

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abderrahmane MIRA de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

## Mémoire

Présenté par  
M<sup>elle</sup> AIT CHAIT Yasmina

Pour l'obtention du diplôme de Magister

Filière : Biologie  
Option : Microbiologie Appliquée aux substances antimicrobiennes

## Thème

**Optimisation de l'affinage et de la conservation de fromages de chèvre dans l'huile d'olive en incluant une souche de *Lactobacillus plantarum***

*Soutenu le :*

*devant le jury composé de :*

### Noms et prénoms

### Grade

M <sup>me</sup> SADOUN D.	Professeur	Univ. de Bejaia	Présidente
M <sup>elle</sup> BENDALI F.	MCA	Univ. de Bejaia	Promotrice
M <sup>elle</sup> LOUAILECHE H.	Professeur	Univ. de Bejaia	Examinatrice
M <sup>me</sup> BEDJOU F.	Professeur	Univ. de Bejaia	Examinatrice

**2013/2014**

## Remerciements

Avant tout louange à "Allah" le tout puissant et le miséricordieux de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de Magister.

C'est avec un grand honneur que je remercie mon enseignante et ma promotrice M<sup>elle</sup> Bendali F., maître de conférences A (université de Bejaia) pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Je tiens à remercier infiniment le professeur M<sup>me</sup> Sadoun D. d'avoir accepté la présidence de ce jury de soutenance, qu'elle trouve ici l'expression de ma parfaite considération.

Mes sincères remerciements vont aux professeurs M<sup>me</sup> Bedjou F. et M<sup>elle</sup> Louaileche H. de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail et de participer au jury.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à M<sup>r</sup> Bouaoudia A. maître assistant au département des Sciences Alimentaires (F.S.N.V, U. Bejaia) pour son aide à réaliser l'analyse hédonique des fromages ainsi que les dégustateurs ayant participé à cette analyse.

Je remercie le personnel du laboratoire d'analyses physico-chimiques au niveau de l'unité « Tchîn-Lait/ Candia » (W. Bejaia) pour leur aide dans la détermination de la composition chimique du lait de chèvre.

Je n'oublie pas de remercier M<sup>r</sup> Kemiche Z. gérant de la maison Kemiche « IFRI Olive » (W. Bejaia) pour nous avoir fourni de l'huile d'olive vierge et vierge extra.

Des remerciements très particuliers sont présentés au personnel du Laboratoire « PREVOLAB » (El-Kseur, W. Bejaia) pour leur sympathie et leur aide précieuse dans la détermination de la composition chimique des fromages, je cite en particulier Soraya, Drifa et Warda.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également au fournisseur du lait de chèvre (Akbou, W. Béjaia).

Enfin, je voudrais remercier mes camarades du laboratoire de Microbiologie Appliquée et mes camarades de la promotion de magister (2013/2014) et toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'avancement de ce travail.

## Dédicaces

*A ma mère à laquelle je dois ma réussite et mon éducation. Tu m'as aimée très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Qu'ALLAH te donne longue vie et te garde en bonne santé.*

*A la mémoire de mon père que j'aime. Très cher père, j'aurais aimé que tu sois parmi nous aujourd'hui afin que je puisse te témoigner de ma reconnaissance pour ton sacrifice.*

*A mes deux frères Mokhtar et Abderzzak.*

*A ma très chère sœur Saida, son époux Mouhand (ne t'inquiète pas je ne demanderai plus de lait) et leurs petits anges Lydia, Riad et Rachid.*

***Yasmina***

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b> Quelques races de chèvre retrouvées en Algérie.....	04
<b>Figure 02.</b> Principales voies cataboliques des acides gras libres dans les fromages.....	16
<b>Figure 03.</b> Protéolyse des caséines et catabolisme des acides aminés pendant l'affinage des fromages.....	17
<b>Figure 04.</b> Micrographies de <i>Lactobacillus plantarum</i> sous microscopie optique (à droite) et électronique (à gauche).....	20
<b>Figure 05.</b> Voies de dégradation du glucose et du citrate chez <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	21
<b>Figure 06.</b> Pasteurisation du lait de chèvre au bain marie à 65°C/30 min.....	43
<b>Figure 07.</b> Diagramme de fabrication du fromage de chèvre affiné.....	44
<b>Figure 08.</b> Moulage des fromages.....	45
<b>Figure 09.</b> Essai d'affinage des fromages à 12°C.....	46
<b>Figure 10.</b> Fromages conservés dans de l'huile d'olive.....	47
<b>Figure 11.</b> Sujets naïfs en dégustation.....	50
<b>Figure 12.</b> Présentation des échantillons de fromages pour dégustation (A) et morceaux de pain et de pomme servant au nettoyage de la bouche (B).....	51
<b>Figure 13.</b> Test des spots montrant l'activité antibactérienne de <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^7$ UFC/ml) vis-à-vis de <i>Lc. lactis</i> S1 (A) et de <i>Lc. lactis</i> S2 (B).....	53
<b>Figure 14.</b> Test d'activité antibactérienne (test des spots) de <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^5$ UFC/ml) vis-à-vis de <i>Lc. lactis</i> S1 (A) et de <i>Lc. lactis</i> S2 (B).....	53
<b>Figure 15.</b> Exemples des résultats de l'activité antagoniste des trois souches lactiques à l'égard des bactéries pathogènes... ..	55
<b>Figure 16.</b> Résultats du test d'antagonisme des bactéries lactiques ( $10^9$ UFC/ml) à l'égard des souches pathogènes ( $10^6$ UFC/ml).....	55
<b>Figure 17.</b> Résultats du test d'antagonisme des combinaisons lactiques binaires à l'égard des souches pathogènes .....	56
<b>Figure 18.</b> Exemples des résultats de l'activité antagoniste de la combinaison lactique ( $10^3/10^3/10^3$ UFC/ml) à l'égard des bactéries pathogènes.....	57
<b>Figure 19.</b> Résultats du test d'antagonisme des combinaisons lactiques tertiaires à l'égard des souches pathogènes .....	57
<b>Figure 20.</b> Exemples d'activités protéolytiques des souches lactiques observées à 30°C (A) et à 12°C (B).....	61
<b>Figure 21.</b> Exemples de résultats montrant l'absence de toute activité lipolytique en présence de 1% de (A) crème de chèvre (B) huile d'olive (C) tween 80.....	62
<b>Figure 22.</b> Evolution de la croissance des trois souches lactiques dans du lait UHT inoculées à raison de $10^3$ UFC/ml (A) et de $10^5$ UFC/ml (B), à intervalles de temps bien définis. ....	63

<b>Figure 23.</b> Réduction du pH et production d'acide lactique par les trois souches lactiques en cultures pures inoculées à raison de $10^3$ UFC/ml (A) et $10^5$ UFC/ml (B), dans le lait UHT, à intervalles de temps bien définis .....	65
<b>Figure 24.</b> Aspect des colonies de <i>Lb. plantarum</i> S4 (flèches) dans les cultures mixtes sur gélose MRS au bout de 48 h à 30°C.....	67
<b>Figure 25.</b> Evolution du nombre de cellules de <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml) dans le lait UHT, inoculée avec <i>Lc. lactis</i> (S1 et S2), à intervalles de temps bien définis.....	68
<b>Figure 26.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre .....	72
<b>Figure 27.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé .....	75
<b>Figure 28.</b> Teneurs en matière sèche, matière grasse et en protéines des fromages frais fabriqués .....	79
<b>Figure 29.</b> Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais fabriqués .....	79
<b>Figure 30.</b> Evolution de la teneur en matière sèche, matière grasse et en protéines des fromages durant la période d'entreposage à 12°C.....	81
<b>Figure 31.</b> Evolution des différentes flores microbiennes des fromages fabriqués en incluant <i>Lb. plantarum</i> S4 durant les 7 premiers jours d'entreposage (12°C).....	82
<b>Figure 32.</b> Evolution des différentes flores microbiennes dans les fromages fabriqués en absence de <i>Lb. plantarum</i> S4 durant les 7 premiers jours d'entreposage (12°C).....	82
<b>Figure 33.</b> Carte de préférences et courbes de niveaux générées lors de l'analyse hédonique.....	91

## Liste des figures en annexe

### Annexe 6 : Résultats du suivi de la croissance et de l'évolution de l'acidification des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé

**Figure 01.** Evolution de la croissance des trois souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et de  $10^5$  UFC/ml (B), à intervalles de temps bien définis

**Figure 02.** Réduction du pH et production d'acide lactique par les trois souches lactiques en cultures pures dans le lait de chèvre pasteurisé inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et  $10^5$  UFC/ml (B) à intervalles de temps bien définis

