±	-
30	D-Melibiose	±	-	-	-	-	±	-
31	D-Saccharose	+	+	±	-	-	+	+
32	D-Tréhalose	+	+	+	±	+	+	-
33	Inuline	-	-	-	-	-	-	-
34	D-Mélézitose	-	-	-	-	-	-	-
35	D-Raffinose	-	-	-	-	-	-	-
36	Amidon	-	-	+	-	-	-	-
37	Glycogène	-	-	-	-	-	-	-
38	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-
39	Gentiobiose	+	-	+	+	-	+	-
40	D-Turanose	+	-	-	-	-	+	-
41	D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-
42	D-Tagatose	-	-	-	-	-	-	-
43	D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-
44	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-
45	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-
46	L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-
47	Potassium Gluconate	-	-	-	±	±	-	-
48	Potassium 2-Cétogluconate	-	-	-	-	-	-	-
49	Potassium 5-Cétogluconate	-	-	-	-	-	-	-

-, test négatif ; +, test positif ; ±, test douteux.

## 5- Caractérisation technologique des souches lactiques isolées

Des tests préliminaires du pouvoir acidifiant ont permis de sélectionner dix souches pour une étude des aptitudes technologiques. Parmi lesquels se trouve, trois *Leuconostoc* doués de pouvoir aromatique.

Les résultats chiffrés de l'évaluation des aptitudes technologiques des isolats lactiques se trouvent en annexe 7.

### 5-1- Pouvoir acidifiant

Le suivi de l'évolution du pH et de l'acidité sur du lait écrémé pendant 24 heures de fermentation à 30°C par les souches lactiques est représenté par la figure suivante.

La production d'acide lactique est observée avec l'ensemble des isolats qui s'accompagne d'un abaissement du pH du milieu. Après les six premières heures d'incubation, les valeurs de pH sont comprises entre  $5,63 \pm 0,01$  et  $6,21 \pm 0,04$ , en parallèle l'acidité Dornic se situe entre  $20,5 \pm 0,5^\circ\text{D}$  et  $31,5 \pm 0,5^\circ\text{D}$ .

Parmi ces isolats, la souche **BL17** a montré une forte diminution de pH du lait dès les 6 premières heures d'inoculation et aussi une forte production d'acide lactique. Tandis que la souche **BL25** a montré une faible diminution du pH et la **BL11** une très faible production d'acide lactique.

La diminution se poursuit pour atteindre des valeurs de  $4,21 \pm 0,03$  et  $4,88 \pm 0,01$  en 24 heures. De même l'acidité Dornic se situe entre  $63,0 \pm 3,5^\circ\text{D}$  et  $88,0 \pm 1,5^\circ\text{D}$ .

Ces résultats, ont permis de classer les isolats **BL11**, **BL12**, **BL14**, **BL17**, **BL26**, **BL28** dans la catégorie des bactéries moyennement acidifiantes ( $40^\circ\text{D} < \text{acidité} < 79^\circ\text{D}$ ), et les isolats **BL10**, **BL22**, **BL23**, et **BL25** dans la catégorie des bactéries fortement acidifiantes (acidité  $>79^\circ\text{D}$ ) (Hassain, 2013). Une différence dans la réduction du pH et la production d'acides entre les genres, les espèces et parfois entre les souches de la même espèce a été soulevée par de nombreux auteurs (Alonso-Calleja *et al.*, 2002 ; Luquet et Corrieu, 2005).

Les souches ayant un profil d'acidification du lait rapide se révèlent comme étant de bonnes candidates pour l'industrie des aliments fermentés, et pourront être utilisées comme cultures starters. De la même manière, les souches ayant montré un pouvoir d'acidification faible sont utilisées, mais en cultures mixtes, pour d'autres propriétés importantes, par exemple l'activité aromatisante (Hassain, 2013).

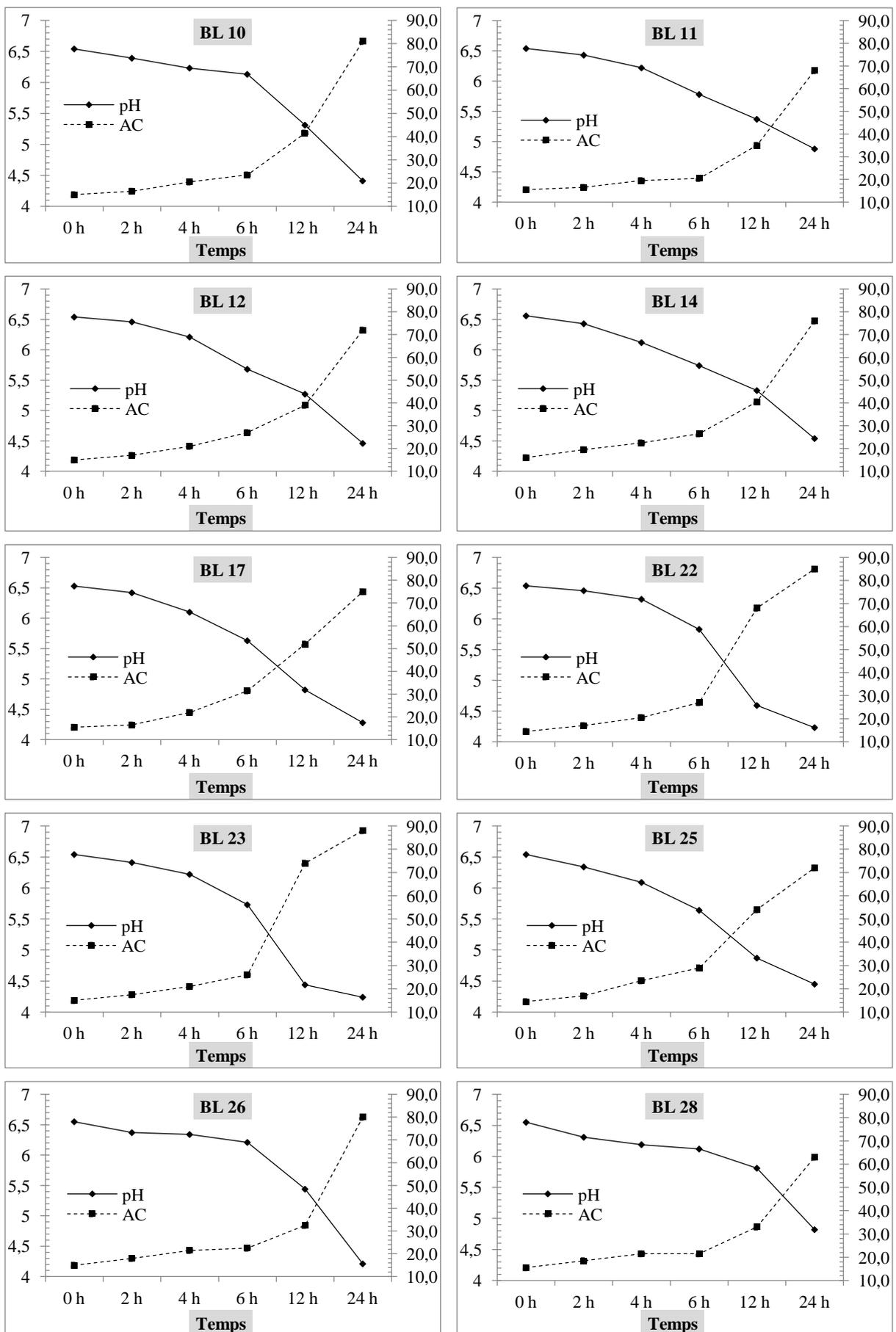


Figure 19 : Résultats de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic

## 5-2- Pouvoir protéolytique

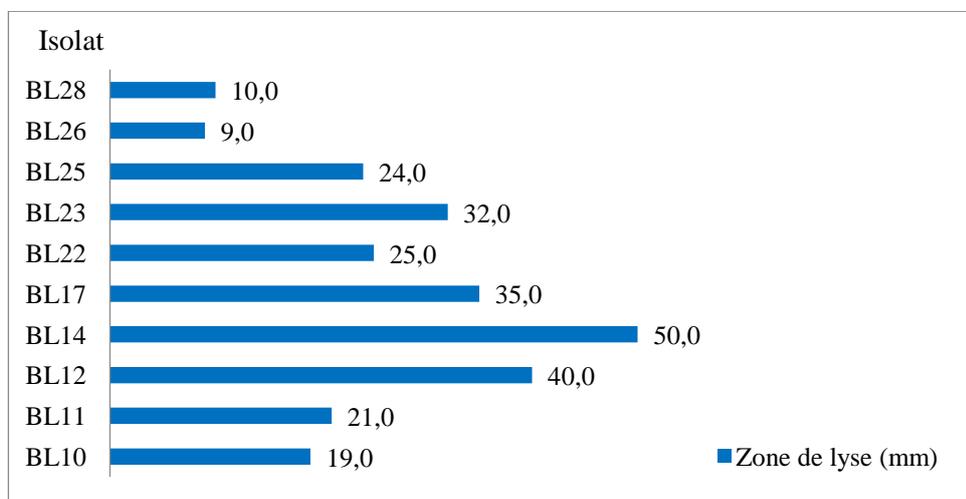
Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire. Les peptides issus de la protéolyse sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en acides aminés et en peptides courts (Yvon, 2006).

L'hydrolyse des caséines du lait modifie la texture et les acides aminés et les peptides libérés sont des précurseurs des composés responsables de l'arôme des produits fermentés. L'activité protéolytique est également une caractéristique technologique importante chez les bactéries lactiques puisqu'elle leur confère la capacité de croître efficacement dans le lait, ce milieu étant déficient en sources azotées disponibles. Elle était reconnaissable par la présence d'un halo clair autour des colonies sur la gélose MRS ou sur la gélose PCA additionnés de lait écrémé (Thapa *et al.*, 2006).

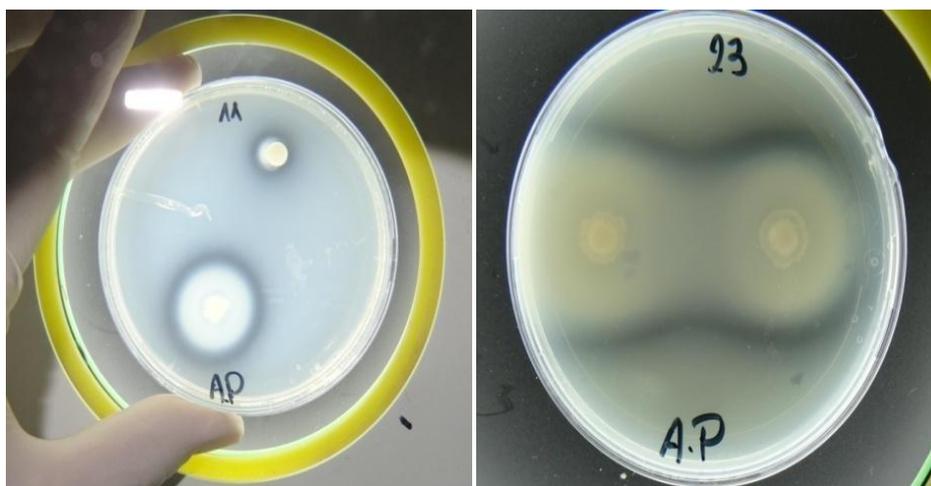
Les résultats de l'activité protéolytique des isolats sont résumés dans la figure 20. Les souches ont montré une capacité importante de dégrader les caséines trouvées dans le milieu de culture utilisé et selon les souches, le diamètre de la protéolyse varie de 9,0 à 50,0mm (figure 20). Selon Vuilleumard (1986), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse comprise entre 5 et 15mm.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la souche **BL14** (*Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*) est jugée la plus protéolytique avec un diamètre de 50,0±5,5mm. Alors que l'isolat **BL26** (*Leuconostoc lactis*) est jugé le moins protéolytique avec un diamètre de 9,0±1,5mm.

Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère protéolytique des bactéries lactiques comme il a été rapporté par les travaux de (Shirai *et al.*, 2001 ; François *et al.*, 2007). Ces auteurs ont montré que les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser plusieurs acides aminés, mais sont pourtant bien adaptées à un environnement riche en protéines et pauvre en acides aminés libres ; comme le lait ; grâce à un système protéolytique bactérien complexe.



**Figure 20** : Activité protéolytique (mm) des isolats lactiques

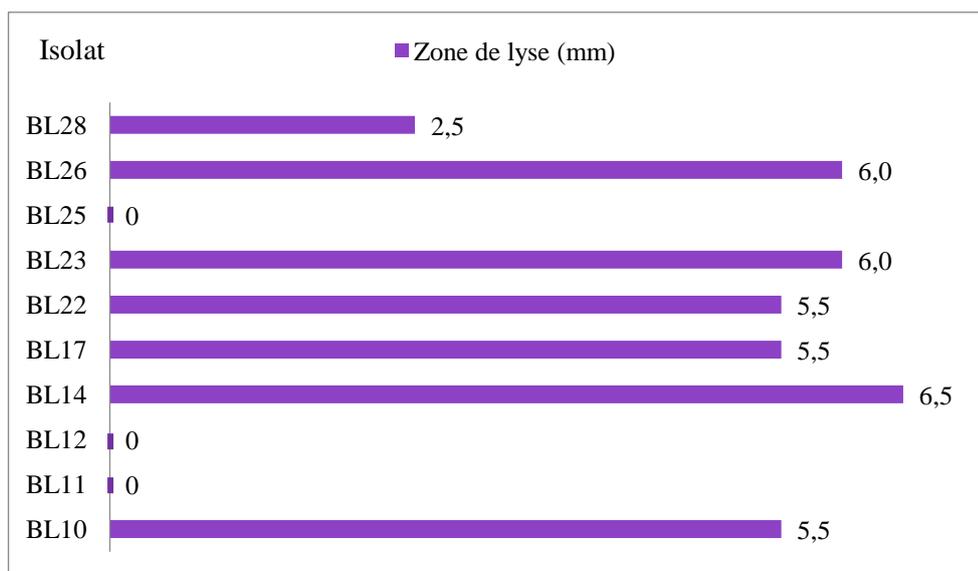


**Figure 21:** Exemples de résultats obtenus pour l'activité protéolytique des isolats **BL11** et **BL23** sur milieu PCA additionnés de lait écrémé

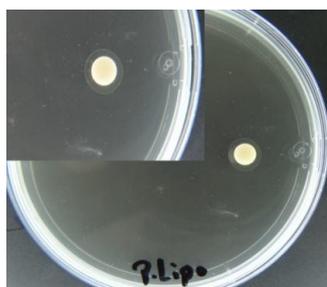
### 5-3- Pouvoir lipolytique

Il apparaît, au travers des publications scientifiques, que les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaire (Lui et *al.*, 2001). Les résultats illustrés dans la figure 22 montrent que l'activité lipasique est généralement faible chez les bactéries lactiques testées sur gélose aux triglycérides (figure 23), 30% des isolats sont dépourvus de cette activité. La souche **BL14** identifiée comme étant *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* est la plus lipolytique avec un diamètre de  $6,5 \pm 0,5$ mm.

Les lactocoques et les entérocoques sont considérés comme les plus lipolytiques (KARAM et *al.*, 1998 ; Béal et *al.*, 2008).



**Figure 22 :** Activité lipolytique (mm) des isolats lactiques



**Figure 23** : Exemples des résultats obtenus pour l'activité lipolytique (isolat **BL28**)

#### 5-4- Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour les produits transformés, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (Ho et *al.*, 2007).

L'apparition de colonies larges et gluantes n'a été détectée que chez 4 isolats (Tableau 16, figure 24). Selon de nombreux auteurs, la production d'EPS dépend, principalement, de la souche, du taux de croissance, de la température d'incubation, du milieu de culture, de la vitesse d'acidification, du pH et de la quantité d'oxygène requis dans le milieu de culture (Ricciardi et Clementi, 2000 ; Looijesteijn et *al.*, 2001 ; Behare et *al.*, 2009).

**Tableau 16** : Résultats enregistrés pour l'étude du pouvoir texturant des isolats lactiques

Code de souche	Résultat
<b>BL10</b>	-
<b>BL11</b>	-
<b>BL12</b>	+
<b>BL14</b>	-
<b>BL17</b>	-
<b>BL22</b>	-
<b>BL23</b>	-
<b>BL25</b>	+
<b>BL26</b>	+
<b>BL28</b>	+

+, résultat positif ; -, résultat négatif



**Figure 24** : Aspect de colonies des isolats lactiques **BL25** et **BL26** sur la gélose hypersaccharosée

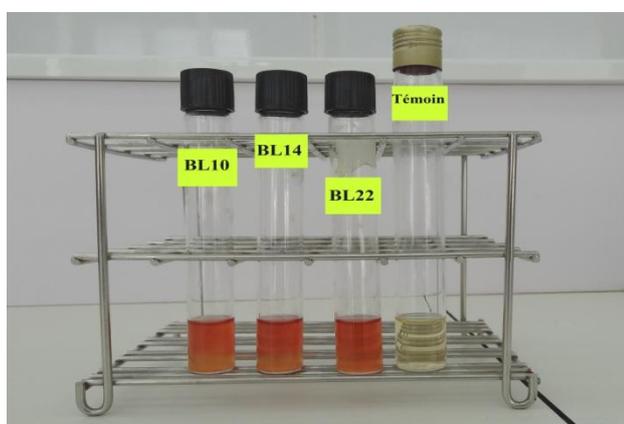
### 5-5- Pouvoir aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques à partir de différents substrats qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Cholet, 2006). Comme pour le pouvoir texturant, 4 isolats ont la capacité de produire des composés aromatisants mis en évidence sur le milieu de culture Clark et Lubs (tableau 17, figure 25).