**Figure 03.** Evolution du nombre de cellules de *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  UFC/ml) dans le lait de chèvre pasteurisé, inoculée avec *Lc. lactis* (S1 et S2), à intervalles de temps bien définis.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Principales caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre.....	05
<b>Tableau II.</b> Principales transformations biochimiques au cours de l'affinage.....	15
<b>Tableau III.</b> Données physico-chimiques des différentes classes d'huile d'olive.....	31
<b>Tableau IV.</b> Teneurs en quelques acides gras exprimées en pourcentage par rapport aux acides gras totaux.....	32
<b>Tableau V.</b> Souches lactiques (test et cibles) utilisées lors du test des spots.....	36
<b>Tableau VI.</b> Combinaisons lactiques testées.....	37
<b>Tableau VII.</b> Analyse microbiologique du lait cru de chèvre.....	42
<b>Tableau VIII.</b> Les différents types de fromages fabriqués.....	47
<b>Tableau IX.</b> Résultats du test des spots des bactéries lactiques l'une à l'égard de l'autre.....	53
<b>Tableau X.</b> Résultats de l'activité protéolytique des souches lactiques.....	59
<b>Tableau XI.</b> Pouvoir acidifiant des cultures mixtes testées (pH et acidité exprimée en g d'acide lactique /l).....	70
<b>Tableau XII.</b> Composition chimique du lait cru de chèvre (%).....	71
<b>Tableau XIII.</b> Classement des laits en fonction du test de la réductase.....	72
<b>Tableau XIV.</b> Comparaison des résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre aux critères microbiologiques du J.O.R.A (1998).....	74
<b>Tableau XV.</b> Comparaison des résultats de l'analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé aux critères microbiologiques du J.O.R.A (1998).....	75
<b>Tableau XVI.</b> Composition chimique (%) du lait de chèvre après pasteurisation (65°C/ 30 min).....	76
<b>Tableau XVII.</b> Evolution des paramètres physico-chimiques des fromages au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive.....	85
<b>Tableau XVIII.</b> Evolution des différentes flores microbiennes des fromages au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive (log UFC/g de fromage).....	86
<b>Tableau XIX.</b> Evolution de la teneur en acides gras libres (mg/100g de fromage) des fromages fabriqués en présence ou en absence de <i>Lb. plantarum</i> .....	88

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## Partie bibliographique

### I : Lait de chèvre

I.1. Aperçu sur le caprin.....	3
I.2. Aperçu sur la production de lait de chèvre.....	3
I.3. Caractéristiques du lait de chèvre.....	4
I.3.1. Caractéristiques physicochimiques.....	5
I.3.2. Composition chimique.....	5
I.3.3. Caractéristiques microbiologiques.....	7
I.3.4. Caractéristiques nutritionnelles.....	8

### II : Fromages au lait de chèvre

II.1. Définition .....	9
II.2. Etapes clés de la fabrication fromagère.....	9
II.2.1. Coagulation.....	9
II.2.2. Egouttage.....	10
II.2.3. Affinage.....	10
II.3. Caractéristiques et évaluation de la phase d'affinage.....	11
II.3.1. Facteurs de variation de l'affinage.....	11
II.3.2. Biochimie de l'affinage.....	14
II.3.3. Microbiologie de l'affinage .....	18

### III : *Lactobacillus plantarum*

III.1. Caractéristiques générales.....	20
III.2. Métabolisme et équipement enzymatique.....	20
III.3. Rôle dans l'affinage des fromages.....	22
III.3.1. Présence de <i>Lb. plantarum</i> dans les fromages affinés.....	22
III.3.2. Contribution de <i>Lb. plantarum</i> dans l'affinage des fromages.....	23
III.4. Rôle dans la bio-conservation .....	25
III.5. Ubiquité de <i>Lb. plantarum</i> .....	27

### IV : Huile d'olive

IV.1. Aperçu sur la production de l'huile d'olive.....	28
IV.2. L'huile d'olive en tant que conservateur d'aliments.....	28
IV.3. Caractéristiques de l'huile d'olive.....	29
IV.3.1. Différents types d'huile d'olive.....	29
IV.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	30
IV.3.3. Composition chimique.....	31
IV.3.4. Caractéristiques microbiologiques.....	33

# Partie pratique

## I. Matériel et méthodes

I.1. Souches utilisées .....	35
I.2. Revivification et vérification de la pureté des souches .....	35
I.3. Standardisation des <i>inocula</i> .....	35
I.4. Recherche de l'activité antibactérienne.....	36
I.4.1. Recherche de l'activité antibactérienne croisée des souches lactiques .....	36
I.4.2. Recherche de l'activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries pathogènes .....	37
I.5. Etude de quelques aptitudes technologiques des souches lactiques .....	37
I.5.1. Activité protéolytique .....	38
I.5.2. Activité lipolytique.....	38
I.5.3. Activité autolytique.....	38
I.6. Culture dans le lait .....	39
I.6.1. Adaptation des souches au milieu lait .....	39
I.6.2. Croissance dans le lait UHT .....	39
I.7. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé.....	40
I.7.1. Origine des échantillons de lait de chèvre.....	40
I.7.2. Analyses physico-chimiques.....	40
I.7.3. Appréciation de la qualité hygiénique du lait cru de chèvre.....	41
I.7.4. Pasteurisation du lait cru de chèvre .....	42
I.7.5. Croissance dans le lait de chèvre pasteurisé .....	43
I.8. Protocole de fabrication du fromage .....	43
I.8.1. Préparation des pré-cultures.....	45
I.8.2. Ensemencement du lait de chèvre.....	45
I.8.3. Emprésurage.....	45
I.8.4. Moulage et égouttage.....	45
I.9. Affinage.....	46
I.10. Conservation dans l'huile d'olive.....	46
I.11. Analyse des fromages .....	47
I.11.1. Prélèvement .....	47
I.11.2. Analyse physico-chimique .....	48
I.11.3. Analyse microbiologique.....	49
I.12. Détermination de la qualité organoleptique .....	50
I.12.1. Choix de l'épreuve.....	50
I.12.2. Présentation des échantillons.....	50
I.13. Analyse statistique.....	51



## II. Résultats et discussion

### Chapitre 1. Etudes des aptitudes technologiques de souches lactiques

II.1. Vérification de la pureté des souches.....	52
II.2. Standardisation des <i>inocula</i> .....	52
II.3. Activité antibactérienne .....	52
II.3.1. Activité antibactérienne croisée des souches lactiques.....	52
II.3.2. Activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries pathogènes.....	54
II. 4. Aptitudes technologiques des souches lactiques.....	58
II.4.1. Activité protéolytique .....	58
II.4.1. Activité lipolytique .....	61
II.4.3. Activité autolytique.....	62
II.5. Croissance des souches lactiques dans le lait .....	63
II.5.1. Adaptation des souches au milieu lait .....	63
II.5.2. Suivi de l'évolution de la croissance et de l'acidification (pH et acidité titrable) des cultures (pures et mixtes) des souches lactiques dans le lait UHT .....	63

### Chapitre 2. Analyse du lait de chèvre

II.6. Analyse du lait cru de chèvre .....	70
II.6.1. Paramètres physico-chimiques (pH, acidité et densité) .....	70
II.6.2. Composition chimique.....	71
II.6.3. Qualité hygiénique.....	72
II.7. Pasteurisation du lait de chèvre .....	74
II. 7. 1. Effet de la pasteurisation sur la flore microbienne.....	74
II. 7. 2. Effet de la pasteurisation sur la composition chimique du lait de chèvre.....	76
II. 7. 3. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé.....	76

### Chapitre 3. Analyse des fromages de chèvre

II.8. Suivi de la qualité du fromage de chèvre au cours de la phase d'affinage et de la conservation dans l'huile d'olive.....	77
II.8.1. Fabrication de fromages de chèvre .....	77
II.8.2. Analyse des fromages frais.....	78
II.8.3. Suivi de la qualité des fromages pendant la période d'affinage .....	79
II.8.4. Conservation des fromages dans l'huile d'olive .....	84
II.10. Analyse sensorielle.....	87
II.10. 1. Contexte général.....	87
II.10. 2. Cartographie de préférence « Preference mapping ».....	88
<b>Conclusion</b> .....	92

### Références bibliographiques

### Annexes

## Liste des abréviations

**ADNr.** Acide desoxyribonucléique ribosomique

**A.F.NOR.** Association Française de NORMALISATION.

**A.O.A.C.** Association of Official Analytical Chemistry

**ATCC.** American Type Culture Collection

**Aw.** Activity of Water

**C.I.P.E.A.** Centre International pour l'Elevage en Afrique

**CIP.** Collection de l'Institut Pasteur

**CLIP.** Collection de Listeria de l'Institut Pasteur

**C.O.I.** Conseil Oléicole International

*E. Escherichia*

**F.A.O.** Food and Agriculture Organization

**IRTF.** Infra Rouge à Transformée de Fourier

**I.T.A.F.V.** Institut Technique de L'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

**J.O.R.A.** Journal Officiel de la République Algérienne

**J.O.R.F.** Journal Officiel de la République Française

**kDa.** kilo Dalton

**kCal.** kilo Calorie

*L. Listeria*

*Lb. Lactobacillus*

*Lc. Lactococcus*

**MRS.** de Man Rogosa and Sharpe

**mV.** milli Volte

**nm.** nanomètre

**NSLAB.** Non Starter Lactic Acid Bacteria

**NT.** Nitrogen Total

**OGA.** Oxytetracycline Glucose Agar

*P. Pseudomonas*

**pb.** Paire de base

**PCA.** Plate Count Agar

**Pi.** Phosphate inorganique

**PLA.** Phenyllactic Acid

**Pro.** Proline

*S. Staphylococcus*

*Sal. Sallmonella*

**SAL.** Salmonelles

**sp.** Species

**spp.** Species plural

**ssp.** Subspecies

**STF.** Staphylocoques

**UFC.** Unité Formant Colonie

**UHT.** Ultra Haute Température

**UV.** Ultra Violet

**v/v.** volume/ volume

**VF.** Viande foie

**VRBL.** Violet crystal Neutral Red Bile Lactose

**w/v.** weight/ volume

## Introduction

En raison de leurs caractéristiques nutritives et organoleptiques très appréciées, les fromages au lait de chèvre ont reçu de plus en plus d'intérêt (**Saldo et al., 2003**).

La production de fromages de chèvre, bien quelle soit modeste, a une place non négligeable tant pour la consommation que pour l'économie des pays producteurs. En Algérie, la transformation de lait de chèvre reste faible malgré la rusticité et l'adaptation de la chèvre aux conditions qu'offre notre pays. Les produits dérivés sont la plupart du temps des laits fermentés (Raib et Lben) et du fromage frais (Jben), le plus souvent de qualité sensorielle variée. De même, la production de fromages reste artisanale et leur qualité non maîtrisée dépendante de la qualité du lait entrant dans leur formation et des pratiques familiales. La valorisation de ce produit nécessite la maîtrise de sa qualité, aussi bien hygiénique qu'organoleptique (**Badis et al., 2005**).

L'observation que les fromages au lait cru développent des saveurs plus intenses que ceux fabriqués au lait pasteurisé a suggéré que les bactéries lactiques non levains (en anglais : *Non Starter Lactic Acid Bacteria* NSLAB) jouent un rôle important au cours du processus d'affinage et que leur présence est bénéfique pour le développement des saveurs de fromages (**Grappin et Beuvier, 1997**). Ceci a conduit à leur utilisation en tant que cultures supplémentaires dans la fabrication du fromage, dans le but de répondre à la demande croissante des consommateurs pour des fromages ayant des propriétés organoleptiques améliorées (**Van Hoorde et al., 2010**).

Les lactobacilles mésophiles s'avèrent être les plus utilisés dernièrement comme cultures supplémentaires dans la fabrication fromagère dans le but d'améliorer la saveur et d'accélérer l'affinage des fromages.

*Lactobacillus (Lb.) plantarum* est l'espèce de lactobacilles non levain la plus largement isolée des fromages (**Bresford et al., 2001**). Son inclusion dans ces derniers permet d'accélérer leur maturation et par conséquent d'améliorer leur qualité organoleptique. Plusieurs études ont été menées pour montrer la contribution de cette espèce à la formation des saveurs des fromages (**Liu et al., 2003 ; Burns et al., 2012**). En effet, *Lb. plantarum* a la capacité de dégrader les protéines, les lipides et de métaboliser le lactose résiduel afin de libérer des composés aromatiques dans les fromages. D'autre part, l'association de *Lb. plantarum* avec des souches de *Lactococcus* dans les fromages permet d'inhiber la croissance

de microorganismes indésirables en produisant des substances antimicrobiennes telles que les bactériocines et qui peuvent jouer un rôle dans la conservation (**Poveda et al., 2003**).

La conservation du fromage peut être également assurée par un autre moyen déjà pratiqué par les civilisations anciennes « la macération dans l'huile d'olive ». Il a été rapporté que les gallo-romains consommaient du fromage macéré dans l'huile d'olive. De même, les romains conservaient le Manchego, un fromage traditionnel espagnol, dans de l'huile d'olive et le stockaient dans de grandes jarres en terre, ce qui est effectivement le meilleur moyen de conserver ce genre de fromage semi-dur (**La Grandier et al., 2003**).

L'huile d'olive connue pour ses propriétés antimicrobiennes pourrait jouer le rôle d'un bio-conservateur dans certains aliments et exercer un effet protecteur contre les agents pathogènes d'origine alimentaire (**Brenes, 2006**). De plus, l'huile d'olive pourrait améliorer la qualité organoleptique des fromages en leur conférant une saveur caractéristique.

En se basant sur ces données de la littérature, nous allons essayer au cours de cette étude d'une part :

- De mettre au point un fromage au lait de chèvre en utilisant de nouvelles souches isolées localement à savoir deux souches de lactocoques en tant que levains et en incluant ou non une souche de *Lb. plantarum* en tant que souche supplémentaire « non levain » et ceci afin de mettre en évidence la valeur ajoutée apportée par cette souche lors de la fabrication et de l'affinage.

- D'autre part, d'explorer l'effet de la conservation dans de l'huile d'olive vierge et vierge extra sur la qualité organoleptique et microbiologique des fromages fabriqués et ceci à travers une analyse microbiologique et une analyse hédonique.

Le mémoire est subdivisé en trois parties principales. La première est une synthèse bibliographique relative au sujet, qui présente en premier lieu l'importance du lait et des fromages de chèvre, et en second lieu, le rôle de *Lb. plantarum* et de l'huile d'olive dans l'affinage et la conservation des fromages. La deuxième partie détaille la méthodologie de travail et récapitule les résultats obtenus étayés par une discussion.

Enfin une conclusion générale permet de résumer les principaux résultats obtenus et de discuter les perspectives et applications potentielles d'un tel travail.

## **I. 1. Aperçu sur le caprin**

Domestiqué il y a plus de 10000 ans avant Jésus-Christ, la chèvre (*Capra hircus*) est réputée pour sa rusticité. C'est un animal adapté aux conditions rudes et à la sécheresse, où bovins et ovins ne peuvent survivre (**Gaddour et al., 2007**).

Bien que l'élevage caprin a été considérablement moins soutenu tant sur le plan de la production que sur celui de la recherche que d'autres élevages tel que celui des vaches laitières, l'inventaire caprin mondial a montré une progression de 70% en passant de 462 millions de têtes en 1985 à 786 millions de têtes en 2005 (**F.A.O., 2006**). Selon les statistiques de la **F.A.O. (2006)**, l'Asie a montré la croissance la plus active de la population caprine mondiale, avec 83%, due principalement à la participation de la Chine et de l'Inde avec 195,8 et 120 millions de têtes respectivement. En seconde position, vient le continent africain avec 28,1% du cheptel mondial. L'Amérique et l'Europe viennent clore ce classement avec respectivement 4,6 et 2,3%.

Concernant le cheptel caprin algérien, il comprend environ 3,8 millions de têtes dont 2,2 millions de chèvres, il représente 15% du cheptel global et vient après le cheptel ovin qui représente 78% (**Nadjraoui, 2008**). Son effectif est plus élevé dans les zones montagneuses et surtout broussailleuses (piémonts de montagnes), dans les zones steppiques et le sud saharien (oasis) que dans les zones littorales où l'espèce est faiblement présente (**Badis et al., 2005**).

Bien que relativement homogène, la population caprine algérienne est divisée en quatre races : la race Arabia, la race Makatia, la naine de Kabylie et la chèvre du M'zab, auxquelles s'ajoute le cheptel importé (notamment les races Alpine et Saanen) (figure 01) et les produits de croisement (**Feliachi, 2003**).

## **I. 2. Aperçu sur la production de lait de chèvre**

La production de lait de chèvre se place en troisième position après celle du lait de vache et de bufflonne mais elle est assez irrégulièrement répartie dans le monde selon les zones géographiques et selon les pays (**Le Jaouen et al., 1990**).

En Algérie, malgré une progression de 4,7% en 2003, la production laitière demeure encore insuffisante pour combler un déficit estimé à 3 milliards de litres, alors que le lait frais collecté (dont 80% issus du bovin) n'atteint pas 1 milliard de litres /an. Dans cette proportion, le lait de chèvre représente environ 5% de cet apport (**Ghozlane et al., 2006**).



La chèvre Arabia



La naine de Kabylie



La chèvre Alpine



La chèvre Saanen

**Figure 01. Quelques races de chèvre retrouvées en Algérie.**

(Source : <http://www.fotosearch.fr/photos-images/chèvre> (20/01/13)).

### I. 3. Caractéristiques du lait de chèvre

A l'instar du lait de vache, le lait de chèvre est une émulsion de matière grasse sous forme de globules gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines de lactosérum,...), les autres sous forme colloïdale (caséines) (**Doyon, 2005**).

En raison de l'absence de  $\beta$ -carotène, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache, blancheur se répercutant sur les produits laitiers caprins. Le lait caprin est légèrement sucré et il est caractérisé par un goût plus relevé que le lait de vache et une saveur particulière assez neutre dite caprine, ceci est dû à la présence d'acides gras caprique, caprylique et caproïque qui donnent au fromage de chèvre un goût agréable (**Zeller, 2005**).

Le goût fort du lait de chèvre est dû à une traite non hygiénique, à certaines sortes d'aliments pour bétail, à un traitement inadéquat ou à un mauvais stockage du lait (**Jaubert et al., 1997**).

### I. 3. 1. Caractéristiques physico-chimiques

Le tableau I rassemble les principales caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre.

**Tableau I. Principales caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre (F.A.O., 1990).**

Energie (kCal / litre)	600-750
Densité du lait entier à 20°C	1,027-1,035
Point de congélation (°C)	-0,550--0,583
pH à 20°C	6,50-6,80
Acidité titrable (°Dornic)	12-14
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dynes/cm)	52
Conductivité électrique à 25°C (siemens)	43-56 x 10 <sup>-4</sup>
Viscosité du lait entier à 20°C (centipoises)	1,8-1,9
Indice de réfraction	1,35-1,46

### I. 3. 2. Composition chimique

Les laits sécrétés par les différentes espèces de mammifères présentent des caractéristiques communes, et contiennent les mêmes composants : eau, protéines, lactose, matière grasse et minérale (**Chilliard et Sauvart, 1987**). Cependant, les proportions respectives de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre selon le stade de lactation, la saison de l'année et de nombreux autres facteurs (**Mahé, 1996**).

#### I. 3. 2. 1. Matière grasse

Le lait de chèvre contient en moyenne entre 35 et 40 g/l de matière grasse. C'est le constituant le plus variable du lait, il se compose principalement de glycérides (99%) et de phospholipides, de cérebrosides, de cholestérol et d'acides gras libres (**Le Mens, 1985**). Cette matière grasse se trouve sous forme de globules ayant un diamètre moyen comparable à ceux du lait de vache, mais avec un pourcentage plus important de globules de petite taille et ne contient pas d'agglutinines qui favorisent la formation de crème dans le lait de vache. Ces deux particularités peuvent expliquer que le lait de chèvre soit plus difficile à écrémer à froid, et contribuent à sa bonne digestibilité (**Chilliard, 1996**).