**Tableau 17 :** Résultats enregistrés pour l'étude du pouvoir aromatisant des isolats lactiques

Code de souche	Résultat
<b>BL10</b>	+
<b>BL11</b>	-
<b>BL12</b>	-
<b>BL14</b>	+
<b>BL17</b>	-
<b>BL22</b>	+
<b>BL23</b>	-
<b>BL25</b>	+
<b>BL26</b>	-
<b>BL28</b>	-

+, résultat positif ; -, résultat négatif



**Figure 25 :** Exemples des résultats du pouvoir aromatisant des isolats lactiques

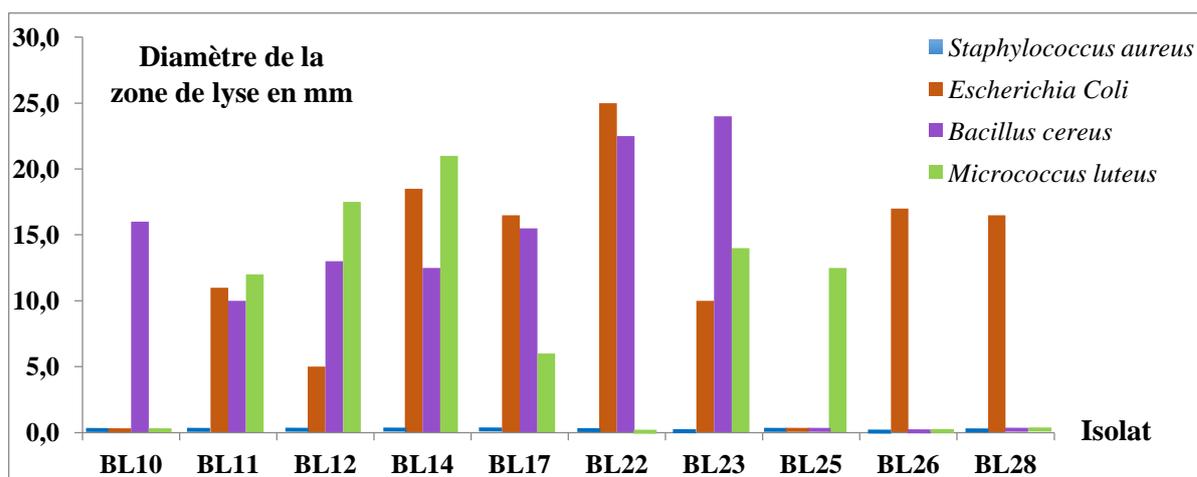
### 5-6- Pouvoir antibactérien

Quatre souches indicatrices d'altération à savoir *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia Coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Micrococcus luteus* (ATCC 4698) sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des isolats lactiques par la méthode de contact directe décrite par (Hernandez *et al.*, 2005). L'inhibition se traduit par la formation d'un halo autour de la souche ensemencée par touche. L'inhibition est considérée comme positive si le diamètre de la zone est supérieur à 2mm (Thompson *et al.*, 1996).

D'après les résultats obtenus (figure 26), il s'avère que 8 souches lactiques possèdent une activité antibactérienne vis à vis d'*Escherichia coli* dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre  $5,0 \pm 7,0$  mm pour l'isolat **BL12** à  $25,0 \pm 4,0$  mm pour l'isolat **BL22**.

7 isolats ont aussi exprimé une activité antibactérienne vis-à-vis de *Bacillus cereus* dont l'inhibition la plus élevée est de  $24,0 \pm 8,5$  mm pour **BL23**. De même, 6 isolats ont montré des inhibitions vis-à-vis *Micrococcus luteus* avec un intervalle de  $6,0 \pm 8,5$  mm à  $21,0 \pm 1,5$  mm.

On a noté l'absence des inhibitions de toutes les souches lactiques vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.



**Figure 26:** Activité antibactérienne (mm) des isolats lactiques

Il faut signaler que cette activité antibactérienne des souches lactiques peut être due à la production de plusieurs agents antibactériens. L'acide lactique et l'acidification du milieu inhibent plusieurs types de bactéries. Aussi, ces souches produisent le diacétyle qui possède aussi un pouvoir d'inhibition. L' $H_2O_2$  libéré par les souches lactiques inhibe les bactéries qui ne possèdent pas des défenses contre le stress oxydatif (Ouwehand et Vesterlund, 2004).

Plusieurs études ont montré l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes (Rodrigues *et al.*, 2005 ; Hernandez *et al.*, 2005).

## 6- Etude des interactions entre les souches lactiques sélectionnées

L'étude des interactions entre les isolats lactiques est nécessaire pour la reconstitution des ferments mixtes qui seront utilisés dans la fabrication de la crème sure.

Après 72 heures d'incubation à  $30^\circ\text{C}$ , l'absence d'une zone de lyse autour souches indique l'absence d'antagonisme entre elles (tableau 18).

**Tableau 18** : Résultats de l'étude des interactions entre les isolas lactiques

Souche	BL10	BL11	BL12	BL14	BL17	BL22	BL23	BL25	BL26	BL28
<b>BL10</b>		+	+	-	-	+	+	+	+	-
<b>BL11</b>	+		+	+	+	-	-	+	-	+
<b>BL12</b>	+	+		-	-	+	+	-	-	-
<b>BL14</b>	-	+	-		-	-	-	-	+	+
<b>BL17</b>	-	+	-	-		+	+	-	+	-
<b>BL22</b>	+	-	+	-	+		+	+	+	-
<b>BL23</b>	+	-	+	-	+	+		-	-	-
<b>BL25</b>	+	+	-	-	-	+	-		-	+
<b>BL26</b>	+	-	-	+	+	+	-	-		-
<b>BL28</b>	-	+	-	+	-	-	-	+	-	

+, résultat positif (symbiose) ; -, résultat négatif : (antagonisme)

Sur la base des résultats obtenus, plusieurs souches présentent des relations symbiotiques entre elles. Pour reconstituer des ferments mixtes, le choix portera sur une souche acidifiante et une autre aromatisante. Lors de cette étude, deux ferments mixtes reconstitués sont utilisés (tableau 19).

**Tableau 19** : Composition des ferments mixtes reconstitués

<b>FMR1</b>	<b>BL10</b>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>Mesenteroides</i>
	<b>BL22</b>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Diacetylactis</i>
<b>FMR2</b>	<b>BL14</b>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>
	<b>BL26</b>	<i>Leuconostoc Lactis</i>

## 7- Aptitudes technologiques des ferments mixtes reconstitués

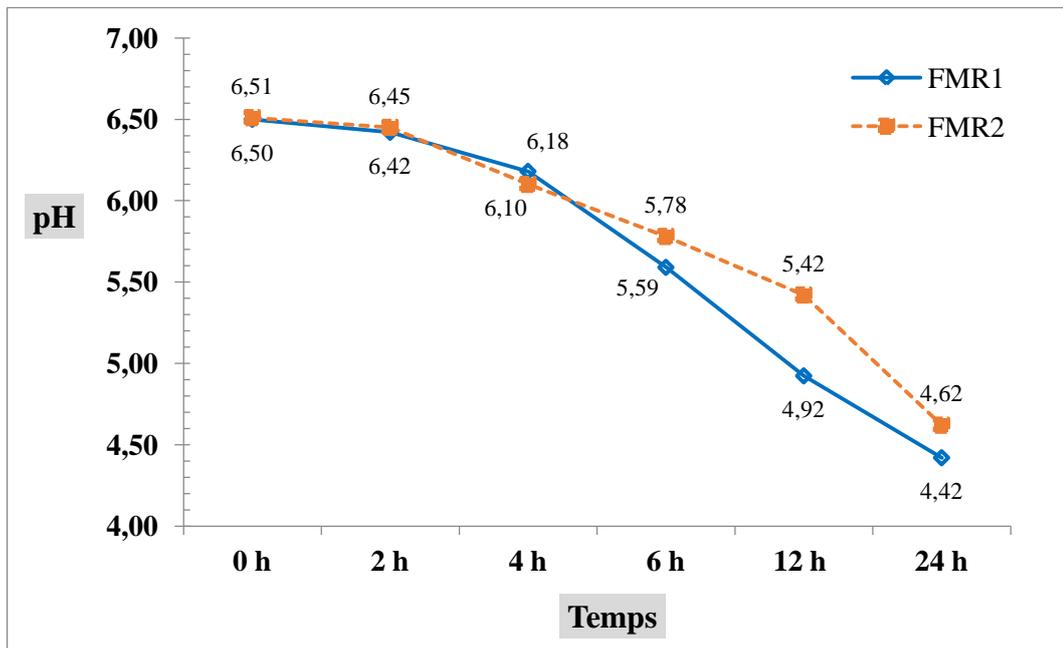
### 7-1- Pouvoir acidifiant

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des ferments lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. En pratique, il convient de prendre en considération deux aspects de la production d'acide lactique : la vitesse et le niveau maximal de production car il existe des différences importantes entre les genres, les espèces et même entre les souches d'une même espèce (De Roissart et Luquet, 1994).

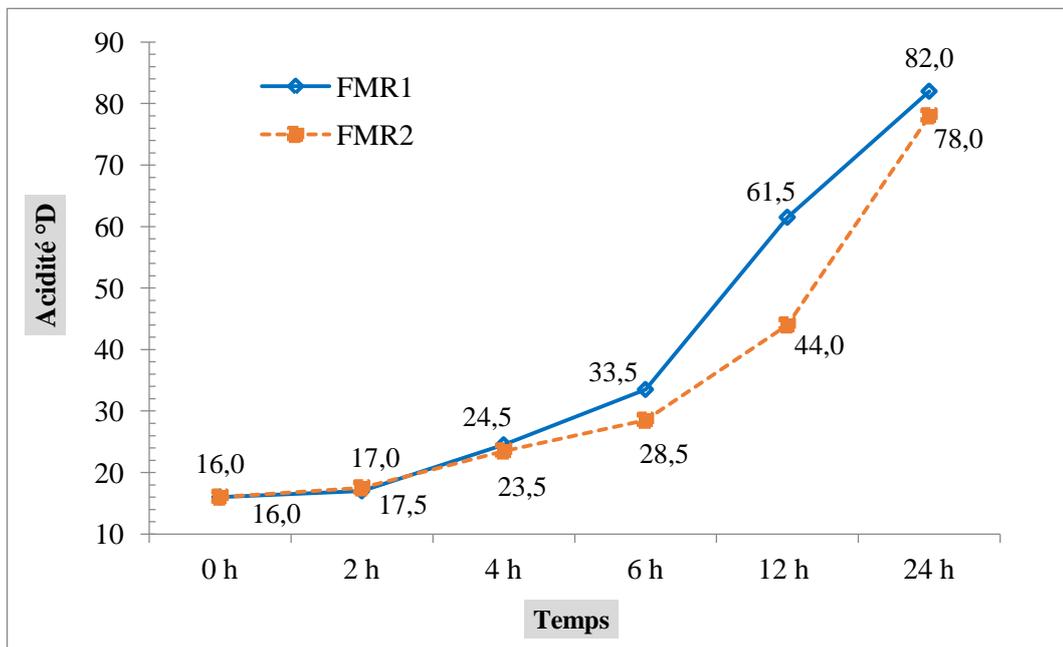
Le suivi du pH et de l'acidité Dornic à 30°C pendant 24 heures du lait écréméensemencé à raison de (1%, v/v) par les deux ferments mixtes reconstitués **FMR1** et **FMR2** est représenté sur les figures 27 et 28.

Les résultats obtenus montrent que les deux ferments mixtes provoquent une diminution du pH du lait au bout de 24 heures d'incubation de  $6,50 \pm 0,01$  à  $4,42 \pm 0,04$  pour le ferment **FMR1** et de  $6,51 \pm 0,01$  à  $4,62 \pm 0,06$  pour le ferment **FMR2**. Cette diminution du pH est accompagnée

par une accumulation de l'acide lactique dont la valeur moyenne de l'acidité Dornic obtenus est de  $82,0 \pm 2,5^{\circ}\text{D}$  pour le ferment **FMR1** et  $78,0 \pm 1,5^{\circ}\text{D}$  pour le ferment **FMR2**.



**Figure 27 :** Evolution du pH à 30°C en fonction du temps des ferments mixtes



**Figure 28 :** Evolution de l'acidité Dornic à 30°C en fonction du temps des ferments mixtes

A  $t_0$ , l'acidité moyenne du lait est de  $16,0 \pm 0,5^{\circ}\text{D}$  alors que le pH est de  $6,50 \pm 0,01$ . Après 2 heures d'incubation, aucun changement n'est observé. Cette phase correspond probablement à la latence, nécessaire à l'adaptation des souches à leur milieu comme cela a été suggéré par Mannu *et al.* (2000).

Après 6 heures d'incubation, les deux ferments **FMR1** et **FMR2** sont légèrement plus acidifiants, les valeurs d'acidité respectives sont  $33,5 \pm 1,5^\circ\text{D}$ ,  $28,5 \pm 0,5^\circ\text{D}$ , et celles du pH sont  $5,59 \pm 0,02$ ,  $5,78 \pm 0,04$ . Après 24 heures, il apparaît que la production d'acides responsable de l'abaissement du pH est plus prononcée. Ces résultats sont en concordance avec les résultats trouvés par Cogan (1980), NoveL (1993) et Champagne *et al.*, (2000).

### 7-2- Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des cultures mixtes a été recherchée sur gélose *Plate Count Agar* (PCA) additionnée de lait écrémé à 10% (p/v). Après incubation, cette activité s'est manifestée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies. On a constaté que sans exception, les deux ferments **FMR1** et **FMR2** ont exprimé une activité protéolytique importante avec un diamètre de lyse de  $33,5 \pm 3,0\text{mm}$  et  $42,5 \pm 2,0\text{mm}$  respectivement (tableau 20).

Toutefois, il est important de garder à l'esprit que les souches très protéolytiques ne sont pas toujours les plus appropriées pour servir comme ferments lactiques. Une protéolyse excessive peut entraîner la production incontrôlée de peptides amers et autres composés indésirables (Buffa *et al.*, 2005).

L'activité protéolytique dépend en partie de la composition chimique du milieu de culture (Zadi-Karam, 1998 ; Drici, 2000 ; Hassaine, 2013). D'autres travaux ont démontré aussi l'existence d'une relation directe entre l'expression de cette activité protéolytique et la composition du milieu de culture et particulièrement sa teneur en peptides libres (Marugg *et al.*, 1995 ; Meijer *et al.*, 1996).

### 7-3- Pouvoir lipolytique

Comme pour les cultures pures testés, les résultats obtenus montrent que les deux ferments mixtes reconstitués **FMR1** et **FMR2** présentent aussi une faible activité lipolytique avec des valeurs  $4,5 \pm 0,5\text{mm}$  et  $5,5 \pm 1,5\text{mm}$  respectivement (tableau 20).

### 7-4- Pouvoir aromatisant

La plupart des composés aromatiques sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (François *et al.*, 2007).

La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface sur milieu Clark et Lubs. Pour les ferments mixtes, les résultats enregistrés révèlent que les deux ferments reconstitués **FMR1** et **FMR2** sont producteurs d'acétoïne, donc ils ont un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés (tableau 20).

#### 7-4- Pouvoir texturant

L'apparition de colonies larges et gluantes à été enregistrée uniquement pour le ferment mixte codé **FMR2**. Chamba (2008) a rapporté que les lactocoques comme les leuconostocs sont capables de produire des EPS (tableau 20).

**Tableau 20** : Résultats enregistrés de l'évaluation des aptitudes technologiques des deux ferments mixtes **FMR1** et **FMR2**

	Pouvoir protéolytique	Pouvoir lipolytique	Pouvoir aromatisant	Pouvoir texturant
<b>FMR1</b>	33,5±3,0mm	4,5±0,5mm	+	-
<b>FMR2</b>	42,5±2,0mm	5,5±1,5mm	+	+

#### 8- Contrôle de qualité de la crème sure

Le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini, ils contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits fermentés ainsi que leur qualité hygiénique. L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (Carminati *et al.*, 2010).

La sélection d'un ferment lactique est réalisée sur la base de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur. Ces critères relèvent habituellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leurs performances, de leurs propriétés probiotiques éventuelles et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée. Enfin, leur robustesse, notamment lors des différentes phases de leur production, constitue le critère ultime de sélection.

Cette sélection nécessite, de nombreux essais à l'échelle industrielle. La performance d'un ferment est estimée par la réalisation de fabrications, tout d'abord en laboratoire, sur de faibles quantités de matières premières.

Lorsque le ferment semble satisfaisant, il est ensuite testé, avec des quantités plus importantes de matières premières et un procédé plus proche d'une production industrielle (Corrieu et Luquet, 2008).

Après avoir utilisé les ferments mixtes mésophiles reconstitués dans la fabrication de la crème sure (Figure 28), un contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique a été effectué.



**Figure 29** : Aspect de la crème sure fabriquée avec les deux ferments mixtes

### 8-1- Analyse physicochimique

La crème sure fabriquée à partir des deux ferments **FMR1** et **FMR2** a montré une acidification importante après 24 heures d'incubation, le pH enregistré pour les deux ferments est de  $4,33 \pm 0,07$  et  $4,89 \pm 0,01$ , respectivement. Tandis que la valeur de l'acidité Dornic est de  $87,0 \pm 1,5^{\circ}\text{D}$  et  $79,5 \pm 0,5^{\circ}\text{D}$ .

L'un des plus importants paramètres physicochimiques de la crème sure est sa teneur en matière grasse et aussi en humidité. Les résultats enregistrés par l'analyseur **Food Scan™ - FOSS** avant ensemencement en ferments mixtes sont  $39,55 \pm 0,13\%$  de matière grasse et  $51,95 \pm 0,06\%$  d'humidité (tableau 21).

Les analyses obtenues de la matière sèche totale et de l'extrait sec dégraissé dans la crème sure sont respectivement  $48,05 \pm 0,06\%$  et  $8,50 \pm 0,13\%$ .

Ces valeurs se trouvent dans l'intervalle de valeurs recommandées par Kosikowski et Mistry (1997) et Costello (2009).

**Tableau 21:** Résultats des analyses physicochimiques de la crème sure

Paramètre	Résultat
MG (%)	$39,55 \pm 0,13$
EST (%)	$48,05 \pm 0,06$
ESD (%)	$8,50 \pm 0,13$
Humidité (%)	$51,95 \pm 0,06$

### 8-2-Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique de la crème sure fabriquée par utilisation des deux ferments mixtes mésophiles a montré une absence de charge microbienne (tableau 22), donc ces produits sont conformes aux normes algériennes (JORA N° 35 du 27-05-1998). Le produit

fabriqué est de qualité hygiénique satisfaisante ceci peut être dû au traitement thermique qui a pour but de détruire les germes pathogènes et à l'effet de l'acidification obtenue par fermentation lactique.

**Tableau 22:** Résultats de l'analyse microbiologique de la crème sure

<b>Nombre (UFC/ml)</b> <b>Germes</b>	<b>Crème sure (FMR1)</b>	<b>Crème sure (FMR2)</b>	<b>Norme nationale</b>
FTAM	Abs	Abs	$3.10^4$
Coliformes totaux	Abs	Abs	$10^2$
Coliformes fécaux	Abs	Abs	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	10

---

# Conclusion

---

Les objectifs de cette recherche sont, principalement, l'isolement, la purification et la caractérisation physiologique et biochimique de la microflore lactique indigène du beurre cru traditionnel algérien. Etudier les aptitudes technologiques des isolats puis reconstitution de ferments mixtes mésophiles et leurs utilisations dans la fabrication de la crème sure.

Les analyses physicochimique et microbiologique du lait cru et du beurre traditionnel ont mis en évidence une insuffisance de la qualité hygiénique. A partir du beurre cru, 64 souches ont été isolées et purifiées mais seulement une trentaine d'isolats est caractérisé. En se basant sur les résultats phénétiques, elles sont incluses dans cinq genres : *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactobacillus*. Une dominance du genre *Enterococcus* est notée.

L'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH a aboutit à la caractérisation de sept souches lactiques ; deux souches sont des *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides*, deux *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*, une souche de *Leuconostoc lactis*, une souche de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis*, et une souche *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*. Il faut noter que l'identification phénotypique est très limitée, et l'utilisation des techniques moléculaires permet mieux d'affilier les isolats à leur réel taxon.

L'évaluation des aptitudes technologiques a mis en évidence l'existence de bonnes fonctionnalités technologiques chez les dix isolats testés. Cependant, ces pouvoirs varient selon le genre de la souche. Elles sont également dotées d'activités antibactériennes vis-à-vis de bactéries pathogènes ou d'altérations.

L'étude des interactions entre les isolats, a permis de reconstituer deux ferments mixtes mésophiles caractérisés par l'existence de symbiose entre les deux partenaires. Le premier ferment FMR1 constitué de *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides* et de *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*, et le second FMR2 formé de *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* et de *Leuconostoc lactis*.

L'évaluation des aptitudes technologiques des ferments mixtes montre que les deux ferments présentent des aptitudes technologiques importantes. Les caractères technologiques des deux ferments sont satisfaisants pour une utilisation en industrie alimentaire. Ils possèdent une activité acidifiante importante, produisent des arômes et sont dotés d'activité protéolytique. Cependant, ils présentent une faible activité lipolytique et le ferment mixte codé FMR2 ne produit pas d'exopolysaccharides.

L'évaluation de la qualité de la crème sureensemencée par les ferments mixtes montre une bonne qualité hygiénique qui répond aux normes fixées par la réglementation nationale (JORA N° 35 du 27-05-1998).

Enfin, ces résultats peuvent être très intéressants du point de vue technologique et économique.

### **Perspectives**

- Utilisation de nouvelles techniques d'identification moléculaires et génotypiques (SDS-PAGE, HPLC, DGG, etc.) des bactéries lactiques ou d'autres bactéries qui ont une valeur technologique ;
- Exploitation des ferments locaux identifiés par des approches moléculaires dans les industries agro-alimentaires ;
- Le développement d'un laboratoire de production des ferments locaux à grande échelle et d'un centre de collection de souches locales.

---

# **Références bibliographiques**

---

- ALONSO-CALLEJA C., CARBALLO J., CAPITA R., BERNARDO A., GARCIA-LOPEZ M.L.** 2002. Changes in the microflora of Valdeteja raw goats milk cheese throughout manufacturing and ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, vol. 35, p. 222-232.
- AMIOT J., PAUL P., FOURNIER S., REBEUF Y., SIMPSON R.** 2010. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Dans : VINGOLE C.L. *Science et technologie du lait, transformation du lait*, n°1, p. 1-73.
- AMMOR S., DUFOUR E., ZAGOREC M., CHAILLOU S., CHEVALLIER I.** 2005. Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *J. Food Microbiol*, vol. 22, p. 529-538.
- ANGERS P.** 2010. Beurre et fractions de matière grasse laitière. Dans : VIGNOLA C.L. *Science et Technologie du Lait*. Fondation de technologie laitière, Presses internationales polytechnique : Québec, p. 323-347.
- AXELSSON L.** 2004. Lactic acid bacteria; microbiological and functional aspect. 3rd Rev. and Exp. New York : Marcel Dekker, p. 1-66.
- BACHMANN H., STARRENBURG M. J., MOLENAAR D., KLEEREBEZEM M., VAN HYLCKAMAV J. E.** 2012. Microbial domestication signature of *Lactococcus lactis* can be reproduced by experimental evolution. *Genome Research*, vol. 22, p. 115-24.
- BADIS A., GUETARNI D., MOUSSA B.B., HENNI D.E., KIHAL M.** 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol*, vol. 21, p.579–588.
- BEAL C., MARIN M., FONTAINE E., FONSECA F., OBERT J.P.** 2008. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. Dans : CORRIEU G., LUQUET F.M. *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*, Paris : Tec & Doc, Lavoisier, p. 661-765.
- BEERENS H. ET LUQUET M.F.,** 1987. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Paris : Tec &Doc, Lavoisier, p. 1-144.

- BEHARE P.V., SINGH R. R., NAGPAL M., KUMAR S.K., TOMARAND J.B., PRAJAPAT I.** 2009. Comparative effect of exopolysaccharides produced *in situ* or added as bio-ingredients on dahi properties. *Milchw issenschaft*, vol.64, p.396-400.
- BEKHOUCHE F.** 2006. Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état : Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro- alimentaires (INATAA) : Constantine, Algérie, p. 21-22.
- BENKERROUM N., TAMIME A.Y.** 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Iben, jben and smen) to small industrial scale. *Journal of Food Microbiol*, vol. 21, p. 399-413.
- BOUBLENZA F.** 201. Etude du stress osmotique chez des lactocoques isolés de lait de chamelle de Timimoun, Thèse de Doctorat en Biotechnologie : Faculté Des Sciences Département de Biotechnologie : Université d'Oran, p .33-44.
- BOUTONNIER J.L.** 2007. Matière grasse laitière – crème et beurre standard. Villefranche-de-Rouergue, France : Techniques de l'ingénieur, p. 1-16.
- BRADLEY R.L., ARNOLD E., BARBANO D.M., SEMERAD R.G., SMITH D.E., VINES B.K.** 1992. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Dans: **MARSHALL T.** *Chemical and physical methods, American Public Health Association, USA: Washington DC*, p. 433–531.
- BROADBENT J.R., MCMAHON D.J., WELKER D.L., OBERG C.J., MOINEAU S.** 2003. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*, *Journal of Dairy Science*, vol. 86, n° 2, p. 407-423.
- BROWN J.H.** 1919. The use of blood agar for the study of streptococci, vol. 9. New York: The Rockefeller Institute for Medical Research.
- BRUSETTI L., MALKHAZOVA I., MORA D., BORIN S., MERABISHVILI M., ZACCARIA A., COLNAGO D., CHANISHVILI N., DAFFONCHIO D.** 2008. Fluorescent-Box-PCR, an improved tool for resolving bacterial genetic diversity and biogeography studies. *BMC Microbiol*, vol. 8, p. 220-232.

- BUFFA M.J., MORAIS A., JIMENEZ-BELENGUER E., HERNANDEZ-GIMENEZ B., GUAMIS.** 2005. Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from rawewes' milk for cheese making. *Milchwissenschaft*, vol. 61, p.404–407.
- CARMINATI D., GIRAFFA G., QUIBERONI A., BINETTI A., SUAREZ V. REINHEIMER J.** 2010. Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations, Dans: **MOZZI F.**, *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications*, USA: Wiley-Blackwell Publishing, p. 393.
- CARR F.J., CHILI D., MAIDA N.**, 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol*, vol. 28, n°4, p. 281-370.
- CERNING J.** 1995. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria, *Lait*, vol.75, n° 4, p. 463-472.
- CHAMPAGNE C.P., MOINEAU S., LANGE M., GELIN AS P., AUDET P.** 2000. Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière. Ed. Fondation des Gouverneurs, p 210.
- CHANDAN R.C., KILARA A.** 2011. Dairy Ingredients for Food Processing. USA : WILEY-BLACKWELL, p. 387-421.
- CHANDAN R.C., KILARA A., SHAH N. P.** 2008. Dairy Processing & Quality Assurance, USA : Wiley-Blackwell, p. 95.
- CHAMPAGNE C.P., MOINEAU S., LANGE M., GELIN A.S.P., AUDET P.** 2000. *Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière*. Fondation des Gouverneurs, p 210.
- CHOLET O.** 2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat : Institut National Agronomique Paris-Grignon : Ecole Doctorale ABIES : UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA. p.16.
- COCAIGN-BOUSQUET M., GARRIGUES C., LOUBIERE P., LINDLEY N.D.** 1996. Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcus lactis*, *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 70, p. 253–267.

- COGAN T. M., BARBOSA M., BEUVIER E., BIANCHI-SALVADORI B., COCCONCELLI P. S., FERNANDES I. 1997. Characterization of lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, vol. 64, p. 409–421.
- COLLINS M.D., FARROW J.A.E., PHILLIPS B.A., FERUSU S., JONES D. 1987. Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and Some Catalase-Negative, Asporogenous, Rod-Shaped Bacteria from Poultry in a new genus, *Carnobacterium*, *Int. J. Syst. Bacteriol*, vol. 37, p.310-316.
- CORRIEU G., LUQUET F.M. 2008. Bactéries lactiques : De la génétique aux ferments (Coll, Sciences et techniques agroalimentaires). Paris. France: Lavoisier, Tec & Doc.
- COSTELLO M.J. 2009. Sour Cream and Related Products. Springer Science Business Media, p.403-426.
- DACOSTA Y. 2000. La bioconservation des aliments. L'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologiques. Paris : Yves Dacosta, p. 196.
- DALGAARD P. 2003. Identification of lactic acid bacteria from spoilage associations of cooked and brined shrimps stored under modified atmosphere between 0°C and 25°C. *J Appl Microbiol*, vol. 94, p. 30-89.
- DELLAGLIO F., ROISSARD H., TORRIANI S., CURK MC., JANSSENS D. 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans : ROISSARD H., LUQUET FM. Dans *Bactéries lactiques*. Lorica : Uriage, p. 25-116.
- DE ROISSART H., LUQUET F.M. 1994. Bactéries lactiques -Aspect fondamentaux et technologiques, Lorica, vol. 2, p. 87-93.
- DE VOS W.M. 1996. Metabolic engineering of sugar catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 70, p. 223–242.
- DEVRIESE L.A., VANCANNEYT M., DESCHEEMAER P., BAELE M., VAN LANDUYT H.W., GORDTS B., BUTAYE P., SWINGS J., HAESEBROUCK F. 2002. Differentiation and identification of *Enterococcus durans*, *E. hirae* and *E. villorum*, *Journal of Applied Microbiol*, vol. 92, p. 821-827.
- DOLEYRES Y. 2003. Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées. Thèse du grade de Philosophiae Doctor : sciences des

aliments et de nutrition : Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation : Université LAVAL - QUÉBEC.

**DORTU C.** 2008. Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires. Thèse de doctorat d'état : Université des sciences agronomiques de Gembloux, Belgique, p. 5.

**DRICI H.** 2001. Etude biochimique de la protéolyse chez *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* et recherche du support génétique des protéases. Thèse de Magister : Université d'Oran-Sénia.

**DUDEZ P., SIMON D., FRANÇOIS M.** 2002. Transformer les produits laitiers frais à la ferme, Educagri, p. 91, 94, 95, 96.

**EDIMA HELENE C.** 2007 : *Carnobacterium maltaromaticum* : caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. INPL .Institut National Polytechnique de Lorraine : Université de Ngaoundéré, Cameroun.

**ELMARRAKCHI A., BERRADA M., CHAHBOUN M., BENBOUHO M.** 1986. Etude chimique du smen marocain. Département d'Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale (HIDAOA) : Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202-Rabat-Instituts : Maroc. Section de Technologie alimentaire du même Institut. Le Lait, vol. 66, n° 2, p. 117-120.

**FDA .** 2008. Code of Federal Regulation. Food and Drug Administration. Title 21. Washington, D.C. p, 352.

**FALAGAS M.E., BETSI G.I., ATHANASIOU S.** 2006. Probiotics for prevention of recurrent vulvo vaginal candidiasis. J Antimicrob Chemother, vol.58, p. 266-272.

**FAYE B., LOISEAU G.** 2002. Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. CIRAD, FAO, Montpellier Cedex, n°5, p. 1-5.

**FELIS G.E., DELLAGLIO F.** 2007. Taxonomy of Lactobacilli and *Bifidobacteria*. Curr. Issues Intestinal Microbiology, vol. 8, p. 44-61.

**FOULQUIE -MORENO MR., SARANTINOPOULOS P., TSAKALIDOU E., DE VUYST L.** 2006 .The role and application of Enterococci in food and health. International Journal of Food Microbiology, vol. 106, p.1-24.

- FRANCOIS Z.N. N., FLORANCE F.A., PAUL M.F., FELICITET M., EL SODA M., 2007. Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starters cultures. *Biotechnol*, vol.6, n°1, p. 14-21.
- FRANZ C.M.A.P., STILES M.E. 2003. Enterococci in foods - a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology. Functional and Safety Aspects*, vol. 88, p. 105-122.
- FREDOT E. 2005. *Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique*. Paris: TEC & DOC, Lavoisier, p. 295-304.
- GARVIE E.I. 1986. Genus *Pediococcus* Claussen 1903, Dans: Williams and Wilkins, Baltimore: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, p 1075-1079.
- GELMAN A., DRABKIN V., GLATMAN L. 2000. Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products starter cultures for new fish based food products. *Emerg. Technol*, vol. 1, p. 219-622.
- GIRAFFA G. 2003. *Functionality of Enterococci in dairy products*. *Int. J. Food Microbiol.* vol. 88, p. 215-222.
- GONZALEZ-RODRIGUEZ M.N., SANZ J.J., SANTOS J.A., OTERO A., GARCIA-LOPEZ M.L. 2002. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. *J. Food Microbiol*, vol. 17, p. 161-168.
- GOURBEYRE P., DENERY S., BODINIER, M. 2011. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *J Leukoc Biol*, vol. 85, p. 685-695.
- GRATTEPANCHE F. 2005. *Etude d'un système de préfermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle*. Thèse Ph.D. Université Laval : Québec, PQ : Canada.
- GUIRAUD J.P. 2003. *Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie*, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p. 387-433.

- GUTMANN I., WAHLEFELD AW. 1974. L (+) lactate: determination with lactic dehydrogenase and NAD. Dans: BERGEMEYER H.U. *Methods of enzymatic analysis*. 2<sup>ème</sup> édition. London. New York: Académie Press, p.1452-1456.
- HAMAMA A. 1989. Qualité bactériologique des fromages frais marocains. Option méditerranéennes, Série séminaire n°6, p. 223-227.
- HAMMES W.P., HERTEL C. 2009. *Genus I. Lactobacillus Beijerinck 1901*, Dans: DE VOS P., GARRITY G.M, JONES D., KRIEG N.R., LUDWIG W., RAINEY F.A., SCHLEIFER K.H., WHITMAN W.B. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Berlin: Springer, vol. 3, n°2, p. 465–510.
- HANSEN M., KRAGELUND L., NYBROE O., SORENSEN J. 1997. Early colonization of barely roots by *Pseudomonas fluorescens* studied by immunofluorescence technique and confocal laser scanning microscopy. *FEMS Microbiol. Ecol*, vol. 23, p. 353-360.
- HASSAINE O. 2013. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran-Essenia, p. 57-102.
- HERNANDEZ D., CARDELL E., ZARATEV. 2005. Antimicrobial activity of lactiaid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *J Appl Microbiol*, vol. 99, p. 77–84.
- HO T.N.T., TUAN N., DESCHAMPS A., CAUBET R. 2007. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam: Workshop on Food Safety and Processing Technology, p. 134-142.
- HOLS P., HANCY F., FONTAINE L., GROSSIORD B., PROZZI D., LEBLOND-BOURGET N., DECARIS B., BOLOTIN A., DELORME C., EHRLICH S.D., GUEDON E., MONNET W., RENAULT P., KLEEREBEZEM M. 2005. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiol*, vol. 29, p. 435-463.
- HOLZAPFEL W.H., GERBER E.S. 1983. *Lactobacillus* heterofermentative species producing l(+) lactate. *Syst. Appl. Microbiol*, vol. 4, p. 522-534.

- HÖLZAPFEL** W.H., **HABERER** P., **GEISEN** R., **BJÖRKROTH** J., **SCHILLINGER** U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms. *J. Food and Nutrition*, vol. 73.n°2, p. 365-373.
- HÖLZAPFEL** W.H., **FRANZ** C., **LUDWIG** W., **DICKS** L.M.T. 2009. Genus I. *Bacillus Cohn* 1872. Dans: **DE-VOS** P., **GARRITY** G., **JONES** D., **KRIEG** N., **LUDWIG** W., **RAINEY** F. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Berline: Springer, p. 21–128.
- HÖRVATH** P., **COUTE-MONVOISIN** AC., **ROMERO** DA., **BOYAVAL** P., **FREMAUX** C., **BARRANGOU** R. 2009. Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *Int J Food Microbiol*, vol. 131, p. 62–70.
- HÜGENHOLTZ** J., **SYBESMA** W., **GROOT** M. N., **WISSELINK** W., **LADERO** V., **BURGESS** K., **VAN SINDEREN** D., **PIARD** J.C., **EGGINK** G.J., **SMID** E., **SAVOY** G., **SESMA** F., **JANSEN** T., **HOLS** P. 2002. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 82, p. 217-235.
- IDOUI** T. 2008. Les bactéries lactiques indigènes: Isolement, identification et propriétés technologiques. Effet probiotiques chez le poulet de chair ISA15, le lapin de souche locale et le rat Wistar. Thèse de Doctorat d'Etat : Université d'Oran : Algérie, p.179.
- ISHIBASHI** N., **YAESHIMA** T., **HAYASAWA** H. 1997. *Bifidobacteria*: their significance in human intestinal health. *Mal. J. Nutr*, vol. 3, p. 149-159.
- JEANTET** R., **CROGUENNEC** T., **SCHUCKM** P., **BRULE** G. 2008. Science des aliments: tome 2, technologie des produits alimentaires. Paris : Tec & Doc, Lavoisier, p. 58-59.
- JORA** n° 32 du 23 mai 2004. Arrêté du 27 mars 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des organismes microbiens pour le lait fermenté.
- KAILASAPATHY** K., **STEPHANIE** R.P. 2008. Chemical, Physical, and Functional Characteristics of Dairy Ingredients. Dans: **CHANDAN** R.C., **KILARA** A. *Dairy ingredients for food processing*, Wiley-Blackwell, p. 36.
- KAILASAPATHY** K. 2011 . Chemical Composition, Physical and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients, Dans : **CHANDAN** R.C., **KILARA** A., **SHAHN** P. *Dairy Processing and Quality Assurance*, Wiley -Blackwell, Ames, p. 75 – 103.

- KALLIOMAKI M., SALMINEN S., ARVILOMMI H., KERO P., KOSKINEN P., ISOLAURI E.** 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, vol. 357, p. 1076-1079.
- KARAM N.**1995. Constitution d'un soucier de bactéries lactiques à intérêt biotechnologique: étude biochimique et moléculaire. Thèse de Doctorat d'Etat, Université d'Oran : Algérie., P.212.
- KEOGH M.K.** 2006. *Advanced Dairy Chemistry, Chemistry and technology of better and milk fat spreads*. 3<sup>ème</sup>Edition. Cork, Ireland: Springer Science, University College, Vol. 2 p. 333-355.
- KLAENHAMMER T.R., BARRANGOU R., BUCK B.L., AZCARATE-PERIL M.A., ALTERMANN E.** 2005. Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiol*, vol. 29 n°3, p. 393–409.
- KORNACKI J.L., FLOWERS R.S., ROBERT L., BRADLEY J.R.** 2001. Microbiology of butter and related products. Dans: **MARTH E.H., STEELE J.L.** *Applied dairy Microbiol*, 2<sup>ème</sup> édition, revised and expanded, p.128.
- KOSIKOWSKI F.V., MISTRY V.V.** 1997. Buttermilk, sour cream and ripened butter. Dans : **KOSIKOWSKI F.V., WESTPORT C.T.** *Cheese and Fermented Milk Foods*, Vol. 1, Origins and Principles, p. 75–86.
- LAHSAOUI S.,** 2009. Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien (Kilila). Thèse de doctorat d'état : Département d'Agronomie : Université de Batna. Algérie.
- LAHTINEN S., SALMINEN S., OUWEHAND A., WRIGHT A.V.** 2011. Lactic acid bacteria, Microbiological and functional aspects. 4<sup>ème</sup> édition. Boca Raton : CRC Press.
- LAIRINI S., BEQQALI N., BOUSLAMTI R., BELKHOUS ZERROUQF R.** 2014. Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir, vol. 10, n°4, p. 267-277.
- LAMONTAGNE M., CHAMPAGNE C.P., GARDNER N.** 2010. Microbiologie du lait. Dans : **VIGNOLA C.L.** *Science et technologie du lait*. Fondation de technologie laitière. Québec : Presses internationales polytechniques, p.75-153.