La membrane du globule gras caprin est composée de protéines montrant une forte tendance à l'association aux caséines, qui ne se trouvent pas dans le lait bovin. Les triglycérides contiennent un pourcentage plus élevé d'acides gras contenant de six à dix

atomes de carbone, soit les acides caproïque, caprylique et caprique. Ces triglycérides sont plus sujets à la lipolyse, laquelle provoque l'apparition d'une odeur de rance (**Vignola, 2002**).

### **I. 3. 2. 2. Protéines**

La fraction protéique du lait se trouve dans la phase aqueuse, soit à l'état « soluble » (protéines de lactosérum), soit à l'état de suspension colloïdale (micelles de caséines).

Par rapport au lait de vache, la teneur en protéines est nettement plus faible dans le lait de chèvre (28 g/l contre 32 g/l) (**Roudj et al., 2005**). Ce fait a une répercussion sur le pourcentage de caséines, d'environ 2,3 %, qui donne un rendement fromager inférieur à celui du lait de vache. Les principaux types de caséines sont identiques mais, généralement, le lait de chèvre est plus pauvre en  $\alpha_{s1}$ -caséine et plus riche en  $\beta$ -caséine. Ce faible taux de  $\alpha_{s1}$ -caséine explique que le fromage de chèvre a un goût amer moins prononcé puisque se sont les peptides provenant de l'hydrolyse de cette protéine qui donnent le plus d'amertume (**Vignola, 2002**).

Les principales protéines du sérum sont identiques à celles du lait de vache, soit l' $\alpha$ -lactalbumine, la  $\beta$ -lactoglobuline et les immunoglobulines. Par contre, la teneur en  $\alpha$ -lactalbumine est supérieure dans le lait de chèvre alors que la teneur en  $\beta$ -lactoglobuline est inférieure (**Vignola, 2002**).

### **I. 3. 2. 3. Lactose**

Les glucides du lait sont essentiellement constitués de lactose et de quelques autres sucres en faible quantité, dont le glucose. Comparativement au lait de vache (50 g/l), le lait de chèvre est moins riche en lactose, avec une variation de 44 à 47 g/l. C'est le constituant le plus stable du lait de chèvre au cours de la lactation (**Roudj et al., 2005**).

### **I. 3. 2. 4. Minéraux**

La fraction minérale du lait caprin, ne représente qu'une faible portion de celui-ci, en moyenne 8% de la matière sèche auprès de 7% pour le lait de vache. Elle joue un rôle important dans la structure et la stabilité des micelles de caséines (**Gaucheron, 2005**).

Les minéraux présents dans le lait de chèvre et le lait de vache sont identiques. Toutefois, le lait de chèvre est légèrement plus riche en calcium et phosphore et nettement plus riche en magnésium, potassium et chlore, par contre il est moins riche en sodium et citrate (**Guéguen, 1996**).



### **I. 3. 2. 5. Vitamines**

Les données sur le contenu vitaminique du lait de chèvre montrent que la vitamine A y est plus présente que dans le lait de vache. Il est particulièrement plus pauvre en vitamines C, D, B12, pyridoxine et acide folique (**Vignola, 2002**).

### **I. 3. 3. Caractéristiques microbiologiques**

Le lait de chèvre cru obtenu aseptiquement contient, en général, moins de 5000 microorganismes/ml. Ces microorganismes sont communément classés selon leur importance, en deux grandes classes : la flore originelle et la flore contaminante (**Richard, 1983**).

#### **I. 3. 3. 1. Flore originelle**

Le lait qui sort du pis est pratiquement stérile. La flore originelle du lait se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans celui-ci à la sortie du pis. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs (**Champagne et al., 2000**).

Les genres dominants de la flore originelle sont principalement des microorganismes utiles pour la transformation ultérieure du lait frais tel que *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc* spp. (flore dite acidifiante ou lactique) (**Tormo, 2010**).

#### **I. 3. 3. 2. Flore contaminante**

La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la traite jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération et/ou d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (**Guiraud, 1998**).

##### **➤ Flore d'altération**

La flore d'altération cause des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduit la durée de vie du produit laitier.

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas*, *Proteus*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulés tel que *Bacillus* sp. et certaines levures et moisissures (**St-Gelais et al., 1999**).

##### **➤ Flore pathogène**

La présence de microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'Homme (**Guiraud, 1998**).

Des études réalisées sur la flore microbienne du lait de chèvre ont mis en évidence la présence de *Staphylococcus aureus* dans 3 % de cas de mammites (**Contreras et al., 1993**).

Les exigences réglementaires pour la protection de la santé publique imposent des normes sanitaires strictes vis-à-vis des trois agents pathogènes majeurs qui sont : *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* spp.. Ces bactéries, si elles sont présentes dans le lait peuvent rendre les produits laitiers insalubres en raison de leur pouvoir pathogène (**Guiraud, 1998**).

### **I. 3. 4. Caractéristiques nutritionnelles**

Le lait de chèvre a certains attributs qui ont des particularités significatives pour la nutrition humaine. **Haenlein (1998)** a démontré que les protéines du lait de chèvre sont digérées plus facilement et ses acides aminés sont absorbés de façon plus efficace que ceux du lait de vache. Le lait de chèvre, une fois acidifié, pourrait former un caillé plus doux et plus friable, donc, il peut être hydrolysé plus facilement et plus rapidement par les protéases (pepsine) de l'estomac, il peut présenter un avantage pour les gens souffrant de désordres gastro-intestinaux et d'ulcères.

Tel qu'indiqué en paragraphe I.3.2.1, le lait de chèvre est plus riche en globules gras plus petits que le lait de vache et il contient plus d'acides gras à chaînes courtes et moyennes (4 à 12 carbones). Ceci peut contribuer à une meilleure digestibilité car les lipases hydrolysent les liaisons esters formées par les acides gras à courte chaîne plus facilement qu'elles ne le font avec celles formées par les acides gras à longues chaînes (**Knights et Garcia, 1997**).

Des études réalisées par **Touhami (1996)** sur l'effet du lait de chèvre chez des enfants souffrant de malnutrition, ont montré que même dans les conditions extrêmes, ce lait peut contribuer à maintenir l'état nutritionnel des enfants. Une équipe de pédiatres (**Roy, 2003**) a montré également qu'il était possible de réalimenter à l'aide de lait de chèvre, avec succès, des enfants manifestant une intolérance aux protéines bovines.

## **II. 1. Définition**

L'intérêt majeur de la transformation du lait en fromage est de conserver ses principaux constituants. Le *Codex Alimentarius* à la norme A6 donne la définition suivante : le fromage est le produit frais ou affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines n'excède pas celui du lait, obtenu : 1) par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaisons, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation; 2) par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des matières obtenues à partir de lait, présentant des caractères physiques, chimiques et organoleptiques similaires à ceux du produit défini plus haut (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

Selon cette même norme, le fromage «affiné» est celui qui n'est pas prêt à la consommation immédiatement après la fabrication, qui doit être maintenu pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

## **II. 2. Etapes clés de la fabrication fromagère**

La transformation du lait en fromage comporte, pour la plus grande partie des fromages, trois étapes principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage (**Mietton et al., 1994**).

### **II. 2. 1. Coagulation**

Cette opération est le résultat des modifications physico-chimiques intervenant au niveau des micelles de caséines. Elle aboutit à la formation d'un réseau protéique de caséines retenant la matière grasse et une partie de la phase aqueuse (le lactosérum) (**Brulé et al., 2006**). La coagulation peut être provoquée par l'acidification, par l'action d'une enzyme coagulante ou encore par l'action combinée des deux. Dans le cas de la coagulation acide, l'abaissement du pH induit la solubilisation du calcium et du phosphate inorganique. Par conséquent, les micelles de caséines se lient entre-elles et forment un gel cassant, très friable et peu élastique (**Mietton, 1995**).

La coagulation enzymatique est quant à elle due à l'action d'enzymes protéolytiques d'origine animale, végétale ou microbienne dont la présure est l'enzyme coagulante la plus connue provenant de caillettes de veaux non sevrés. Cette enzyme correspond en réalité à deux fractions actives : l'une majeure (80 %), constituée par la chymosine, l'autre mineure

(20 %), est représentée par la pepsine (**Eck, 1990**). Il a été établi qu'au cours de la coagulation enzymatique, la présure en hydrolysant la caséine  $\kappa$  au niveau de la liaison Phenylalanine (105)- Méthionine (106), induit une déstabilisation des micelles de caséines qui vont peu à peu flocculer pour former un gel ferme, compact et ayant une bonne cohésion (**Veisseyre, 1979**).

### **II. 2. 2. Egouttage**

Cette étape correspond à une séparation physique entre solide et liquide. Puisque le gel obtenu par la floculation des caséines est instable, il se transforme rapidement à la suite de la contraction des micelles, ce qui provoque l'expulsion de la phase liquide hors du caillé. Ce phénomène appelé synérèse permet de séparer le caillé, contenant la caséine et la matière grasse, du sérum qui contient le lactose, les minéraux et les protéines solubles du lait. L'égouttage est effectué par essorage ou dans des moules qui confèrent au fromage sa forme (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

### **II. 2. 3. Affinage**

Le processus d'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique des composants du caillé égoutté. La coagulation et l'égouttage assurent la préparation d'un substrat, essentiellement constitué de caséines, de matière grasse, d'une quantité résiduelle de lactose et de minéraux et d'une fraction des constituants solubles du lait. Ce substrat contient une biomasse microbienne et des enzymes actives qui le transforment continuellement pendant l'affinage. A l'issue de cette étape, le fromage acquiert une texture et une saveur caractéristiques (**Eck et Gillis, 2006**).

Selon **Mietton (1995)**, l'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir la dégradation des protéines (protéolyse), l'hydrolyse de la matière grasse (lipolyse) et la fermentation du lactose (glycolyse).

Généralement, le temps d'affinage varie en moyenne de 12 à 45 jours suivant les fromages et les qualités organoleptiques désirées (**Eck et Gillis, 2006**).