- L**EBRES A.D., HAMZA A. 2002. Cours national d'Hygiène et de microbiologie des aliments «Microbiologie des laits et produits laitiers. Institut Pasteur d'Algérie.
- L**E QUELLEC J.L., TREAL C., RUIZ J.M. 2006. *Maisons du Sahara: habiter le désert*, Hazan, Paris, p.180.
- L**EROY F., DE VUYST L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *The Food Sci. Technol*, vol. 15, p. 67-78.
- L**EVEAU J.Y., BOIUX M., DE ROISSART H.B., 1991. La flore lactique: technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. 2eme Ed., Paris: Tec & Doc, Lavoisier, vol 3, p. 2-40
- L**IU S.Q., HOLLAND R., CROW V L., 2001. Purification and properties of intracellular esterases from *Streptococcus thermophilus*. *International Dairy Journal*, vol. 11, p. 27-35.
- L**IU S. 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations, *J. Food*, vol. 83, n°2, p. 115-131.
- L**OOIJESTEIJN P.J., TRAPET L., DEVRIES E., ABEE T., HUGENHOLTZ J. 2001. Physiological function of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*. *Int J Food Microbiol*, vol. 64, p.71-80.
- L**OUBIERE P., COCAIGN-BOUSQUET M. 2009. Métabolisme des bactéries lactiques: devenir du carbone. Dans *Bactéries Lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*. Paris, France: Drider, D. and Prévost, H, p. 29-50.
- L**UQUET F.M., CORRIEU G., 2005. *Bactéries lactiques et probiotiques*. Paris : Tec & Doc, Lavoisier, p. 3-37.
- L**YSIANE D. 2012. *Stratégies de limitation du portage sain des Escherichia coli producteurs de Shigatoxines (STEC) par les bovins. Potentiel bio-protecteur des bactéries lactiques en alimentation animale*. Thèse de Doctorat, école doctorale sciences de la vie, santé, agronomie, environnement : Université Blaise Pascal, France, p. 81.
- M**AHAUT M., JEANTET R., BRULÉ G. 2000. *Les produits laitiers*. LONDRES-PARIS-NEW YORK : Lavoisier, Tec & Doc.

- MAKHLOUFI K.M.** 2011. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat : université Pierre et Marie Curie : France, p. 08-10.
- MANNU L., COMUNIAN R., SCINTU M. F.** 2000. Mesophilic lactobacilli in Fiore Sardo cheese: PCR-identification and evolution during cheese ripening. *International Dairy Journal*, vol.10, p. 383-389.
- MARTH E.H., STEELE J.L.** 2001. *Applied Dairy Microbiologie*. 2<sup>ème</sup> édition, New york: revised and expanded, p. 127
- MARUGG J. D., MEIJER W., VAN KRANENBURG R., LAVERMAN P., UINENBERG B.R., DE VOS W. M.** 1995. Medium-dependent regulation of proteinase gene expression in *Lactococcus lactis*: control of transcription initiation by specific dipeptides. *J Bacteriol*, vol. 177, p. 2982-2989.
- MATHARA J.M., SCHILLINGER U., KUTIMA P.M., MBUGUA S.K. HOLZAPFEL W.H.** 2004. Isolation, identification and characterisation o the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int. J .Food Microbiol*, vol. 94, n° 3, p. 269-278.
- MEIJER W. C., MARRUG J. D., HUGENHOLTZ J.** 1996. Regulation of proteolytic enzyme activity in *Lactococcus lactis* . *Appl Environ Microbiol*, vol. 62, p.156-161.
- MERIGAUD J., LEMOINE T., AGUER D.** 2009. *Lait et produits laitiers*. Élaborée par le Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition, p. 12-13.
- MEUNIER-GODDIK L.** 2004. Sour cream and creme fraiche. Dans : MEUNIER-GODDIK Y.H., HANSEN L., JOSEPHSEN A. S., NIP J., STANFIELD W.K., Toldra P.S. F. *Handbook of Food and Beverage Technology Hui*, New York : Marcel Dekker, Inc, p. 147–158.
- MOHR J., BAUR. K.** 1949. Aspects scientifiques de la fabrication continue du beurre. France : hal-00928086. *Le Lait*, 1953, vol. 33. p.142-152.
- MONTEL M.C., CHAMPOMIER M.C.** 1987. Arginine catabolism in Lactobacillits sake isolated from meat: *Environ Microbiol*, vol. 53, p. 2683-2685.143.

- MÜLLER T.** 1990. Comparison of methods for differentiation between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Zentralbl. Mikrobiol*, vol.145, p. 363–366.
- MUTO A., OSAWA S.,** 1987. The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacterial evolution. *U S A: Proc Natl Acad Sci*, vol. 84, p. 166-169.
- MIELSEN D.S., JACOBSEN T., JESPERSEN L., KOCH A.G., ARNEBORG N.** 2008. Occurrence and growth of yeasts in processed meat products -Implications for potential spoilage. *Meat Science*, vol. 80, p. 919-926.
- NOVEL G.** 1993. Les bactéries lactiques in "Microbiologie industrielle" Les microorganismes d'intérêt industriel, Paris : Techniques et Documentation Lavoisier, p. 171-215.
- OUADGHIRI M.** 2009. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine. Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire, Université Mohammed V-agdal : Faculté des sciences Rabat : Maroc, p 43-54.
- OSULLIVAN L., ROSS R.P., HILL C.** 2002. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, vol. 84, p. 593-604.
- OUWEHAND A.C., VESTERLUND S.** 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. Dans: SALMINEN S., OUWEHAND A., VON WRIGHT A. *Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects*, 3eme edition. New York : Marcel Dekker, p. 375–395.
- PAUL A.** 2010, beurre et fractions de matière grasse laitière, Dans: VINGOLE C.L. *Science et Technologie du lait*, presses polytechnique, n°5, p. 323-347.
- PARTRIDGE J.** 2008. fluid milk products, Dans : RAMECH C., CHANDAN A.K., NAGENDRA P.S. *dairy processing and quality assurance*, John Wiley. Sons, Inc. ISBN, p. 209.
- PETRY S., FURLANA S., WAGHORNEC E., SAULNIERD L., CERNING J., MAGUIN E.** 2003. Comparison of the thickening properties of four *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides, *FEMS Microbiol Letter*, vol. 221, p. 285-291.

- PICARD C., FIORAMONTI J., FRANCOIS A., ROBINSON T., NEANT F., MATUCHANSKY C.** 2005. *Bifidobacteria* as probiotic agents - physiological effects and clinical benefits. *Aliment Pharmacol Ther*, vol. 22, p. 495-512.
- PILET M.F., CALVEZ S., BROLLET A., PREVOST H.** 2009. Applications alimentaires : Produits fermentés. In *bactéries lactiques- Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*. Economica, p. 520-537.
- PIROTTA M., GUNN J., CHONDROS P., GROVER S., O'MALLEY P., HURLEY S., GARLAND S.** 2004. Effect of *Lactobacillus* in preventing post-antibiotic vulvo vaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ*, p. 329-548.
- POULIOT M., MICHEL J.C., RICHARD J.** 2010. Lait de consommation Dans : **VINGOLE C.L.** *Science et Technologie du lait*, presses polytechnique, n°4, p. 277-347.
- RENOUF V., CLAISSE O., MIOT-SERTIER C., LONVAUD-FUNEL A.** 2006. Lactic acid bacteria evolution during winemaking: Use of *rpoB* gene as a target for PCR-DGGE analysis. *Food Microbiol*, vol 23, p.136-145.
- RICCIARDI A., CLEMENTI F.** 2000. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structure, production and technological applications. *Irai JFood Sci*, vol. 12, p. 22-45.
- ROBINSON R. K.** 2002. *Dairy Microbiology Handbook*, third Edition, New York USA: John Wiley and Sons, p.764.
- RODRIGUES E., CALZADA J., ARQUES J.L., RODRIGUES J.M., NUNEZ M. MEDINA M.** 2005. Antimicrobial activity of Pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 in cheese, *Int. Dairy JI*, vol.15, p. 51-57.
- RUAS-MADIEDO P., HUGENHOLTZ J., ZOON P.** 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, *International Dairy J*, vol. 12, n°2-3, p.163-171.
- RUIZ-MOYANO S., MARTIN A., BENITO M.J., NEVADO F.P., CORDOBA M.** 2008. Screening of lactic acid bacteria and Bifidobacteria for potential probiotic in Iberian dry fermented sausages. *Meat Science*, vol. 80, p. 715-721.

- SANCHEZ B., BRESSDIER P., CHAIGNEPAIN S., SCHMITTER J.M., URDACI M.C. 2009. Identification of surface-associated proteins in the probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus GG*, International Dairy Journal, vol.19, p. 85-88.
- SAKALA R.M., HAYASHIDANI H., KATO Y., HIRATA T., MAKINO Y., FUKUSHIMA A. 2002. Change in the composition of the microflora on vacuum-packaged beef during chiller storage. J Food Microbiol, vol. 74, n°1, p. 87–99.
- SALVETTI E., TORRIANI S., FELIS G.E. 2012. The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. Probiotics Antimicrob Proteins, vol. 4, n°4, p. 217–26.
- SANDHOLM T.M., SAARELA M. 2003. Functional dairy Products, Raton Boston New York Washington : CRC Press Boca, p.1.
- SAVILAHTI E., KUITUNEN M., VAARALA O. 2008. Pre and probiotics in the prevention and treatment of food allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol, vol. 8, p. 243-248.
- SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM M., AGREBI M., ELHATMI H., BELHADJ O. 2009. Anti-diabetic effect of camel milk in alloxan-induced diabetic dogs: a dose-response experiment. Journal of Animal physiology and animal nutrition: Tunisia.
- SCHLEIFER K.H., LUDWING W. 1995. Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. Dans: WOOD B.J.B., HOLZAPFEL W.H. the genera of lactic acid bacteria. London: Blackie Academic and professional, p. 7-18.
- SCHOTTMÜLLER H., 1903. Die Artunter scheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. Munchen Medical Wochenschr, vol. 50, p908.
- SHAH N.P. 2007. Functional cultures and health benefits. International Dairy J, vol. 17, n°11, p.1262-1277.
- SHIRAI K., GUERRERO I., HUERTA S., SAUCEDO G., CASTILLO A.O., GONZALEZ R., GEORGE M. 2001. Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation. Food Enzyme and Microbial Technology, p. 446–452.
- SHARMA R. 2006. Chemical and Microbiological Analysis of Milk and Milk Products. Bhopal, Madhya Pradesh (India), p. 10- 170.

- SHERMAN J.M. 1937. The Streptococci. *Bacteriol Rev*, vol. 1, p. 3-97.
- SIBOUKEUR O. 2008. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques, aptitude à la coagulation. Thèse de doctorat : Institut national agronomique El-Harrach : Alger.
- SIMPSON W., TAGUCHI H. 1995. The genus *Pediococcus*, with notes on the genera *Tetratogenococcus* and *Aerococcus*. Dans: WOOD B., HOLZAPFEL W. *The genera of lactic acid bacteria*. London: Blackie Academic and Professional, p. 125–72.
- SONDERGAARD A.K. 2005. Application of probiotics in food. Dans : FRANÇOIS-MARIE G., LUQUET C. *Bactéries lactiques et probiotiques.* , Tec and Doc, Paris : Lavoisier, p. 195-209.
- SPERBER W. H., SWAN J. 1976. Hot-loop test for the determination of carbon dioxide production from glucose by lactic acid bacteria. *Environ Microbiol*, vol.31, p. 990-991.
- STILES M. E., HOLZAPFEL W. H. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiol*, vol. 36, p. 1-29.
- TANIGAWA K., WATANABE K. 2011. Multilocus sequence typing reveals a novel subspeciation of *Lactobacillus Delbrueckii*. *Microbiol*, vol. 157, n°3, p.727–38.
- THAPA N., PAL J., TAMANG J. P. 2006. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fish products of the eastern himalayas. *International J Food Microbiol*, vol. 107, n°1, p. 8-33.
- THOMPSON J., GENRY-WEEKS C.R. 1994. Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : DE ROISSARD ET LUQUET, *Bactérie lactique*, Paris : Tec & Doc., Lavoisier.
- THUNELL R.K. 1995. Taxonomy of the leuconostocs. *J Dairy Science*, vol.78, p. 2514–22.
- TOPISIROVIC L., KOJIC M., FIRA D., GOLIC N., STRAHINIC I., LOZO J. 2006. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J of Food Microbiol*, vol. 112, p. 230-235.
- TREBICHAVSKY I., RADA V., SPLICHALOVA A., SPLICHAL I. 2009. Cross-talk of human gut with bifidobacteria. *Nutr Rev*, vol. 67, p. 77-82.

- USDA NATIONAL NUTRIENT DATABASE FOR STANDARD RELEASE. 2009. Nutrient content of fluid milk ingredients. <http://w.w.w.ars.usda.gov/ba/bhnrc.ndl>.
- VARNAM A.H., SUTHERLAND J. P. 1994. Milk and milk products technology, chemistry and microbiology, London, New York : Chapman and Hall, p. 200.
- VASILJEVIC T., SHAH NP. 2007. Fermented milk: Health benefit beyond probiotic effect. Dans: YH HUI, *Handbook of Food Products Manufacturing*, NJ John: Wiley & Sons, Hoboken, Vol. 2, p. 99–115.
- VEISSEYRE R. 1975. Technologie du lait, 3<sup>ème</sup> édition. Paris : la maison rustique, p. 342-397.
- VIERLING E. 2003. Chapitre X les corps gras. Dans: *Aliments et boissons : Filières et produits*, 3<sup>ème</sup> édition : Doin, p.191, 192.
- VIGNOLA C.L. 2002. Science et technologie du lait-transformation du lait, Canada : Presses internationales poly techniques, p. 444-460.
- VILAIN A.-C. 2010. Qu'est-ce que le lait. Revue française d'allergologie : Elsevier Masson, vol. 50, p. 124–127.
- WISESSANGUAN W., BENJAKUL S., SMITINONT T., KITTIKUN C., THEPKASIKUL P., PANYA A. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus Curvatus*. LWT - Food Science Technology, vol. 39, p. 814-826.
- VON WRIGHT A., AXELSSON L. 2012. Lactic Acid Bacteria: An Introduction. Dans : LAHTINEN S., OUWEHAND A.C., SALMINEN S., VON WRIGHT A. *Lactic acid bacteria Microbiological and functional aspects*. 4<sup>ème</sup> édition. Taylor and Francis Group, p. 2-14.
- VON WRIGHT A., AXELSSON L., 2012. Lactic Acid Bacteria: An Introduction. Dans : LAHTINEN S., OUWEHAND A.C., SALMINEN S., VON WRIGHT A. *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. 4<sup>ème</sup> Ed. Taylor & Francis Group, p. 2-14.
- VUILLEMARD J.C. 1986. Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques, Paris : Tec and Doc, Lavoisier, vol. 3, p.1-65.

- WALSTRA P., GEURTS T.J., NOOMEN A., JELLEMA A., VAN BOEKEL M.A.J.S. 1999. Dairy technology, principles of milk properties and processes. Food science and technology. New York-Basel: Marcel Dekker Inc, p. 325-515.
- WELMAN A.D., MADDOX I.S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria perspectives and challenges. Trends in Biotechnology, vol. 21, p. 269-274.
- WIJZES T., BRUGGEMAN M., NOUT M., ZWIETERING M. 1997. A computerised system for the identification of lactic acid bacteria. J Food Microbiol, vol. 38, n°1, p. 65–70.
- WISSELINK H.W., WEUSTHUISN R. A., EGGINK G., HUGENHOLTZ J., GROBBEN G.J. 2002. Mannitol production by lactic acid bacteria. A review. International Dairy J, vol. 12, p. 151-161.
- YAAKOUBI K., BENKERROUM N., WIOROWSKI F., SANSON F., HA YDERSAH J., CHEVALLIER I. 2009. Development of a multiwell antagonistic activity assay for the detection of bacteriocin production by lactic acid bacteria. J Rapid Methods & Automation in Microbiol, Vol.17,p. 3245.
- YVON M. 2006. Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria Australian. Journal of Dairy Technology, vol. 61, n°2, p. 89-96.
- ZADI-KARAM H. 1998. Bactéries lactiques isolées de lait de Camelus Dromedarius: Étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de Doctorat d'État : Université de Constantine : Algérie, p. 205.
- ZHANG M., YAN L., ZHU G., HOLIFIELD M., TODD D., ZHANG S. 2013. *Streptococcus troglodytidis* sp. nov., isolated from a foot abscess of a chimpanzee (Pan troglodytes). J Syst Evol Microbiol, vol. 63, n° 2, p. 449–53.
- ZOURARI A., ACCOLAS J.P. DESMAZEAUD M.J. 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. Lait, vol. 72, p. 1-34.

---

# **Annexes**

---

## Milieux de culture

Les compositions sont données pour un litre d'eau distillée, le volume doit être amené à un litre d'eau à l'aide de la quantité nécessaire d'eau distillée. Le pH final, le temps et la température d'autoclavage sont mentionnés ainsi que les modalités particulières de préparation.

<b>Bouillon hyperacide</b>	
Glucose	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Peptone	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 4,0	
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Sherman, 1937</b>	

<b>Bouillon hyperalcalin</b>	
Glucose	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Peptone	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 9,6	
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Sherman, 1937</b>	

<b>Bouillon hypersalé</b>	
Glucose	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Peptone	15,0 g
NaCl	(65-180) g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,5	
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Sherman, 1937</b>	

<b>Gélose Plate Count Agar (PCA)</b>	
<b>Gélose pour numérotation</b>	
Peptone	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose (Facultatif)	1,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,2	
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Bouillon M17</b>	
<b>Bouillon de Terzaghi</b>	
Peptone de soja	5,0 g
Peptone de viande	2,5 g
Peptone de caséine	2,5 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Lactose	5,0 g
Acide ascorbique	0,50 g
Glycérophosphate de sodium	19,0 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,2	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose M17</b>	
<b>Gélose de Terzaghi</b>	
Peptone de soja	5,0 g
Peptone de viande	2,5 g
Peptone de caséine	2,5 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Lactose	5,0 g
Acide ascorbique	0,5 g
Glycérophosphate de sodium	19,0 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Gélose	13,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,2	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose hypersaccharosée</b>	
Extrait de viande	10,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Peptone	2,5 g
Saccharose	150,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,0 g
NaCl	1,0 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,2 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,8	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Leveau et al., 1991</b>	

<b>Bouillon MRS</b>	
<b>Bouillon de Man Rogosa et Sharpe</b>	
Peptone	10,0 g
Extrait de viande	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	20,0 g
Tween 80	1,0 mL
Phosphate dipotassique	2,0 g
Acétate de sodium	5,0 g
Citrate triammonique	2,0 g
Sulfate de magnésium	200,0 mg
Sulfate de manganèse	50,0 mg
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,5	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose MRS</b>	
<b>Milieu de Man Rogosa et Sharpe</b>	
Peptone	10,0 g
Extrait de viande	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	20,0 g
Tween 80	1,0 mL
Phosphate dipotassique	2,0 g
Acétate de sodium	5,0 g
Citrate triammonique	2,0 g
Sulfate de magnésium	200,0 mg
Sulfate de manganèse	50,0 mg
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,5	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose VF</b>	
<b>Gélose Viande-Foie</b>	
Extrait de viande-foie	10,0 g
Peptone	20,0 g
Extrait de levure	10,0 g
Glucose	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,6	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Milieu Baird-Parker (BP)</b>	
Tryptone	10,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	1,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Gélose	20,0 g
Sulphamézathine de sodium à 0,2% (Facultatif)	25,0 mL
Glycocolle à 12%	10,0 mL
Pyruvate de sodium à 20%	5,0 mL
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,0	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Lait écrémé à 10%</b>	
Poudre de lait (0% MG)	100,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
Stérilisation : 110°C pendant 10 minutes	
<b>Sahnouni, 2013</b>	

<b>Lait écrémé à 12%</b>	
Poudre de lait (0% MG)	120,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
Stérilisation : 110°C pendant 10 minutes	
<b>Sahnouni, 2013</b>	

<b>Gélose MH</b>	
<b>Gélose Mueller-Hinton</b>	
Extrait de viande	2,0 g
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Gélose	10,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,4	
Stérilisation : 115°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Milieu de Möller à l'arginine</b>	
Peptone	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Glucose	0,5 g
Pourpre de bromocrésol	0,1 g
Rouge de crésol	5,0 mg
Pyridoxal	5,0 mg
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,0	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
On ajoute à chaque tube de milieu de base 1 mL d'acide aminé (arginine) à 10% stérilisé par filtration	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Bouillon MRS modifié</b>	
Peptone	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	20,0 g
Tween 80	1,0 mL
Phosphate dipotassique	2,0 g
Acétate de sodium	5,0 g
Sulfate de magnésium	200,0 mg
Sulfate de manganèse	50,0 mg
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,5	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Eau physiologique</b>	
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée qsp	1000 mL
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose aux triglycérides</b>	
Peptone	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Triglycérides	10,0 mL
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,5	
Stérilisation : 110°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Eau peptonée tamponnée</b>	
Peptone	20,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate dipotassique	9,0 g
Phosphate monopotassique	1,5 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,2	
Stérilisation : 115°C pendant 30 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Bouillon Sélénite au Cystéine (SC)</b>	
Tryptone	5,0 g
Lactose	4,0 g
Phosphate disodique	10,0 g
Sélénite acide de sodium	4,0 g
Cystéine	100 mg
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,0	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Milieu de Clark et Lubs</b>	
Peptone	10,0 g
Phosphate dipotassique	2,0 g
Glucose	5,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,0	
Stérilisation : 120°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Bouillon EVA Litsky</b>	
Peptone	20,0 g
Glucose	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate bipotassique	2,7 g
Phosphate monopotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,3 g
Éthyl-violet	0,5 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,0	
Stérilisation : 115°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose VRBL</b>	
<b>Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre</b>	
Peptone	7,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Sels biliaires	1,5 g
Lactose	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Rouge neutre	30,0 mg
Cristal violet	2,0 mg
Gélose	12,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,4	
Stérilisation: 15 minutes d'ébullition (ne pas autoclavé)	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose OGA</b>	
<b>Gélose Oxytétracycline-glucose</b>	
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	20,0 g
Gélose	16,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
Addition : Oxytétracycline avant emploi	
pH 7,0	
Stérilisation : 115°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Bouillon de Roth</b>	
Peptone	20,0 g
Glucose	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate bipotassique	2,7 g
Phosphate monopotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,2 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 7,0	
Répartir en tubes à essais (9-10 mL)	
Stérilisation : 115°C pendant 20 minutes	
<b>Guiraud, 2003</b>	

<b>Gélose biliée lactosée au vert brillant et au rouge de phénol</b>	
Bile de bœuf déshydratée	20,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Peptone	10,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Phosphate disodique	1,0 g
Phosphate monosodique	0,6 g
Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Rouge de phénol	90,0 mg
Vert brillant	5,0 mg
Gélose	15,0 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH 6,9	
Stériliser par 5 minutes d'ébullition (ne pas autoclaver)	
<b>Guiraud, 2003</b>	

# Réactifs et autres produits

---

L'annexe 2 représente les réactifs et d'autres produits qui sont utilisés dans notre travail.

---

### 1. Réactifs de la coloration de Gram (Guiraud, 2003)

- Solution de violet de Gentiane : 1g de violet de gentiane, 10mL d'alcool éthylique à 95%, 2g de phénol ajoutés à 100mL d'eau distillée.
- Solution de Lugol : 1g d'iodure de potassium, 1g d'iode ajoutés à 300mL d'eau distillée.
- Alcool éthylique : à 95%
- Solution de Fuschine de ziehl : 1g de Fuschine, 10mL d'alcool éthylique à 95%, 5g de phénol ajoutés à 100mL d'eau distillée.

### 2. Les souches pathogènes tests utilisés pour l'activité antibactérienne

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).
- *Escherichia Coli* (ATCC 25922).
- *Bacillus cereus* (ATCC 10876).
- *Micrococcus luteus* (ATCC 4698).

### 3. Autres réactifs et produits

- Eau oxygénée.
- Glycérol (5%).
- NaCl.
- Lait UHT écrémé (Badwa-HODNA lait).
- Poudre de lait écrémé 0% matières grasses (ISIGNY SAINTE MÈRE - FRANCE).
- Les sucres : glucose, saccharose, lactose.
- Téliurite de potassium.
- Alun de Fer.
- Sulfite de sodium.
- Réactifs Vogues-Proskauer VPI et VPIL.
- Acide citrique.
- Alcool éthylique : à 95%
- La présure *CHY-MAX®Powder plus NB* de *CHR HANSEN* (composition : NaCl, Chymosine, caséine peptone).

## Matériels et appareillages

L'annexe 03 représente la liste et les images des appareils et matériels utilisés dans la présente étude.

### 1. La liste des appareils et matériels

<b>Equipement</b>	<b>Marque</b>
Etuve	MEMMERT - FRANCE
Bain marie	MEMMERT - FRANCE
Balance de précision	SARTORIUS - FRANCE
Microscope optique	OPTIKA - ITALIE
Microscope optique adapté à l'ordinateur	OPTIKA - ITALIE
Agitateur magnétique chauffant	STUART- FRANCE
Réfrigérateur à (- 4°C)	LG - COREE DU SUD
Congélateur à (-20°C et - 45°C)	LG - COREE DU SUD
Agitateur-Vortex	MS2 MINI SHAKER IKA
pH mètre	INOLAB
Equipement pour test d'antibiotique	BETASTAR®COMBO 25 NEOGEN
Hotte microbiologique	BIOMEDIS
Compteur colonies	J.P-SELECTA
Centrifugeuse	HETTICH EBA 20
Autoclave	GETINGE
Analyseur	MILKOSCAN FT2-FOSS
Analyseur	FOOD SCAN -FOSS
Malaxeur	BAGMIXER® 400 P
Balance pour sac Stomacher	INTERSCIENCE
La loupe binoculaire	MOTIC MICROSCOPES SMZ-140
La galerie API 50 CH	BIOMERIEUX - FRANCE
Ecrémeuse	TETRA PAK -SUÈDE
Homogénéisateur	TETRA PAK -SUÈDE
Pasteurisateur	TETRA PAK -SUÈDE

## 2. Images de quelques appareils et matériels



Centrifugeuse



Compteur colonies



Hotte microbiologique



Autoclave



Analyseur MilkoScan™ FT2-FOSS



Analyseur Food Scan™-FOSS



BetaStar® Combo 25 Neogen



Agitateur magnétique chauffant



Etuve et Bain marie



Balances



Balance pour sac Stomacher



Malaxeur



Galerie biochimique API 50 CH

### 1- Coloration différentielle de Gram

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre.
- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau physiologique, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène.
- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes.
- Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
- Couvrir de lugol pendant 30 secondes.
- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Rincer immédiatement le frottis avec l'alcool absolu en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette.
- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes.
- Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope.
- Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

### 2- Observation à l'état frais

- Cette préparation consiste à examiner le microorganisme vivant en milieu liquide entre lame et lamelle.
- Une goutte de suspension microbienne est déposée au centre de la lame. Cette goutte doit être de petite taille pour éviter les débordements.
- Dans le cas d'une culture sur milieu solide, une goutte d'eau est déposée sur la lame et une très faible quantité de produit est prélevé à l'öse et dissociée dans la goutte.
- Une lamelle est ensuite appliquée sur la goutte en évitant de créer des bulles d'air et des débordements à la limite entre lame et lamelle et toujours en conditions aseptiques.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur lamelle et observer au microscope.

## Examen Microscopique

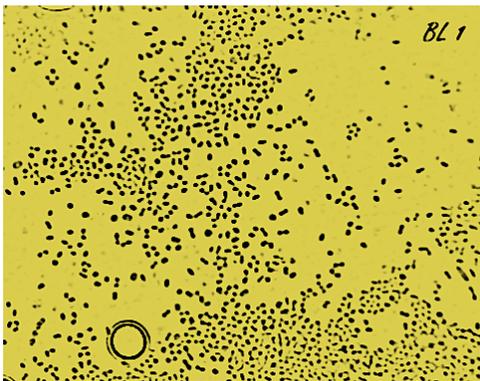
L'examen des isolats lactiques nécessite l'usage d'un bon microscope optique, nous avons utilisés pour notre travail le microscope optique lié à l'ordinateur avec logiciel « **Motic images 2000 version 1,3** ».

Motic image fournit une vaste gamme d'utilisation, il permet de visualiser la vidéo en directe, de capturer des images, manipuler et de mesurer.

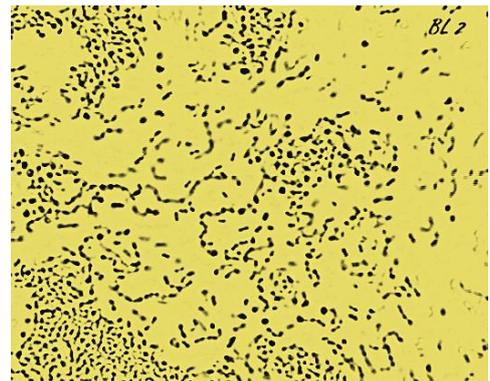
Les préparations microscopiques sont effectuées sur des lames de verre ordinaire propre, éventuellement dégraissées et elles sont essuyées au papier Joseph.

Les préparations microscopiques utilisées pour notre étude sont de deux types : état frais et frottis.