La durée d'affinage des fromages de chèvre lorsqu'ils ne sont pas commercialisés en frais est relativement courte (de quelques jours à 4 semaines). Ces fromages sont d'abord placés en séchoir puis en cave pour leur assurer un certain affinage mais celui-ci reste généralement de courte durée (**Pradal, 2012**).

Parmi ces fromages à courte durée d'affinage, on trouve le « Rigotte de Condrieu » qui est un fromage au lait cru de chèvre affiné pendant 8 jours et le « Neufchatel » qui a une durée d'affinage de 10 jours (**J.O.R.F., 2013**).

### **II. 3. Caractéristiques et évaluation de la phase d'affinage**

L'affinage est un processus lent, impliquant une série de réactions microbiologiques, chimiques et biochimiques qui résultent de l'activité des enzymes natives du lait ou de celles qui sont issues de microorganismes rajoutés à ce dernier en vue de sa transformation en fromage (bactéries lactiques et moisissures). La dégradation primaire des constituants du lait par la glycolyse, la lipolyse et la protéolyse conduit à la formation d'un ensemble de composés aromatiques. Ces dégradations, suivie par une série de réactions cataboliques secondaires ont un fort impact sur la texture, la flaveur et les qualités nutritionnelles du produit fini (**Marilley et Casey, 2004**).

#### **II. 3. 1. Facteurs de variation de l'affinage**

Les facteurs susceptibles d'agir sur le développement des microorganismes, la production d'enzymes et l'activité enzymatique peuvent influencer de façon déterminante sur le processus de maturation de la pâte fromagère (**Eck, 1990**). Ils peuvent être classés en deux catégories : les facteurs internes qui sont propres aux fromages et les facteurs externes liés à l'environnement. Individuellement, l'effet de ces facteurs ne peut pas être très important, mais leur effet conjoint est le facteur réel (**Fox et al., 1993**).

##### **II. 3. 1. 1. Facteurs internes**

###### **➤ pH**

L'influence du pH sur le développement microbien et l'activité enzymatique est particulièrement déterminante. Parmi les microorganismes intervenant dans l'affinage, seules les bactéries lactiques, les levures et les moisissures peuvent se développer à pH inférieur à 5. L'activité des enzymes est également très sensible aux variations de pH. Il a été observé que l'activité maximale de la plupart des protéases microbiennes, se situe dans l'intervalle de pH 5–7,5 et celle des lipases dans la zone 7,5–9,0. Au dessous de pH 4,5, la stabilité de nombreuses enzymes est par contre fortement réduite (**Mietton, 1995**).

### ➤ **Activité de l'eau**

Lors de l'affinage, l'activité de l'eau ( $a_w$ ) des fromages constitue un paramètre tout aussi important que la température ou le pH pour le développement des microorganismes et la vitesse de certaines réactions enzymatiques. Même les propriétés texturales (fermeté du fromage) peuvent, dans une certaine mesure, y être rapportées (**Marcos, 1993**).

En effet, l'abaissement de l' $a_w$  augmente la durée de la phase de latence des microorganismes et diminue sélectivement leur vitesse de croissance. Ainsi, les bactéries sont très sensibles à l'abaissement de l' $a_w$  et aucun développement n'a été enregistré en dessous d'une activité de l'eau de 0,85 (**Hardy, 1997**). Parallèlement à son effet sur la flore microbienne, l' $a_w$  influence aussi certaines réactions chimiques. Généralement, une réduction dans l'activité de l'eau entraîne une baisse de l'activité des enzymes hydrosolubles. Des enzymes comme les peroxydases et les amylases sont complètement inactivées à une activité de l'eau inférieure à 0,85. Par contre, les lipases restent actives à des activités de l'eau aussi basses que 0,3 ou 0,1 (**Jacobsen et Poulsen, 1995**).

### **II. 3. 1. 2. Facteurs externes**

Il s'agit de facteurs liés aux conditions d'environnement physico-chimique dans lesquelles s'effectue l'affinage, au sein d'un hâloir ou d'une cave dédié à cet effet. Généralement, les températures d'affinage se situent entre 5 à 20°C et sont d'autant plus basses que les pâtes sont plus humides. L'humidité relative varie de 85 à 95 % suivant la phase d'affinage (**Eck et Gillis, 2006**).

### ➤ **Température de l'enceinte d'affinage**

C'est un facteur régulateur important de la croissance microbienne et du processus enzymatique, elle conditionne l'implantation et le développement des flores d'affinage.

Néanmoins, chaque type de réaction particulière nécessite une gamme de températures optimales. En effet, les moisissures et les levures se développent favorablement entre 20 et 25°C, les bactéries lactiques mésophiles entre 30 et 35°C. De même, les températures optimales d'activité des enzymes varient selon leur type ; elles sont de l'ordre de 30 à 35°C pour les lipases, et de 40 à 45°C pour les protéases (**Mietton *et al.*, 1994**). Aux basses températures, ces activités peuvent être encore appréciables, notamment dans le cas des lipases. Ainsi, il a été montré que la lipase de *Penicillium caseicola* conserve 50% de son activité maximale à 1°C (**Lambert et Lenoir, 1976**).

En pratique, les températures d'affinage, adaptées au type de fromage fabriqué, sont très inférieures aux valeurs optimales de croissance des microorganismes et d'activité enzymatique. Cette pratique permet de ralentir l'évolution des processus biochimiques et d'obtenir des transformations lentes et mieux contrôlées de la pâte fromagère (**Lenoir et al., 1985**).

➤ **Humidité relative de l'enceinte d'affinage**

L'humidité relative, ou teneur en vapeur d'eau, de l'atmosphère des hâloirs joue un rôle important dans l'évolution de l'affinage des fromages. En effet, elle influence, à la fois, la perte de poids des fromages et l'activité de l'eau à leur surface (**Fox et al., 1993**).

Dans les hâloirs, l'hygrométrie est inférieure à 100 %, de sorte qu'il se produit toujours une évaporation de l'eau de la surface du fromage vers l'atmosphère. La régulation de l'hygrométrie des hâloirs est un moyen pour favoriser le développement, en surface des fromages, de certains groupes microbiens et pour éviter la prolifération d'autres groupes indésirables (**Ramet, 1997**).

➤ **Composition gazeuse de l'atmosphère de l'enceinte d'affinage**

La composition gazeuse de l'atmosphère des caves d'affinage intéresse essentiellement trois gaz présents dans le voisinage des fromages au cours de cette opération : le dioxyde de carbone, l'oxygène et l'ammoniac. Ces trois gaz, et leurs concentrations respectives, influencent la physiologie et l'activité respiratoire de la flore d'affinage ainsi que l'apparence des fromages. Ils vont donc agir sur la dynamique (cinétique) d'affinage (**Picque et al., 2006**).

En effet, les besoins en oxygène des microorganismes sont variables. Certains (comme les bactéries propioniques) sont anaérobies stricts et se développent seulement à l'intérieur de la pâte. D'autres sont micro-aérophiles dans le sens où ils se cultivent mieux dans un milieu à teneur limitée en oxygène, c'est le cas notamment des bactéries lactiques, particulièrement les lactobacilles. D'autres enfin, sont strictement aérobies, ils ne peuvent se développer qu'en surface des fromages (cas des moisissures, microcoques et bactéries corynéformes) (**Picque et al., 2006**).

➤ **Aération et vitesse de l'air dans l'enceinte d'affinage**

Selon **Ramet (1997)**, les atmosphères confinées sont à proscrire dans tous les cas d'affinage. De telles atmosphères rendent difficile la croissance de la flore souhaitée et favorisent le développement de microorganismes indésirables. De ce fait, les caves sont régulièrement aérées pour permettre le renouvellement de l'atmosphère.

Différents ouvrages, décrivant le processus d'affinage des fromages, soulignent le rôle important de la ventilation dans le bon déroulement de l'affinage, sans toutefois donner d'informations quantitatives précises (**Fox et al., 1993; Ramet, 1997**). Ces auteurs s'accordent à recommander une ambiance homogène, avec une circulation d'air autour des fromages "faible" et un débit d'air dans l'installation "suffisamment grand".

### **II. 3. 2. Biochimie de l'affinage**

Lors de l'affinage, les fromages subissent des transformations biochimiques profondes dues au développement de l'écosystème fromager. Ces transformations sont résumées dans le Tableau II.

#### **II. 3. 2. 1. Glycolyse**

Lors des fabrications fromagères, une grande partie du lactose est évacuée pendant l'égouttage. La quantité de lactose résiduel, si minime soit-elle, peut varier selon les types de caillés produits (caillés lactiques, caillés présure). Pendant l'affinage, ce lactose résiduel se transforme en acide lactique sous l'action de la microflore homo-fermentaire. Il y a également production d'éthanol, d'acétate et de dioxyde de carbone s'il y a présence d'une microflore hétéro-fermentaire (**Vignola, 2002**).

La fermentation alcoolique par les levures donne du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol et de l'acétaldéhyde. A partir de l'acide citrique, les bactéries lactiques produisent de l'acétoïne, du diacétyl et du butanediol. A partir de l'acide lactique, la fermentation propionique donne de l'acide propionique et du CO<sub>2</sub> (**Serhan, 2008**).