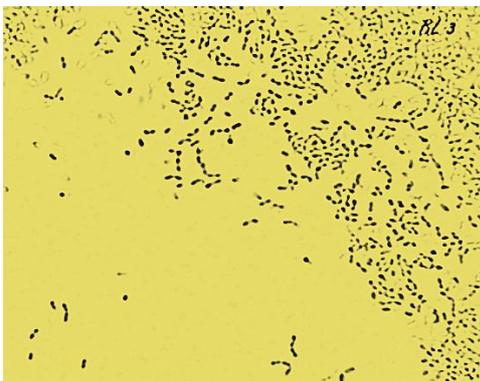
### Examen à l'état frais



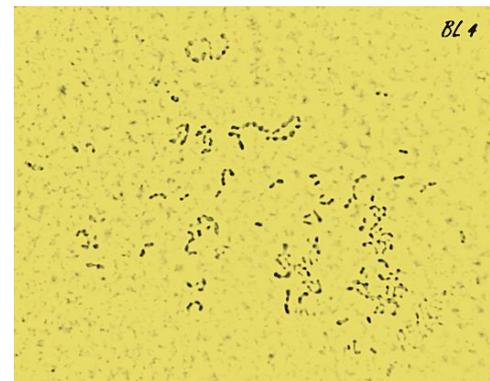
Isolat lactique codé BL1



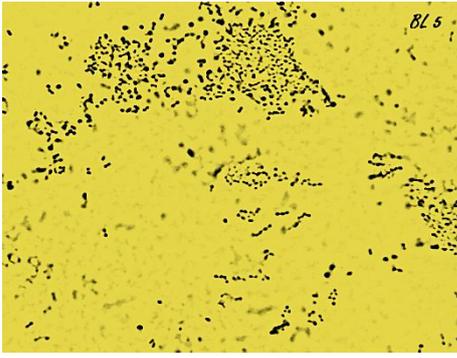
Isolat lactique codé BL2



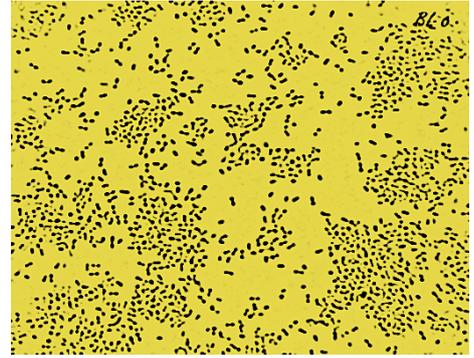
Isolat lactique codé BL3



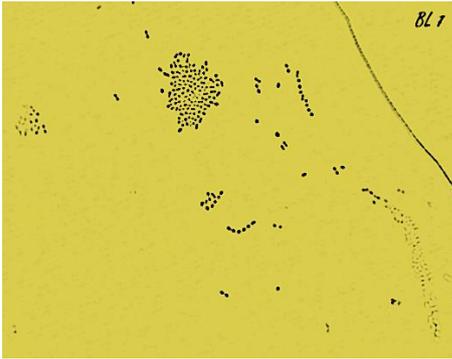
Isolat lactique codé BL4



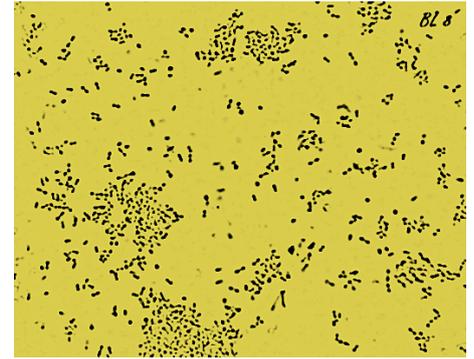
Isolat lactique codé BL5



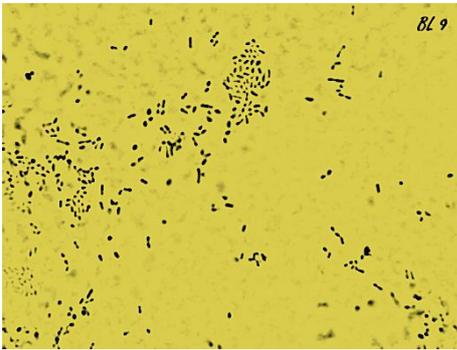
Isolat lactique codé BL6



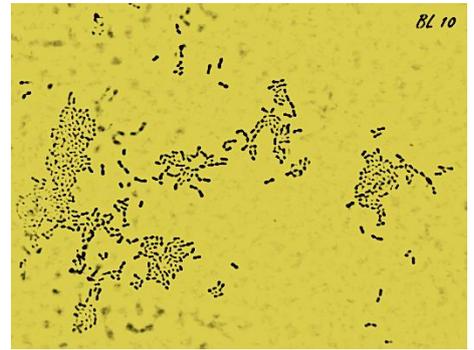
Isolat lactique codé BL7



Isolat lactique codé BL8



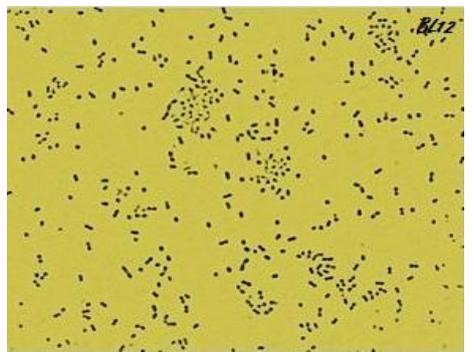
Isolat lactique codé BL9



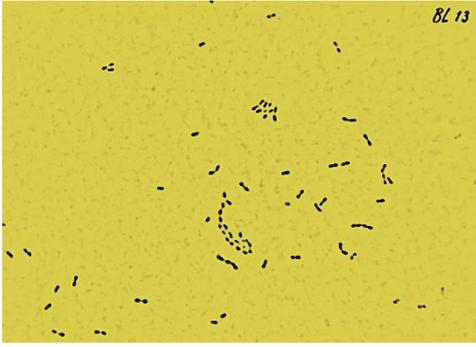
Isolat lactique codé BL10



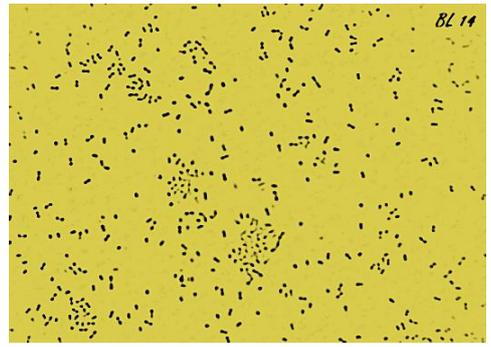
Isolat lactique codé BL11



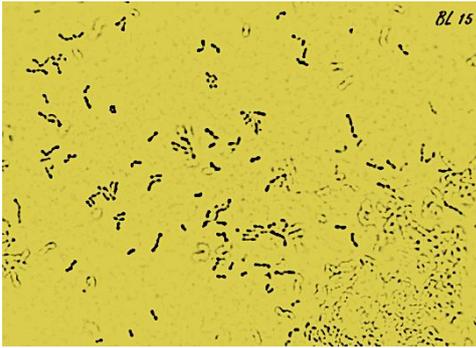
Isolat lactique codé BL12



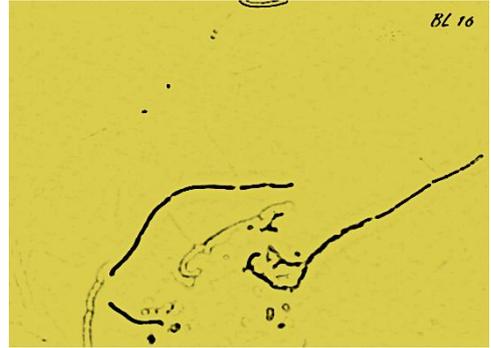
Isolat lactique codé BL13



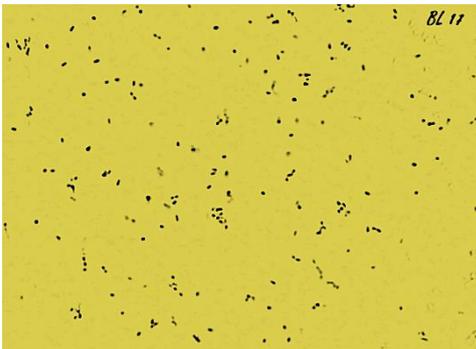
Isolat lactique codé BL14



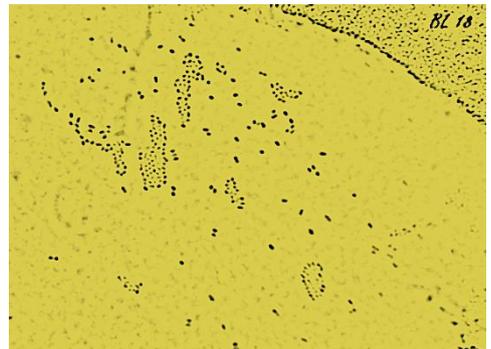
Isolat lactique codé BL15



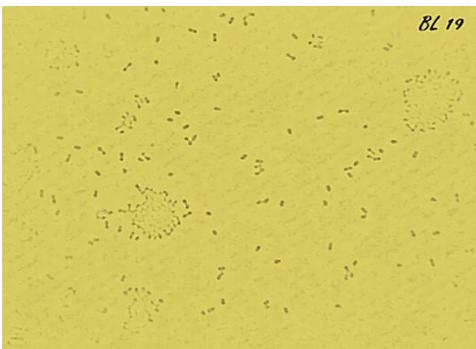
Isolat lactique codé BL16



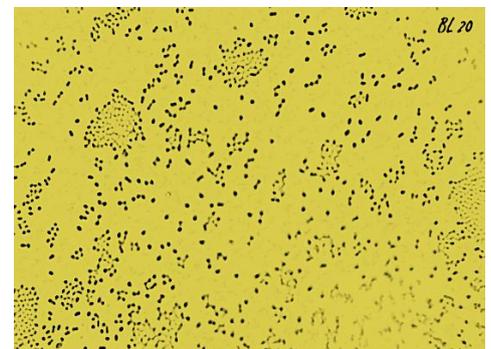
Isolat lactique codé BL17



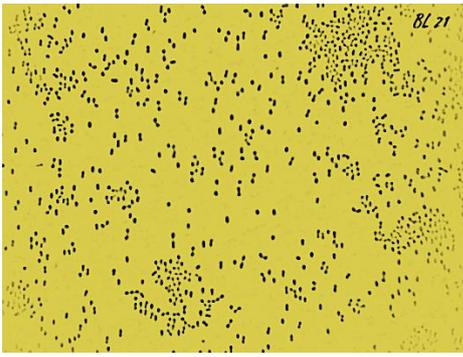
Isolat lactique codé BL18



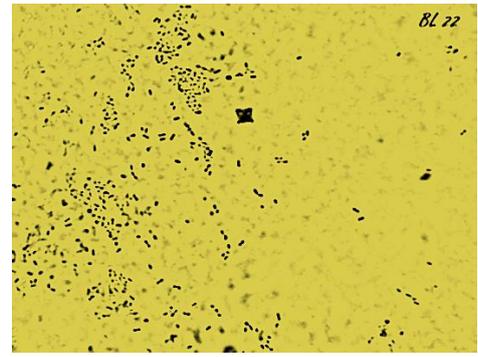
Isolat lactique codé BL19



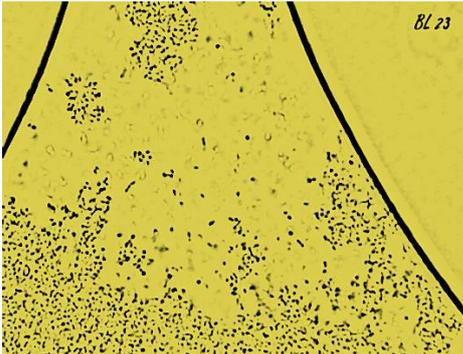
Isolat lactique codé BL20



Isolat lactique codé BL21



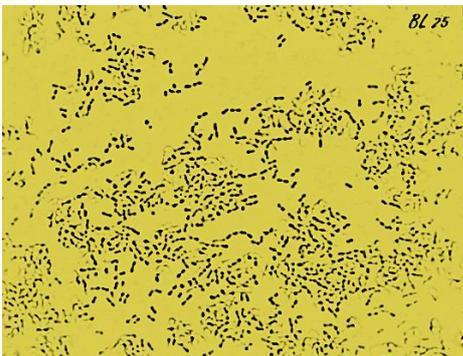
Isolat lactique codé BL22



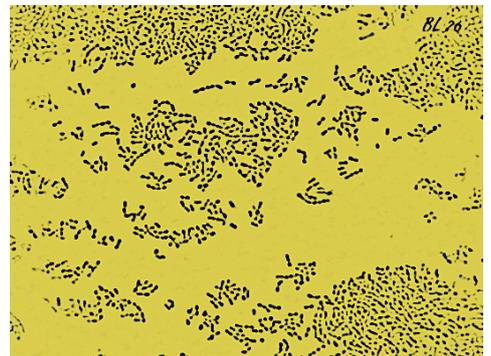
Isolat lactique codé BL23



Isolat lactique codé BL24



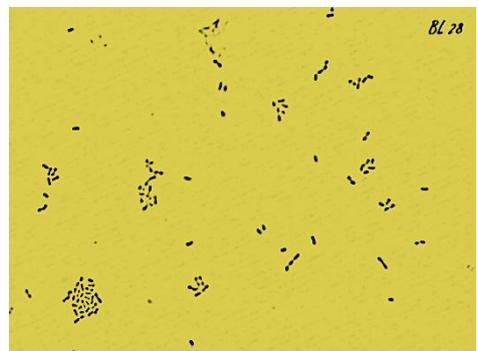
Isolat lactique codé BL25



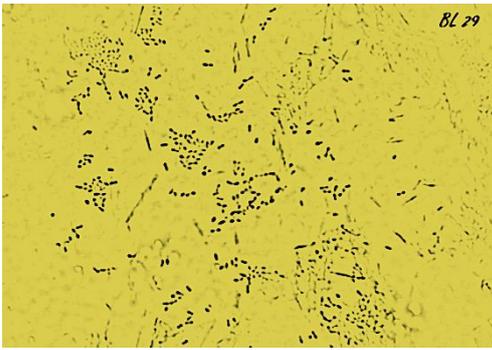
Isolat lactique codé BL26



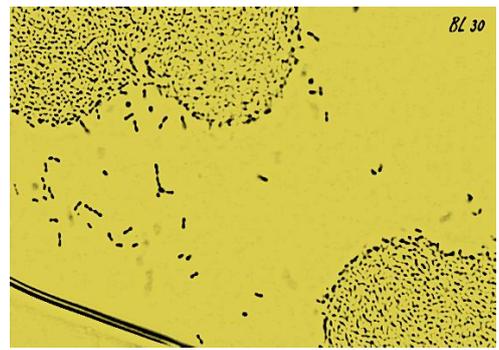
Isolat lactique codé BL27



Isolat lactique codé BL28



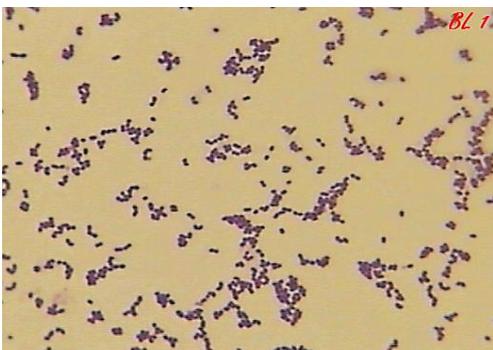
Isolat lactique codé BL29



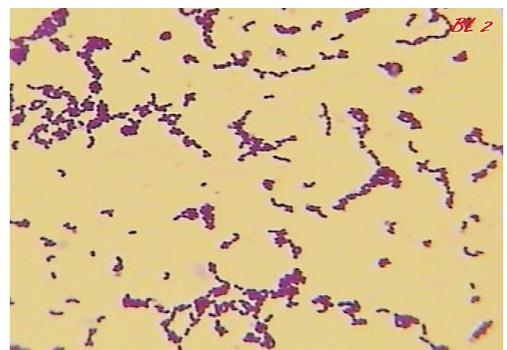
Isolat lactique codé BL30

## Examen après la préparation d'un frottis avec la coloration différentielle de Gram

---



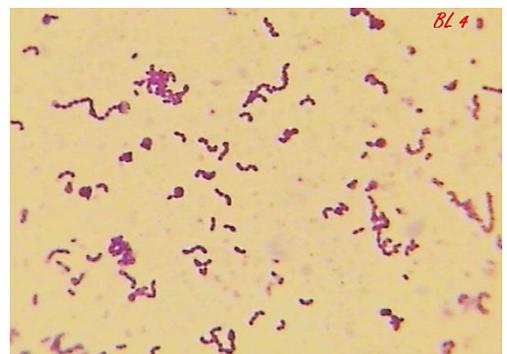
Isolat lactique codé BL1



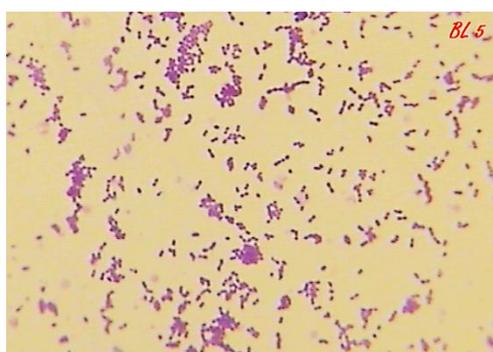
Isolat lactique codé BL2



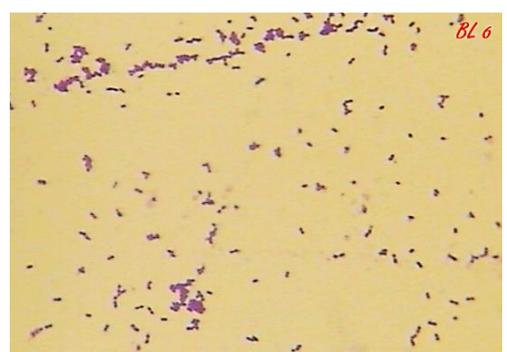
Isolat lactique codé BL3



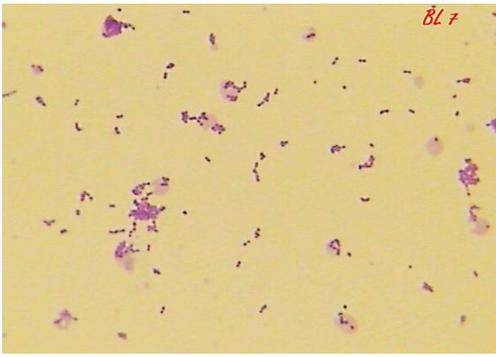
Isolat lactique codé BL4



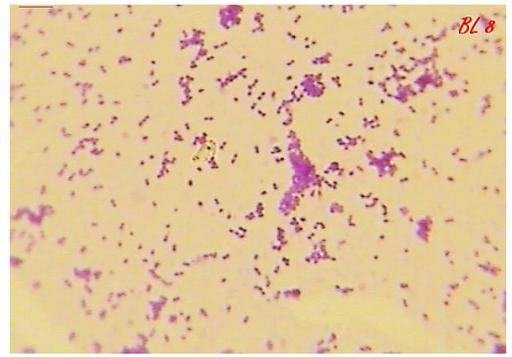
Isolat lactique codé BL5



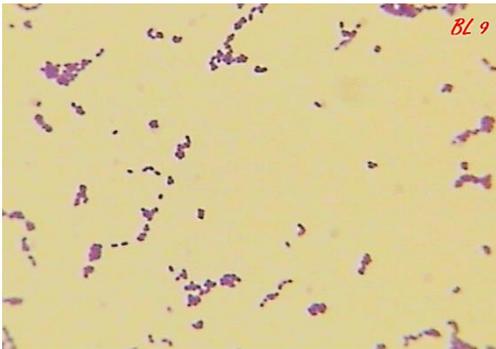
Isolat lactique codé BL6



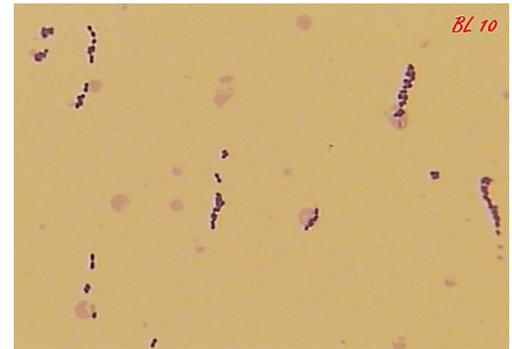
Isolat lactique codé BL7



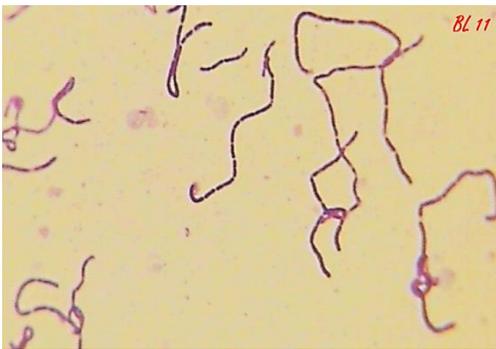
Isolat lactique codé BL8



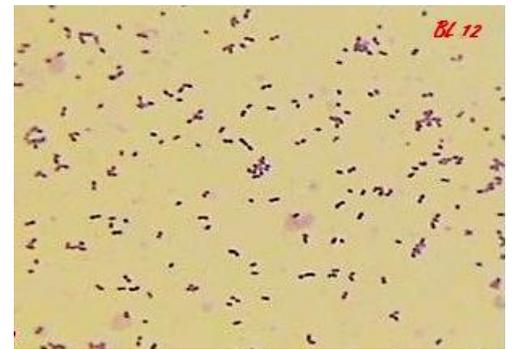
Isolat lactique codé BL9



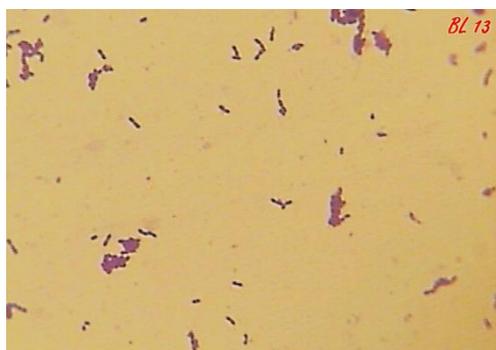
Isolat lactique codé BL10



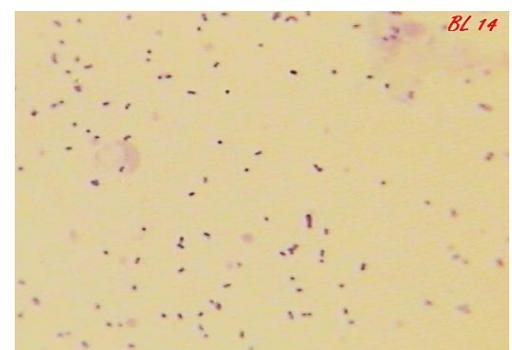
Isolat lactique codé BL11



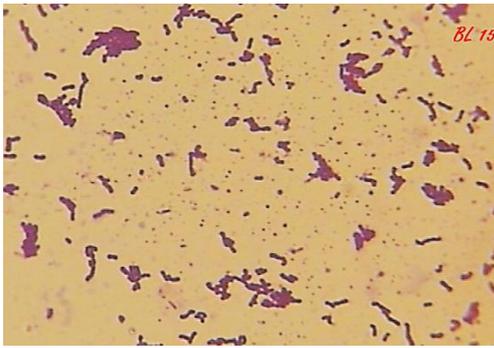
Isolat lactique codé BL12



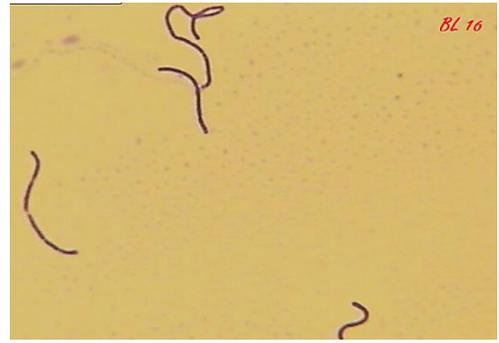
Isolat lactique codé BL13



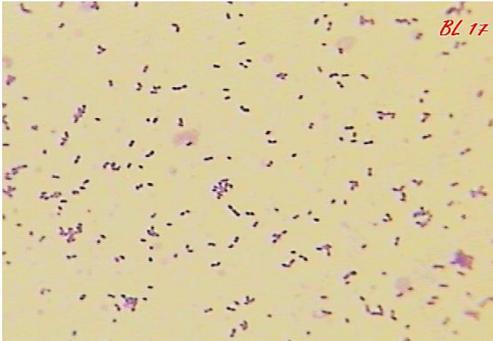
Isolat lactique codé BL14



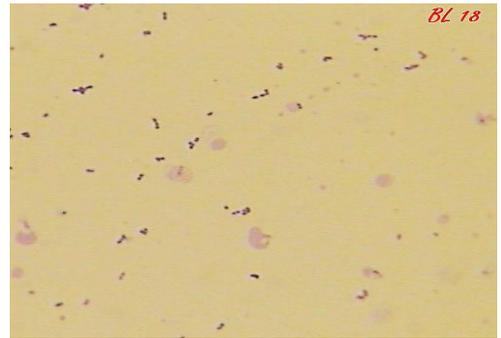
Isolat lactique codé BL15



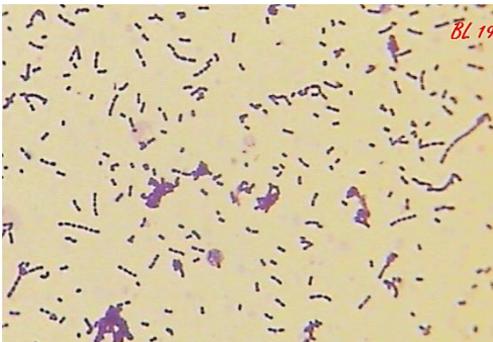
Isolat lactique codé BL16



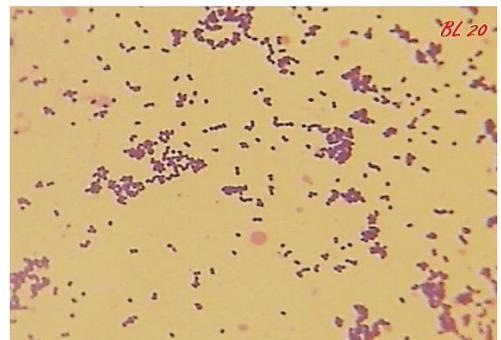
Isolat lactique codé BL17



Isolat lactique codé BL18



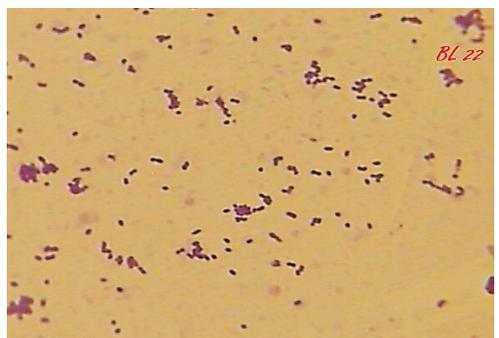
Isolat lactique codé BL19



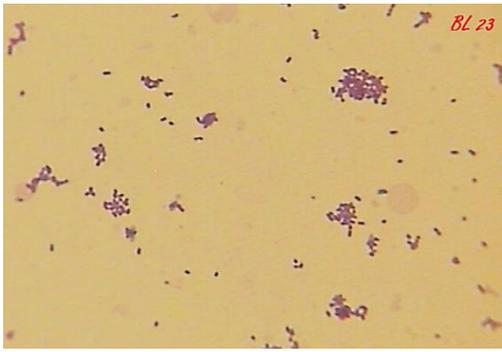
Isolat lactique codé BL20



Isolat lactique codé BL21



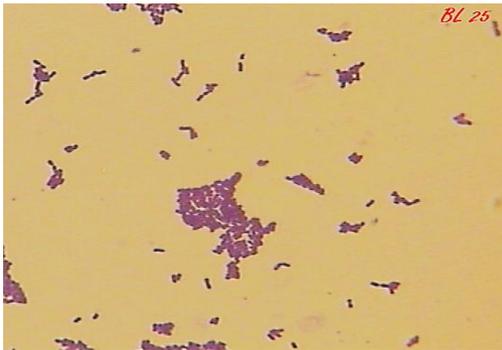
Isolat lactique codé BL22



Isolat lactique codé BL23



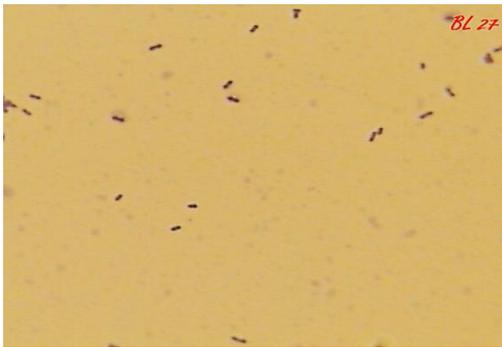
Isolat lactique codé BL24



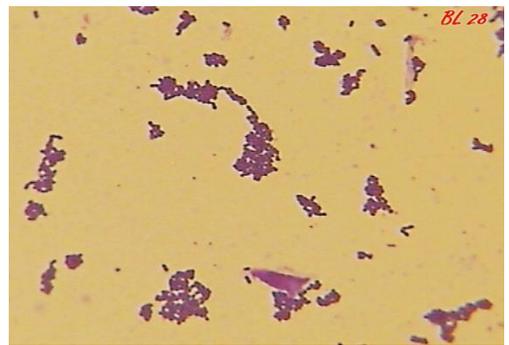
Isolat lactique codé BL25



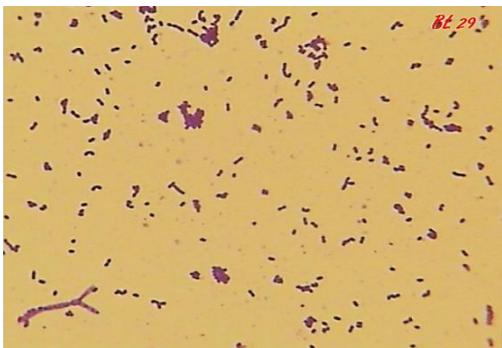
Isolat lactique codé BL26



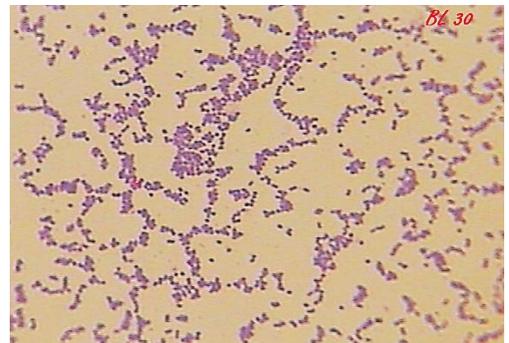
Isolat lactique codé BL27



Isolat lactique codé BL28



Isolat lactique codé BL29



Isolat lactique codé BL30

## Fiches Techniques

L'annexe 6 représente les fiches techniques des appareils utilisés dans notre travail.

### MILKOSCAN-FOSS



Le principe de mesure des appareils FTIR (MilkoScan) est basé sur l'absorption d'énergie Infra Rouge.

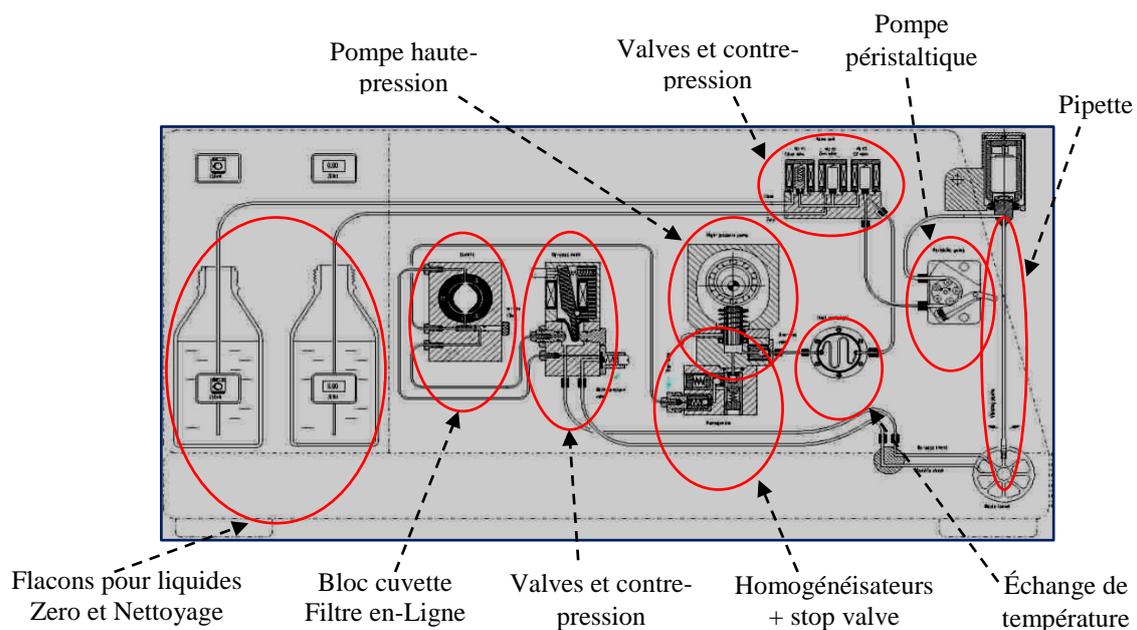
L'échantillon est pompé, réchauffé et positionné dans une cellule de mesure.

Il est traversé par un faisceau de lumière Infra-Rouge.

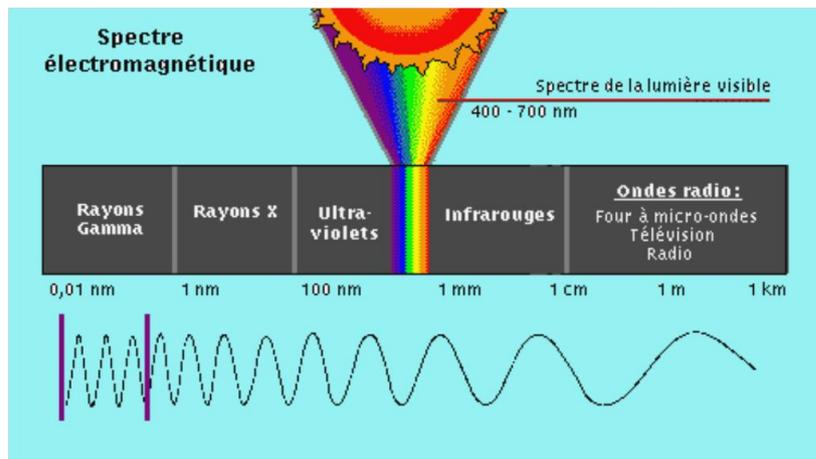
On parle de transmission moyenne Infra Rouge.

Le système optique utilisé est un Interféromètre à Transformée de Fourier, qui permet de balayer instantanément le spectre complet dans le moyen Infra Rouge.

Le spectre d'absorption est ensuite transformé en résultat par une équation de calibration spécifique du produit et du paramètre mesuré.



~ Circuit de pompage détaillé ~



### ~ Spectre Electromagnétique ~

Les données spectrales sont traitées en transmission sur le domaine du Moyen Infra-Rouge (2500 à 10000nm).

L'échantillon est soumis au rayonnement d'une lumière définie par une certaine longueur d'onde. La mesure consiste à quantifier les changements de la puissance de la lumière induits par l'échantillon. La quantité de lumière transmise c'est à dire non absorbée par l'échantillon est mesurée.

## FOODSCAN – FOSS :



### **Principe de la mesure**

La spectroscopie Proche Infrarouge (NIR) est basée sur l'interaction entre la lumière et la matière organique.

La **lumière** a long temps été définie soit comme un corpuscule (théorie défendue par Newton), soit comme une onde (théorie défendue par De Huygens). L'approche quantique de la physique a démontré la dualité de la lumière, à savoir que la lumière se comporte soit comme une onde (onde électromagnétique), soit comme un **corpuscule** (photons) selon l'observation.

Le comportement ondulatoire de la lumière est caractérisé par 3 grandeurs :

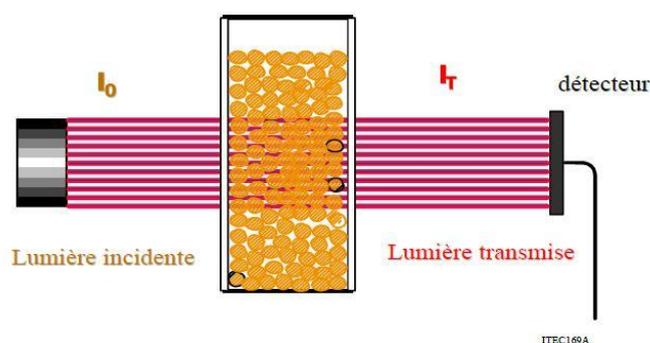
- La longueur d'onde (distance parcouru entre 2 maxims, ou 2 minims),
- L'amplitude (intensité de la lumière)
- La célérité (vitesse de la lumière dans le milieu).

La **matière** peut être modélisée comme un oscillateur anharmonique : en raison des forces de répulsions entre électrons voisins, et des forces d'attraction entre les électrons d'un atome et les protons des atomes voisins, les liaisons chimiques sont continuellement oscillent.

Ainsi, même à l'état fondamental (équilibre thermodynamique) **la molécule est en vibration**.

Par conséquence, chaque type de liaison chimique est défini par une **fréquence de vibration**.

Cette vibration naturelle a pour conséquence de modifier le moment dipolaire des liaisons (si existant).



~ Principe de la mesure NIR sur le FOODSCAN ~

Dans le cas du FOODSCAN où le mode d'analyse est la transmittance, l'expérimentation fait une sorte que seule l'énergie transmise soit mesurée. Si le mode d'analyse est la réflectance (InfraXact par exemple), alors l'énergie transmise sera cette fois nulle et seule l'énergie réfléchie est mesurée. Le mode d'analyse est à choisir selon l'application.

FOODSCAN irradie donc l'échantillon d'une succession de lumière monochromatique (longueur d'onde entre 805 et 1050 nm, avec une résolution de 2 nm) et mesure ensuite la quantité d'énergie transmise.

Le résultat de la mesure du FOODSCAN est alors une valeur d'absorbance tous les 2nm entre 850 et 1050 nm.

FOSS préconise donc de mettre en place un plan de contrôle sur chacun de vos produits.

## **BETASTAR® COMBO 25 – NEOGEN :**



### **Présentation du test**

Le coffret Betastar COMBO 25 contient :

- 25 flacons de récepteurs.
- 1 flacon blanc contenant 25 bandelettes.
- 1 seringue et 25 embouts.
- 1 notice d'information.

Petit matériel : incubateur « fond plat » réglé à 47,5°C.

Mode opératoire :

- Sortir un flacon de récepteurs du coffret et s'assurer que tout le lyophilisat se trouve au fond du flacon.  
Remarque : pour faire descendre le lyophilisat au fond du flacon, frapper délicatement le flacon sur une surface solide.
- Enlever la capsule et le bouchon du flacon de récepteur.
- Placer un embout neuf sur la seringue.
- Prélever 0,2mL de lait à tester.
- Distribuer les 0,2mL de lait dans le flacon de récepteur.
- Reboucher le flacon et agiter doucement en tournant le flacon afin de dissoudre tout le lyophilisat.
- Mettre le flacon dans un des puits de l'incubateur stabilisé à la température de 47,5°C.
- Au bout de 2 minutes, ouvrir le flacon blanc et prendre une bandelette.
- Introduire la bandelette dans le flacon. Laisser en incubation à 47,5°C.
- 3 minutes après l'introduction de la bandelette dans le flacon, retirer la bandelette et lire immédiatement.

Précautions :

- Lors de la mise en œuvre du test Betastar COMBO, il convient d'avoir les mains propres et sèches pour éviter toute contamination des réactifs.
- Pour assurer le bon résultat, il convient d'avoir un bon mélange du lait et du récepteur au cours de la première étape.

## Carbohydrates

## INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API 50 CH est un système standardisé associant 50 tests biochimiques permettant l'étude du métabolisme des hydrates de carbone des microorganismes. API 50 CH est utilisé en combinaison avec API 50 CHL Medium pour l'identification des *Lactobacillus* et apparentés, avec API 50 CHB/E Medium pour l'identification des *Bacillus* et apparentés, des *Enterobacteriaceae* et *Vibrionaceae*. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice des milieux associés.

## PRINCIPE

La galerie API 50 CH est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques). Les tests de fermentation sont inoculés avec API 50 CHL Medium ou API 50 CHB/E Medium qui réhydrate les substrats.

Durant la période d'incubation, la fermentation se traduit par un changement de couleur dans le tube, dû à une production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi. Le premier tube, sans principe actif, sert de témoin négatif.

**NOTE :** La galerie API 50 CH peut être utilisée pour étudier deux autres voies :

- l'oxydation se traduisant par un changement de couleur dans la cupule, dû à une production d'acide en aérobie révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi.
- l'assimilation se traduisant par une croissance du microorganisme dans la cupule quand le substrat est utilisé comme seule source de carbone présente.

Dans ce cas, le milieu employé pour l'inoculation des galeries doit être choisi en fonction du métabolisme et des exigences du groupe microbien étudiés (voir paragraphe bibliographie).

## PRESENTATION (Coffret de 10 tests)

- 10 galeries API 50 CH
- 10 boîtes d'incubation
- 10 fiches de résultats
- 1 notice

## COMPOSITION DE LA GALERIE

La composition de la galerie API 50 CH est reportée dans la liste des tests ci-dessous :

## Bande 0 - 9

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
0		TEMOIN	-
1	GLY	GLYcérol	1,64
2	ERY	ERYthritol	1,44
3	DARA	D-ARAbinose	1,4
4	LARA	L-ARAbinose	1,4
5	RIB	D-RIBose	1,4
6	DXYL	D-XYLose	1,4
7	LXYL	L-XYLose	1,4
8	ADO	D-ADOnitol	1,36
9	MDX	Méthyl-β-D-Xylopyranoside	1,28

## Bande 10 - 19

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
10	GAL	D-GALactose	1,4
11	GLU	D-GLUcose	1,56
12	FRU	D-FRUctose	1,4
13	MNE	D-MaNNosE	1,4
14	SBE	L-SorBosE	1,4
15	RHA	L-RHAMnose	1,36
16	DUL	DULcitol	1,36
17	INO	INOsitol	1,4
18	MAN	D-MANnitol	1,36
19	SOR	D-SORbitol	1,36

## Bande 20 - 29

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
20	MDM	Méthyl-α-D-Mannopyranoside	1,28
21	MDG	Méthyl-α-D-Glucopyranoside	1,28
22	NAG	N-AcétylGlucosamine	1,28
23	AMY	AMYgdaline	1,08
24	ARB	ARButine	1,08
25	ESC	ESCuline citrate de fer	1,16 0,152
26	SAL	SALicine	1,04
27	CEL	D-CELlobiose	1,32
28	MAL	D-MALtose	1,4
29	LAC	D-LACTose (origine bovine)	1,4

## Bande 30 - 39

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
30	MEL	D-MELibiose	1,32
31	SAC	D-SACcharose	1,32
32	TRE	D-TREhalose	1,32
33	INU	INUline	1,28
34	MLZ	D-MéLéZitose	1,32
35	RAF	D-RAFfinose	1,56
36	AMD	AmiDon	1,28
37	GLYG	GLYcoGène	1,28
38	XLT	XyLiTol	1,4
39	GEN	GENiobiose	0,5

## Bande 40 - 49

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
40	TUR	D-TURanose	1,32
41	LYX	D-LYXose	1,4
42	TAG	D-TAGatose	1,4
43	DFUC	D-FUCose	1,28
44	LFUC	L-FUCose	1,28
45	DARL	D-ARabitol	1,4
46	LARL	L-ARabitol	1,4
47	GNT	potassium GlucoNaTe	1,84
48	2KG	potassium 2-CétoGluconate	2,12
49	5KG	potassium 5-CétoGluconate	1,8

Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.

## REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

### Réactifs :

- Milieu d'inoculation :  
API 50 CHL Medium (Réf. 50 410)  
API 50 CHB/E Medium (Réf. 50 430)  
(\* produits mentionnés dans les notices de ces milieux)  
ou autre milieu adapté
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- McFarland Standard (Réf. 70 900) ou DENSIMAT (Réf. 99 234) ou Densitomètre ATB®
- Logiciel d'identification (consulter bioMérieux).

### Matériel :

- Pipettes ou PSlpettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoules
- Ecouillons
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

## PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer, ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* - December 1997". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)," ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage des différents composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...
- Les performances sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

## CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

## ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API 50 CH ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

## MODE OPERATOIRE

Selon le milieu utilisé, API 50 CHL Medium ou API 50 CHB/E Medium, lire attentivement la notice correspondante.

### Préparation des galeries

Chaque galerie est constituée de 5 bandes comprenant chacune 10 tubes numérotés.

- Préparer une boîte d'incubation (fond et couvercle).
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation.)
- Répartir environ 10 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ...)] dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Sortir les bandes de leur emballage, séparer en deux les bandes 0-19 et 20-39 et les déposer dans le fond de la boîte d'incubation.
- Compléter la galerie avec la bande 40-49.