**Tableau II : Principales transformations biochimiques au cours de l'affinage d'après Hebert (2010).**

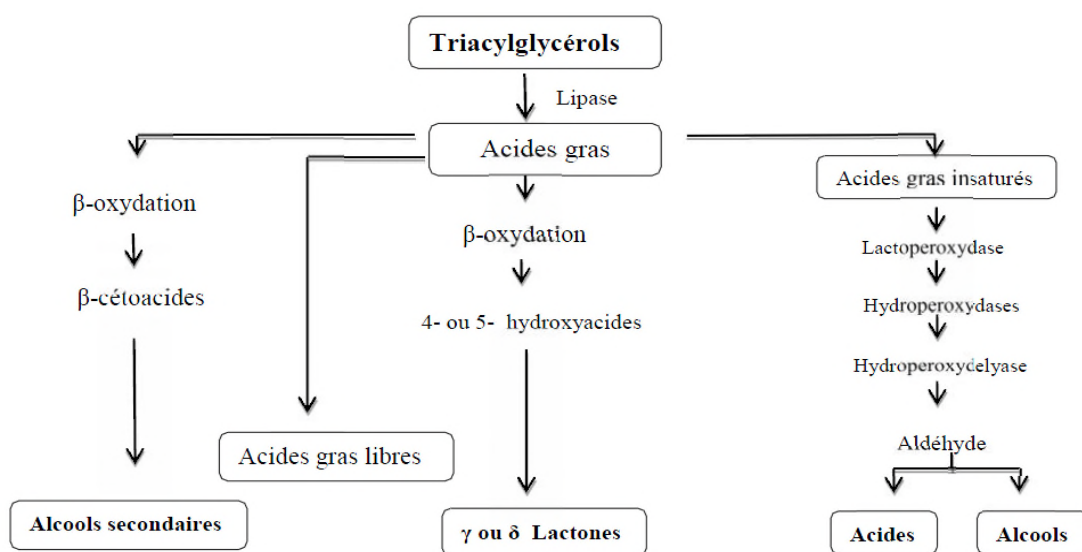
Substrats	Type de transformation	Principaux produits formés
Protéines, peptides	Protéolyse	Peptides, acides aminés
Acides aminés	Désamination, Décarboxylation, Dégradation des chaînes latérales	NH <sub>3</sub> , CO <sub>2</sub> , amines, acides $\alpha$ -cétoniques, phénols, indole, méthanthiol, et autres composés soufrés volatils
Amines	Désamination oxydative	NH <sub>3</sub> , aldéhydes, acides
$\alpha$ -cétoacides	Décarboxylation	Aldéhydes
Triglycérides, glycérides partiels	Lipolyse	Acides gras, glycérides partiels, glycérol
Acides gras à chaîne moyenne ou courte	$\beta$ -oxydation	Méthylcétones, CO <sub>2</sub>
Méthylcétones	Réduction	Alcools secondaires
Acides gras, éthanol, alcools aliphatiques ou aromatiques, thiols	Estérification	Esters Thioesters
Lactose	Fermentation lactique homofermentative	Acide lactique
	Fermentation lactique hétérofermentative	Acide lactique, éthanol, acide acétique, CO <sub>2</sub>
	Fermentation alcoolique	Ethanol, CO <sub>2</sub> , acide acétique, acétaldéhyde
Acide citrique	Assimilation (bactéries lactiques)	CO <sub>2</sub> , acétaldéhyde, acétoïne, diacétyle
Acide lactique	Fermentation propionique	Acide propionique, acide acétique, acide succinique, CO <sub>2</sub>

### II. 3. 2. 2. Lipolyse et dégradation des composés lipidiques

La matière grasse laitière est essentielle au développement de la flaveur des fromages. Les lipides présents dans les fromages peuvent subir une hydrolyse enzymatique ou une oxydation. L'oxydation des lipides est limitée dans la matrice fromagère, probablement en raison du faible potentiel redox (-250mV) et par la présence d'antioxydants naturels comme la vitamine E (Fox *et al.*, 1993).

La lipolyse dans les fromages est due à la présence d'enzymes lipolytiques qui coupent les liaisons esters des triglycérides, produisant des acides gras libres, des mono- et des diglycérides (Deeth et Touch, 2000).

Les acides gras libérés par la lipolyse, particulièrement ceux à chaînes courtes et moyennes contribuent directement à la flaveur des fromages en agissant comme des précurseurs de réactions cataboliques menant à la formation de composés aromatiques tels les méthylacétones, les lactones, les esters, les alcanes et les alcools secondaires (McSweeney et Sousa, 2000). La figure 2 illustre les principales voies cataboliques des acides gras libres.



**Figure 02. Principales voies cataboliques des acides gras libres dans les fromages (Molimard et Spinnler, 1996).**

### II. 3. 2. 3. Protéolyse et dégradation des composés protéiques

La protéolyse est l'événement biochimique le plus complexe se produisant pendant le processus de maturation des fromages. C'est une étape qui agit aussi bien sur la texture que sur les arômes du produit fini (Grappin et Beuvier, 1997).

Cependant, deux types d'activités protéolytiques peuvent être distingués : « la protéolyse primaire » correspondant aux activités des protéases qui permet l'hydrolyse précoce des caséines du lait (activité caséolytique) et des polypeptides. D'autre part, « la protéolyse secondaire » ou « fine » correspondant aux activités peptidasiques permettant l'hydrolyse des peptides en acides aminés libres (Pavia *et al.*, 2000).

La protéolyse primaire n'est pas uniquement due aux microorganismes présents lors de la fabrication, mais également aux enzymes contenues naturellement dans le lait (plasmine) ou apportées volontairement par la présure (chymosine). Le rôle de l'ensemble de ces activités enzymatiques est de commencer la dégradation des caséines du lait ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) en peptides de tailles moyennes. La protéolyse fine est quant à elle essentiellement conduite par les microorganismes des fromages.

Les bactéries lactiques sont dotées d'une large gamme de peptidases, aminopeptidases, di- et tri-peptidases contribuant fortement à la dégradation des peptides issus de la protéolyse primaire.

En fin de dégradation des protéines et des peptides, les acides aminés sont pris en charge par les mécanismes cataboliques, spécifiques de chaque espèce. Le catabolisme des acides aminés conduit fréquemment à la production de nombreuses molécules aromatiques (alcools, aldéhydes, cétones, amines, acides gras volatils, thiols) (figure 03) qui peuvent soit présenter un intérêt important dans l'obtention de la qualité aromatique des fromages, soit conduire à des défauts d'odeur et d'arôme pénalisants (McSweeney et Sousa, 2000).

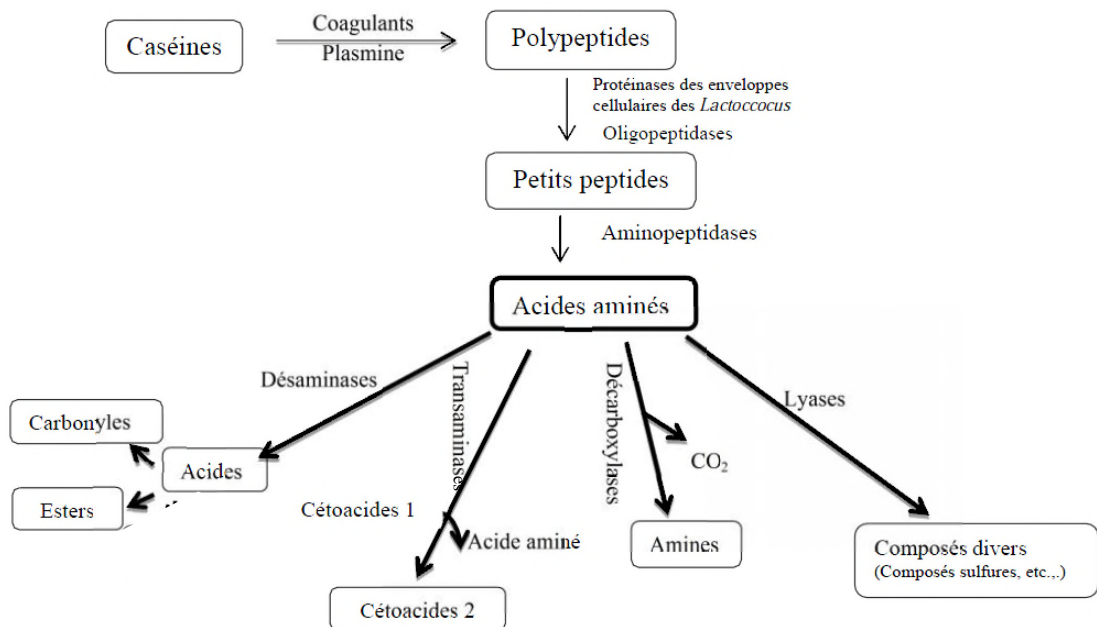


Figure 03. Protéolyse des caséines et catabolisme des acides aminés pendant l'affinage des fromages (McSweeney et Sousa, 2000).

### II. 3. 3. Microbiologie de l'affinage

La composante microbienne joue un rôle déterminant sur les qualités sensorielles des fromages. Ainsi, la signature microbienne d'un fromage ne provient pas d'espèces spécifiques mais d'un équilibre entre un ensemble de souches appartenant à plusieurs espèces et présentes à des niveaux différents (Serhan, 2008).

Les microorganismes, englobant les bactéries, les levures et les moisissures, sont présents dans les fromages pendant l'affinage et contribuent à ce processus, soit directement à travers leur activité métabolique, soit indirectement à travers la libération d'enzymes dans la matrice fromagère (Serhan, 2008).

La flore microbienne associée à l'affinage des fromages est extrêmement riche et complexe. Cette communauté pourrait être divisée en deux groupes : les bactéries lactiques levains, responsables de la production d'acide pendant la fabrication de fromage et la microflore secondaire. *Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* et *Lactobacillus helveticus* sont considérées comme des bactéries levains. La microflore secondaire comporte les quatre groupes suivants: les bactéries lactiques non levains appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc*, les bactéries propioniques, les moisissures et les levures et les bactéries qui poussent à la surface des fromages (bactéries corynéformes) (Beresford et Williams, 2004).