### Préparation de l'inoculum

- Cultiver le microorganisme sur un milieu adapté à sa croissance.
- Vérifier la pureté de la souche.
- Récolter cette culture par écouvillonnage d'un milieu solide, ou par centrifugation d'un milieu liquide.
- Préparer l'inoculum dans le milieu approprié (voir notices API 50 CHL Medium et API 50 CHB/E Medium). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

### Inoculation des galeries

Répartir la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette stérile dans les 50 tubes de la galerie en se conformant aux précautions suivantes :

- Incliner légèrement vers l'avant la boîte d'incubation.
- Eviter la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule.
- Lorsque le tube seul doit être inoculé, ne pas dépasser la limite supérieure du tube afin de conserver une bonne anaérobiose.
- Lorsque le tube et la cupule doivent être complètement remplis, éviter la formation d'un ménisque concave ou convexe.
- Incuber les galeries à la température optimum de croissance du groupe de microorganismes étudiés : 30°C, 37°C, 55°C.

**LECTURE ET INTERPRETATION****Lecture des galeries**

La lecture des galeries est réalisée à des temps d'incubation définis (24 H, 48 H par exemple), dépendant du microorganisme et du type de réaction étudié.

**Interprétation**

Interpréter chaque test (positif (+), négatif (-), douteux (?)) et les noter sur la fiche de résultats.

Le profil biochimique ainsi constitué sert à l'identification des *Lactobacillus* et apparentés, des *Bacillus* et apparentés, des *Enterobacteriaceae* et *Vibrionaceae*, à l'aide du logiciel d'identification.

**NOTE** : Autres exploitations possibles des résultats :

- Typage épidémiologique de microorganisme.
- Analyse taxonomique d'un groupe de microorganismes.
- Classification d'une population bactérienne inconnue en groupes homogènes.

**CONTROLE DE QUALITE**

Les galeries font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur :

Pour *Lactobacillus* : avec la souche *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* NCFB 206 ou ATCC BAA-52 (avec API 50 CHL Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49		
24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	V	-	+	V	-	+	+	-	V	+	V	V	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	V	-	-			
48	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Pour *Bacillus* : avec la souche *Bacillus polymyxa* (\*) ATCC 43865 (avec API 50 CHB/E Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49			
24	-	+	-	-	+	+	+	-	-	V	+	+	+	+	-	V	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
48	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	V	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(\*) *Bacillus polymyxa* identifié à *Paenibacillus polymyxa* sur API 50 CH et API 50 CHB/E Medium.

Résultats obtenus après incubation à 30°C.

Pour *Enterobacteriaceae* : avec la souche *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* ATCC 35657 (avec API 50 CHB/E Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49			
24	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
48	-	+	-	V	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

NCFB : National Collection for Food Bacteria (=NCDO), Institute of Food Research, Reading Laboratory, Earley Gate, Reading RG6 6BZ, ENGLAND

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

**LIMITES DU TEST**

- Toute identification d'espèces non répertoriées dans les bases de données API 50 CHL et API 50 CHB/E est sous la responsabilité de l'utilisateur.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

**RESULTATS ATTENDUS**

Se référer aux Tableaux d'Identification des milieux associés à cette galerie pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

**PERFORMANCES**

Se référer aux performances des milieux associés à cette galerie.

**ELIMINATION DES DECHETS**

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

BIBLIOGRAPHIE  
TABLE DES SYMBOLES

p. I  
p. II



**bioMérieux® sa**  
au capital de 11 879 045 €  
673 620 399 RCS LYON  
69280 Marcy-l'Etoile / France  
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
<http://www.biomerieux.com>

**bioMérieux, Inc**  
Box 15969,  
Durham, NC 27704-0969 / USA  
Tél. (1) 919 620 20 00  
Fax (1) 919 620 22 11

Imprimé en France



Le logo est une marque déposée et protégée qui est la propriété exclusive de bioMérieux sa ou de l'une de ses filiales.

## Annexe 07

### Résultats en chiffres de l'évaluation de quelques aptitudes technologiques

~ Evaluation de la vitesse d'acidification des isolats lactiques par le calcul de  $\Delta$ pH ~

Genre	Code	0 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h	$\Delta$ pH
<i>Enterococcus</i>	BL 1	6,53±0,01	6,50±0,07	6,34±0,01	6,13±0,03	6,05±0,04	4,67±0,03	<b>0,40</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 2	6,54±0,01	6,48±0,06	6,33±0,00	6,09±0,02	5,84±0,03	4,67±0,01	<b>0,45</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 3	6,54±0,00	6,39±0,01	6,31±0,01	6,11±0,01	5,84±0,08	5,10±0,03	<b>0,43</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 4	6,53±0,01	6,45±0,04	6,32±0,00	6,10±0,01	5,85±0,04	4,66±0,01	<b>0,44</b>
<i>Streptococcus</i>	BL 5	6,54±0,01	6,51±0,01	6,45±0,01	6,44±0,01	5,56±0,01	4,73±0,01	<b>0,10</b>
<i>Streptococcus</i>	BL 6	6,54±0,00	6,45±0,08	6,34±0,01	6,06±0,04	5,87±0,01	4,63±0,01	<b>0,49</b>
<i>Streptococcus</i>	BL 7	6,54±0,00	6,51±0,01	6,46±0,03	6,44±0,03	5,94±0,03	5,82±0,02	<b>0,10</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 8	6,54±0,00	6,51±0,01	6,41±0,01	6,21±0,04	5,22±0,04	4,61±0,01	<b>0,34</b>
<i>Streptococcus</i>	BL 9	6,54±0,00	6,45±0,04	6,41±0,00	6,37±0,03	6,24±0,02	5,44±0,04	<b>0,17</b>
<i>Leuconostoc</i>	BL 10	6,54±0,00	6,39±0,01	6,23±0,01	6,13±0,01	5,31±0,01	4,41±0,03	<b>0,42</b>
<i>Lactobacillus</i>	BL 11	6,54±0,00	6,43±0,01	6,22±0,01	5,78±0,01	5,37±0,01	4,88±0,01	<b>0,77</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 12	6,54±0,01	6,46±0,02	6,21±0,01	5,68±0,04	5,27±0,01	4,46±0,06	<b>0,86</b>
<i>Streptococcus</i>	BL 13	6,53±0,01	6,39±0,06	6,24±0,01	6,23±0,01	5,93±0,01	5,60±0,03	<b>0,30</b>
<i>Lactococcus</i>	BL 14	6,56±0,02	6,43±0,02	6,12±0,01	5,74±0,02	5,33±0,01	4,54±0,01	<b>0,82</b>
<i>Leuconostoc</i>	BL 15	6,54±0,00	6,32±0,02	6,27±0,02	6,21±0,04	5,48±0,00	4,24±0,03	<b>0,33</b>
<i>Lactobacillus</i>	BL 16	6,55±0,01	6,45±0,04	6,42±0,02	6,41±0,01	6,33±0,04	5,71±0,04	<b>0,14</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 17	6,53±0,01	6,42±0,01	6,10±0,01	5,63±0,01	4,82±0,03	4,28±0,01	<b>0,90</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 18	6,54±0,01	6,52±0,04	6,36±0,01	6,09±0,00	5,23±0,01	4,65±0,01	<b>0,45</b>
<i>Lactococcus</i>	BL 19	6,54±0,01	6,46±0,01	6,33±0,01	5,86±0,05	4,59±0,01	4,28±0,01	<b>0,68</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 20	6,53±0,01	6,46±0,03	6,36±0,01	6,13±0,04	5,13±0,01	4,64±0,00	<b>0,40</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 21	6,53±0,01	6,47±0,03	6,36±0,01	6,10±0,03	5,19±0,01	4,63±0,02	<b>0,45</b>
<i>Lactococcus</i>	BL 22	6,54±0,00	6,46±0,00	6,32±0,01	5,83±0,01	4,59±0,00	4,23±0,01	<b>0,71</b>
<i>Lactococcus</i>	BL 23	6,54±0,00	6,41±0,01	6,22±0,01	5,73±0,01	4,44±0,01	4,24±0,01	<b>0,82</b>
<i>Lactobacillus</i>	BL 24	6,54±0,00	6,45±0,01	6,44±0,02	6,41±0,01	6,35±0,02	6,09±0,02	<b>0,13</b>
<i>Leuconostoc</i>	BL 25	6,55±0,01	6,37±0,02	6,34±0,02	6,21±0,04	5,44±0,03	4,21±0,03	<b>0,34</b>
<i>Leuconostoc</i>	BL 26	6,55±0,01	6,31±0,01	6,19±0,01	6,12±0,02	5,81±0,01	4,82±0,01	<b>0,43</b>
<i>Lactobacillus</i>	BL 27	6,54±0,01	6,46±0,03	6,43±0,02	6,34±0,08	6,28±0,00	6,06±0,01	<b>0,20</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 28	6,54±0,01	6,34±0,01	6,09±0,01	5,64±0,02	4,87±0,03	4,45±0,04	<b>0,90</b>
<i>Enterococcus</i>	BL 29	6,53±0,01	6,37±0,04	6,34±0,01	6,11±0,01	5,88±0,04	4,71±0,01	<b>0,42</b>
<i>Lactococcus</i>	BL 30	6,55±0,01	6,39±0,01	6,20±0,01	6,05±0,08	5,01±0,01	4,57±0,03	<b>0,50</b>

~ Evolution en chiffres du pH et de l'acidité Dornic durant 24 heures d'incubation à 30°C des isolats sélectionnés ~

Isolats \ Temps	0 h		2 h		4 h		6 h		12 h		24 h	
	pH	AC										
<b>BL10</b>	6,54±0,00	15,0±0,0	6,39±0,01	16,5±0,5	6,23±0,01	20,5±0,5	6,13±0,01	23,5±0,5	5,31±0,01	41,5±2,0	4,41±0,03	81,0±1,5
<b>BL11</b>	6,54±0,00	15,5±0,5	6,43±0,01	16,5±0,5	6,22±0,01	19,5±0,5	5,78±0,01	20,5±0,5	5,37±0,01	35,0±1,5	4,88±0,01	68,0±2,0
<b>BL12</b>	6,54±0,01	15,0±0,0	6,46±0,02	17,0±0,0	6,21±0,01	21,0±1,5	5,68±0,04	27,0±0,0	5,27±0,01	39,0±1,5	4,46±0,06	72,0±0,5
<b>BL14</b>	6,56±0,02	16,0±1,5	6,43±0,02	19,5±0,5	6,12±0,01	22,5±0,5	5,74±0,02	26,5±0,5	5,33±0,01	40,5±0,5	4,54±0,01	76,0±1,5
<b>BL17</b>	6,53±0,01	15,5±0,5	6,42±0,01	16,5±0,5	6,10±0,01	22,0±0,0	5,63±0,01	31,5±0,5	4,82±0,03	52,0±1,5	4,28±0,01	75,0±1,5
<b>BL22</b>	6,54±0,00	14,5±0,5	6,46±0,00	17,0±0,0	6,32±0,01	20,5±0,5	5,83±0,01	27,0±1,5	4,59±0,00	68,0±0,0	4,23±0,01	85,0±0,5
<b>BL23</b>	6,54±0,00	15,0±0,0	6,41±0,01	17,5±0,5	6,22±0,01	21,0±1,5	5,73±0,01	26,0±1,5	4,44±0,01	74,0±1,5	4,24±0,01	88,0±1,5
<b>BL25</b>	6,55±0,01	15,0±0,0	6,37±0,02	18,0±1,5	6,34±0,02	21,5±2,0	6,21±0,04	22,5±0,5	5,44±0,03	32,5±0,5	4,21±0,03	80,0±2,5
<b>BL26</b>	6,55±0,01	15,5±0,5	6,31±0,01	18,5±0,5	6,19±0,01	21,5±0,5	6,12±0,02	21,5±2,0	5,81±0,01	33,0±2,5	4,82±0,01	63,0±3,5
<b>BL28</b>	6,54±0,01	14,5±0,5	6,34±0,01	17,0±1,5	6,09±0,01	23,5±0,5	5,64±0,02	29,0±1,5	4,87±0,03	54,0±1,5	4,45±0,04	72,0±2,0

pH, potentiel hydrogène

AC, acidité

~ Résultats en chiffres de l'étude de l'activité protéolytique et lipolytique des isolats purs ~

Code de souche	Activité protéolytique (mm)	Activité lipolytique (mm)
<b>BL10</b>	19,0 ± 4,0	5,5 ± 1,5
<b>BL11</b>	21,0 ± 2,0	0,0
<b>BL12</b>	40,0 ± 4,5	0,0
<b>BL14</b>	50,0 ± 5,5	6,5 ± 0,5
<b>BL17</b>	35,0 ± 2,0	5,5 ± 0,5
<b>BL22</b>	25,0 ± 4,0	5,5 ± 0,5
<b>BL23</b>	32,0 ± 4,5	6,0 ± 1,5
<b>BL25</b>	24,0 ± 3,5	0,0
<b>BL26</b>	9,0 ± 1,5	6,0 ± 1,0
<b>BL28</b>	10,0 ± 2,0	2,5 ± 3,5

~ Résultats en chiffres obtenus pour l'étude de l'activité antibactérienne des isolats lactiques vis-à-vis de quatre souches pathogènes (diamètre de la zone de lyse en mm) ~

Souche	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698
<b>BL10</b>	0,0	0,0	16,0 ± 2,5	0,0
<b>BL11</b>	0,0	11,0 ± 1,5	10,0 ± 2,5	12,0 ± 2,5
<b>BL12</b>	0,0	5,0 ± 7,0	13,0 ± 4,0	17,5 ± 3,5
<b>BL14</b>	0,0	18,5 ± 2,0	12,5 ± 2,0	21,0 ± 1,5
<b>BL17</b>	0,0	16,5 ± 4,5	15,5 ± 0,5	6,0 ± 8,5
<b>BL22</b>	0,0	25,0 ± 4,0	22,5 ± 3,5	0,0
<b>BL23</b>	0,0	10,0 ± 2,5	24,0 ± 8,5	14 ± 5,5
<b>BL25</b>	0,0	0,0	0,0	12,5 ± 3,5
<b>BL26</b>	0,0	17,0 ± 4,0	0,0	0,0
<b>BL28</b>	0,0	16,5 ± 3,5	0,0	0,0

**Tableau de MAC GRADY**

L'annexe 8 représente le tableau NPP de MAC GRADY pour le dénombrement des Streptocoques fécaux.

<b>NOMBRE LE PLUS PROBABLE (NPP) POUR TROIS SERIES PARALLELES</b>							
<b>Index Tubes positifs de</b>			<b>NPP (pour 10 g)</b>	<b>Index Tube positifs de</b>			<b>NPP (pour 10 g)</b>
10 g	1,0 g	0,1 g		10 g	1,0 g	0,1 g	
0	0	0	0,0	2	2	3	4,0
0	0	1	0,3	2	3	0	3,0
0	1	0	0,3	2	3	1	3,5
0	1	1	0,6	2	3	2	4,0
0	2	0	0,6	3	0	0	2,5
1	0	0	0,4	3	0	1	4,0
1	0	1	0,7	3	0	2	6,5
1	0	2	1,1	3	1	0	4,5
1	1	0	0,7	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	11,5
1	2	0	1,1	3	1	3	16,0
1	2	1	1,5	3	2	0	9,5
1	3	0	1,6	3	2	1	15,0
2	0	0	0,9	3	2	2	20,0
2	0	1	1,4	3	2	3	30,0
2	0	2	2,0	3	3	0	25,0
2	1	0	1,5	3	3	1	45,0
2	1	1	2,0	3	3	2	110,0
2	1	2	3,0	3	3	3	140,0
2	2	0	2,0				
2	2	1	3,0				
2	2	2	3,5				

# تحديد البكتيريا اللبنية المعزولة من زبدة الحليب، وتقييم المهارات التكنولوجية واستخدامها في صناعة القشدة الحامضة

## الملخص

تعتبر مشتقات الحليب مصدر هام للبكتيريا اللبنية. حاليا في الجزائر، اهتمام كبير أعطي للبكتيريا اللبنية للمنتوجات التقليدية المحلية.

تم عزل و تعريف ثلاثون سلالة من البكتيريا اللبنية من زبدة حليب البقر لمنطقة العلما ولاية سطيف.  
تبين أن هاته السلالات المعزولة تنتمي إلى خمسة أجناس:

*Enterococcus* (40%), *Lactococcus* (17%), *Streptococcus* (17%), *Leuconostoc* (13%),  
*Lactobacillus* (13%)

و باستعمال API 50 CH سمحت لنا النتائج بمعرفة السلالات التالية :

*Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides*, *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*,  
*Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*.

نتائج الاختبارات حول القابلية التكنولوجية للبكتيريا اللبنية النقية والممزوجة، أظهرت ان لها قدرة جيدة على رفع حموضة الوسط ، هدم البروتينات، قدرة عطرية، رفع اللزوجة، ومضادة للبكتيريا.  
أدى استعمال هذه الخمائر اللبنية في تكنولوجيا صنع قشدة الحليب الحامضة الى نوعية طازجة و مقبولة حسب المعايير الوطنية و الدولية.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا اللبنية، زبدة البقر، خميرة لبنية، القابلية التكنولوجية، قشدة الحليب الحامضة.

# Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw butter, assessment of their technological abilities and their use in sour cream manufacturing

---

## Summary

Dairy products are considered to be a good source of lactic acid bacteria. Currently in Algeria, indigenous lactic flora of local traditional products has given a considerable interest. Thirty lactic acid bacteria were isolated, purified and characterized from traditionally manufactured raw butter in laboratory using cow's milk from El-Eulma municipality (wilaya of Setif). These strains belong to five genera: *Enterococcus* (40%), *Lactococcus* (17%), *Streptococcus* (17%), *Leuconostoc* (13%), and *Lactobacillus* (13%). characterization with biochemical Gallery API 50 CH has classified the strains within the following species: *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides*, *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis* and *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*. The results of the evaluation of the technological ability of pure cultures and mixed starters demonstrate a good proteolytic activity, flavouring, texturizing, and antibacterial. The application of reconstituted mixed starters in sour cream manufacturing revealed a better hygienic quality that meets national and international standards.

---

**Key words:** lactic acid bacteria, raw butter, mixed starters, technological ability, sour cream.

# Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure

---

## Résumé

Les produits laitiers sont considérés comme une bonne source des bactéries lactiques. Actuellement en Algérie, un intérêt considérable est porté pour la flore lactique indigène des produits traditionnels locaux. Trente isolats lactiques ont été isolés, purifiés et caractérisés du beurre cru fabriqué traditionnellement au niveau du laboratoire à partir de lait de vache de la commune d'El Eulma (wilaya de Sétif). Ces souches appartiennent à cinq genres: *Enterococcus* (40%), *Lactococcus* (17%), *Streptococcus* (17%), *Leuconostoc* (13%), et *Lactobacillus* (13%). La caractérisation par la galerie biochimique API 50 CH, a classé les souches à l'intérieur des espèces suivantes : *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Mesenteroides*, *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis*, et *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*. Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques des cultures pures et des ferments mixtes reconstitués montrent une bonne capacité d'acidification, certaines ont montré une bonne activité protéolytique, aromatisante, texturante, et antibactérienne.

L'application des ferments mixtes reconstitués dans la fabrication de la crème sure a révélé une meilleure qualité hygiénique qui répond aux normes nationales et internationales.

---

**Mots clés:** Bactérie lactique, beurre cru, ferments mixtes, aptitudes technologiques, crème sure.