#### II. 3. 3. 1. Bactéries lactiques levains

Dans la plupart des fromages, des souches de bactéries lactiques sélectionnées (levains) sont préalablement ajoutées au lait au début de la fabrication. La fonction principale des bactéries lactiques « levains » est de produire suffisamment d'acide pendant la fabrication du fromage, réduisant ainsi le pH à un niveau désiré (Fox *et al.*, 2004). Elles contribuent également au processus de l'affinage grâce à leurs enzymes impliquées dans la protéolyse et la lipolyse. Cependant, la majorité des enzymes levains sont intracellulaires et n'ont pas un accès immédiat à la matrice fromagère. L'aptitude des cellules des levains à s'autolyser pendant l'affinage en libérant leur contenu enzymatique est une importante caractéristique pour l'élaboration des fromages (Canteri, 2006).

Des souches de *Lactococcus* sp. ont été utilisées comme levains depuis longtemps dans les produits laitiers fermentés. *Lc. lactis* est l'espèce la plus utilisée en raison de sa capacité à acidifier le lait conduisant à la coagulation et à générer des arômes pendant l'affinage (Noreen *et al.*, 2011).

Pour cela, des souches de *Lactococcus lactis* ont été utilisées comme souches levains dans cette étude.

### II. 3. 3. 2. Bactéries lactiques non levains

Les bactéries lactiques non levains constituent la communauté microbienne globale de la plupart des fromages affinés. Elles sont capables de croître à partir de très faibles nombres atteignant des niveaux de  $10^7$  -  $10^8$  UFC/g durant la première semaine de l'affinage et dominer ainsi la microflore du fromage (Fox *et al.*, 1998).

Les lactobacilles non levains sont des agents importants de la flaveur des fromages pendant l'affinage (Beresford *et al.*, 2001). Leur rôle est limité à des propriétés comme la protéolyse et la lipolyse et plus récemment à un potentiel probiotique (Bernardeau *et al.*, 2008).

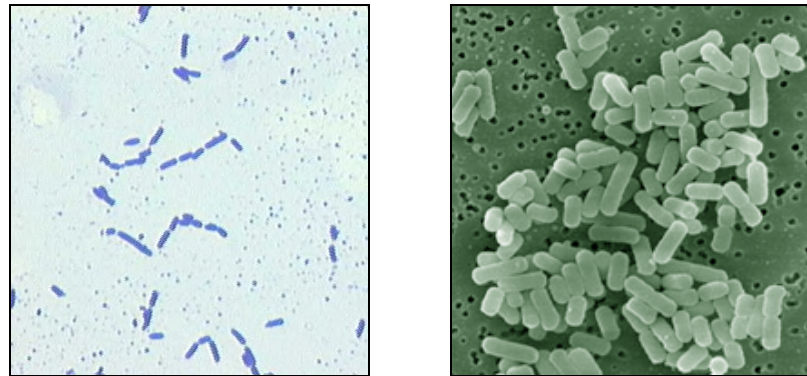
Plusieurs espèces de lactobacilles mésophiles ont été isolées des fromages pendant l'affinage ; les plus fréquentes sont *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus curvatus* (Beresford *et al.*, 2001).

De nombreuses études ont montré la biodiversité du genre *Lactobacillus* dans les fromages (Ugarte *et al.*, 2006 ; Terzic-Vidojevic *et al.*, 2007). A titre d'exemple, *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ssp. *casei* et *Lb. brevis* ont été isolées du fromage « Armada », un fromage espagnol à base de lait cru de chèvre (Herros *et al.*, 2003), *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. paracasei* ssp. *tolerans*, *Lb. sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. pentosus* à partir du fromage « Batzos », un fromage traditionnel grec à base de lait cru de chèvre (Psoni *et al.*, 2003).

Tel le montrent ces études et d'autres, *Lb. plantarum* est l'un des lactobacilles non levains fréquemment isolé des fromages. Vu le rôle que cette espèce pourrait jouer dans la phase d'affinage, une souche de *Lb. plantarum* est choisie et testée dans cette étude comme une souche non levain.

### III. 1. Caractéristiques générales

*Lactobacillus (Lb.) plantarum* est une bactérie lactique à Gram positif, immobile, non sporulée et microaéroophile. Ces cellules se présentent sous forme de bâtonnets droits avec des extrémités arrondies, vivant seules, ou regroupées en paires, ou en chainettes (**Corsetti et Valmorri, 2011**). Des micrographies de *Lb. plantarum* sont illustrées sur la figure 04.



**Figure 04. Micrographies de *Lactobacillus plantarum* sous microscopie optique (à gauche) et électronique (à droite) (<http://www.unibas.it/parente/Starter/gruppi.html>)**

*Lb. plantarum* est une espèce mésophile présentant une croissance à 10-15°C, mais pas à 45°C. Elle possède une tolérance élevée à des valeurs de pH faibles qui peuvent atteindre 3,2 (**Kleerebezem et al., 2003**).

Bien que le genre *Lactobacillus* soit généralement reconnu comme à catalase négative, une pseudocatalase a été retrouvée chez quelques souches de *Lb. plantarum* (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

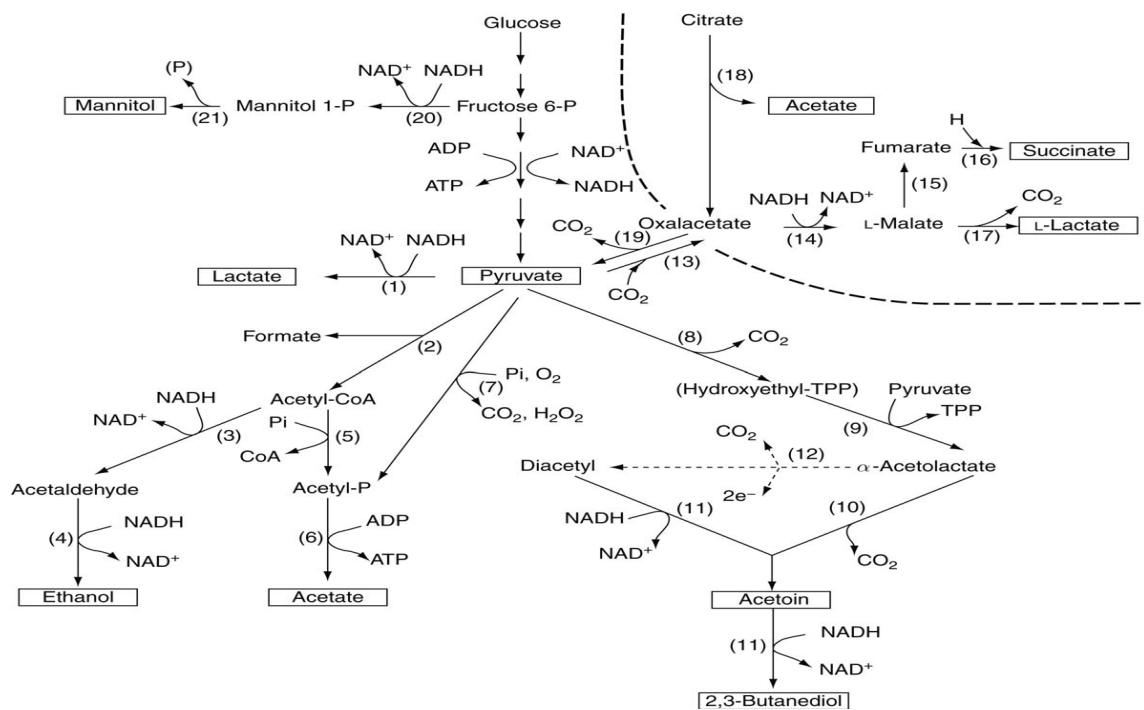
Le séquençage complet du génome de *Lb. plantarum* WCFS1 a révélé la présence d'un seul chromosome circulaire de 3 308 274 pb, qui peut être considéré comme l'un des plus grands génomes connus chez les bactéries lactiques. Cela indique sa capacité de s'adapter à de nombreuses conditions différentes (**Kleerebezem et al., 2003**).

### III. 2. Métabolisme et équipement enzymatique

*Lb. plantarum* appartient au groupe II « *Streptobacterium* » (lactobacilles mésophiles hétéro-fermentaires facultatifs). Ce groupe se caractérise par la conversion des hexoses presque entièrement en acide lactique par la voie d'Embden–Meyerhof-Parnas (EMP), tandis que les pentoses sont convertis en acides lactique et acétique par la voie de la 6-phosphogluconate/phosphocétolase (**Fugelsang et Edwards, 1997**).

Plusieurs sucres tels que l'amygdaline, arabinose, cellobiose, glucose, gluconate, lactose, maltose, mannitol, mannose, melibiose, raffinose, ribose, sorbitol et le sucrose sont utilisés comme source de carbone et d'énergie (Corsetti et Valmorri, 2011). Les sucres sont habituellement transportés à l'intérieur de la cellule par des perméases et sont phosphorylés dans le cytoplasme. La présence d'un système de transport de sucres phosphoénolpyruvate phosphotransférase (PEP-PET) est déduit à partir de la séquence complète du chromosome de *Lb. plantarum* WCFS1 (Kleerebezem et al., 2003).

En plus de l'acide lactique, d'autres produits secondaires peuvent être produits à partir du pyruvate tels que le diacétyl, l'acétoïne et le 2,3-butanediol qui représentent les principaux composés aromatiques dans les produits laitiers (figure 05) (Ferain et al., 1996).



**Figure 05. Voies de dégradation du glucose et du citrate chez *Lactobacillus plantarum* (Ferain et al., 1996).** (1) lactate déshydrogénase (LDH); (2) pyruvate formate-lyase; (3) acétaldéhyde déshydrogénase; (4) alcool déshydrogénase; (5) phosphotransacétylase; (6) acétate kinase; (7) pyruvate oxydase; (8) pyruvate décarboxylase; (9) α-acétyl-lactate synthase; (10) α-acétyl-lactate décarboxylase; (11) acétoïne hydrogénase; (12) décarboxylation non enzymatique; (13) pyruvate carboxylase; (14) malate déshydrogénase; (15) fumarase; (16) fumarate réductase; (17) enzyme malolactique; (18) citrate lyase; (19) oxalacetate décarboxylase; (20) mannitol-1-phosphate déshydrogénase; (21) mannitol-1 phosphatase. Tpp, thiamine pyrophosphate.

La reconstruction des voies métaboliques de *Lb. plantarum* WCFS1 a confirmé la prototrophie de l'espèce envers l'acide folique, la thiamine et le pyridoxal-5-phosphate. La même étude a montré que la plupart des voies de la biosynthèse des acides aminés sont

complètes. Seuls l'arginine, le glutamate, le tryptophane et les acides aminés à chaîne ramifiée (isoleucine, leucine et valine) sont essentiels pour la croissance de l'espèce. D'autre part, l'espèce montre une auxotrophie pour l'arginine et le glutamate (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

Chez *Lb. plantarum*, la sérine est désaminée en pyruvate et en ammoniac par une sérine déshydratase. Le pyruvate est ensuite catalysée par une pyruvate-formate lyase pour donner de l'acétate, du formate, et du CO<sub>2</sub>; l'acétoïne est également produit en petites quantités à partir de la sérine (**Liu et al., 2003**).

Le benzaldéhyde est formé à partir de l'acide phénylpyruvique, obtenu par l'activité aminotransférase sur la phénylalanine en présence d'une concentration élevée en ions manganèse (Mn<sup>+2</sup>) et contribue à la génération d'un composé de saveur pendant l'affinage du fromage (**Amarita et al., 2001**).

### **III. 3. Rôle dans l'affinage des fromages**

#### **III. 3. 1. Présence de *Lb. plantarum* dans les fromages affinés**

Tel que mentionné en paragraphe II. 3. 3. 2., *Lb. plantarum* est un membre d'un groupe de lactobacilles mésophiles qui constituent la majorité des bactéries lactiques non levains présentes dans la plupart des variétés de fromages.

Ces bactéries représentent une flore microbienne secondaire accidentelle qui contamine le fromage. Les sources principales de contamination sont probablement la flore résidente de l'installation laitière et le lait cru lui-même. Les lactobacilles qui survivent à la pasteurisation peuvent être également à l'origine de cette population (**Turner et al., 1986**).

La présence de *Lb. plantarum* a été documentée dans de nombreux types de fromages produits à travers le monde, en utilisant soit le lait pasteurisé ou le lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Parmi ces fromages, on trouve le Pecorino et le Gorgonzola (Italie), le Manchego et le Roncal (Espagne), le Cheddar irlandais, le Qula du Tibet, et le Cheddar de la Nouvelle-Zélande... (**De Angelis et al., 2004**).

Dans les fromages grecs Feta et Teleme, *Lb. plantarum* représentait 47,8 et 65,8% des lactobacilles isolés respectivement (**Tzanetakis et Litopoulou-Tzanetaki, 1992**); il constitue également 56,9% des principales espèces isolées du fromage Tenerife au lait de chèvre (**Zárate et al., 1997**).



Il a été rapporté que le nombre de *Lb. plantarum* est élevé au cours de la première étape de l'affinage du fromage (à partir d'une semaine à 3-4 mois), atteignant souvent plus de  $10^7$  UFC/g; au cours du vieillissement prolongé (6-7 mois), ce nombre diminue généralement à  $10^4$  UFC/g, et souvent se sont les autres lactobacilles qui dominent la population microbienne (Corsetti et Valmorri, 2011).

En effet, deux études réalisées sur le Cheddar irlandais ont montré qu'en 8 semaines d'affinage *Lb. plantarum* représentait 28% des bactéries non levains (Jordan et Cogan, 1993), tandis que dans le même fromage après 27 mois d'affinage, cette espèce ne représentait que 2,1% de la population (Fitzsimons *et al.*, 1999).

### III. 3. 2. Contribution de *Lb. plantarum* dans l'affinage des fromages

Plusieurs études ont été menées pour étudier la contribution potentielle de *Lb. plantarum* à la formation des saveurs de fromages, en vue de son utilisation comme une culture supplémentaire dans la fabrication fromagère.

En effet, *Lb. plantarum* pourrait être à l'origine de la formation de saveurs spécifiques liée aux activités de ses protéases, peptidases, estérases et lipases (Ztaliou *et al.*, 1996). En outre, *Lb. plantarum* peut dégrader le citrate et peut produire du butanoate d'éthyle à partir d'éthanol et d'acide butanoïque (Liu *et al.*, 1998).

#### III. 3. 2. 1. Activité protéolytique

En comparaison avec d'autres lactobacilles mésophiles, *Lb. plantarum* montre une faible activité protéolytique, mais qui peut être élevée sur la  $\beta$ -caséine et la  $\alpha_{s1}$ -caséine chez certaines souches. Néanmoins, une activité protéolytique élevée a été signalée chez la souche *Lb. plantarum* DBPZ1015 avec formation d'acides aminés libres (Zotta *et al.*, 2006).

Les souches de *Lb. plantarum* ont le potentiel de décomposer les protéines dans les fromages par leurs activités oligoendopeptidasiques et aminopeptidasiques et de générer ainsi des composés aromatiques. En effet, il est démontré qu'elles conduisent à la production d'acides aminés libres qui contribuent directement ou en tant que précurseurs à la saveur des fromages (Hynes *et al.*, 2001).

*Lb. plantarum* peut cataboliser la méthionine, les acides aminés aromatiques et les acides aminés à chaînes branchées par transamination, qui représente l'étape principale dans

la conversion des acides aminés en composés aromatiques dans les fromages (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

La réaction de la transamination est catalysée par des aminotransférases. La dégradation se produit seulement en présence d'un  $\alpha$ - cétoacide qui est utilisé comme un accepteur du groupe aminé (**Corsetti et Valmorri, 2011**). Selon **Yvon et al. (1997)**, le  $\alpha$ -cétoglutarate semble être l'accepteur aminé le plus important. Des composés aromatiques tels que les hydroxyacides, les aldéhydes, les alcools et les acides carboxyliques sont ensuite produits à partir des  $\alpha$ - cétoacides (**Mengjin et al., 2008**).

Il a été démontré également que le catabolisme des acides aminés par l'intermédiaire des réactions de non-transamination pourrait également être d'importance pour la production de composés aromatiques dans le fromage (**Liu et al., 2003**).

### III. 3. 2. 2. Activité lipolytique et estériolytique

Bien qu'il y ait un manque de rapports liant *Lb. plantarum* avec la formation d'acides gras libres dans les fromages (**Liu et al., 2003**), quelques études ont été menées sur la purification et la caractérisation des lipases et des estérases de *Lb. plantarum* indiquant la contribution potentielle de quelques souches à la lipolyse pendant l'affinage des fromages (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

L'activité lipolytique et estérolytique sont liées aux lipases intracellulaires et / ou extracellulaires et aux estérases intracellulaires des souches. Une tributyrine-estérase intracellulaire de 85 kDa et une lipase intracellulaire de 65 kDa ont été purifiées et caractérisées à partir de la souche DPC 2739 isolée du fromage « Cheddar » (**Lynch et al., 1999**).

D'autre part, il a été rapporté que des souches de *Lb. plantarum* isolées des laits et des fromages de chèvre, produits en Argentine, montrent une activité spécifique élevée sur le  $\alpha$ -naphthol, le butyrate, le caproate et l'acétate, et il a été trouvé que quelques souches possèdent plus d'une estérase, par exemple *Lb. plantarum* O236 possède quatre enzymes qui hydrolysent les esters carboxyliques avec des spécificités différentes (**Katz et al., 2002**). En outre, les fractions intracellulaires et extracellulaires de cette même souche pouvaient également hydrolyser la tributyrine. D'autre part, une autre souche étudiée (*Lb. plantarum* O155) a été démontrée incapable d'hydrolyser les triglycérides (**Katz et al., 2002**).

En général, les lactobacilles hydrolysent principalement ou uniquement les esters contenant des acides gras C4-C6. L'activité lipasique des souches diminue progressivement à mesure que la longueur des chaînes d'acides gras augmente en allant de la tributyrine à la tripalmitine (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

### **III. 3. 2. 3. Dégradation du citrate**

Etant donné que les microorganismes levains épuisent rapidement tous le lactose, la capacité d'utiliser les substrats résiduels comme le lactate, le citrate, le pyruvate, les protéines, et les lipides est une nécessité pour les bactéries lactiques non levains (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

Plusieurs études ont indiqué la capacité de *Lb. plantarum* à métaboliser le citrate en présence ou en absence d'autres sucres fermentescibles; le citrate représente un précurseur important pour des composés de flaveur des fromages tels que le diacétyle, l'acétate, l'acétoïne, et le 2,3-butanediol (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

Dans le Cheddar, qui contient naturellement du citrate résiduel, **Thomas (1987)** a constaté que diverses souches de *Lb. plantarum* dégradent le citrate dans des conditions d'anaérobiose. Plus tard une étude de **Palles et al. (1998)** a confirmé que les cellules de *Lb. plantarum* métabolisent le citrate en produisant l'acétate et l'acétoïne comme produits principaux à un pH optimum de 4,5.

### **III. 4. Rôle dans la bio-conservation**

Les bactéries lactiques ainsi que leurs substances antimicrobiennes sont très importantes pour l'industrie alimentaire parce qu'elles peuvent représenter une alternative aux conservateurs chimiques afin de lutter contre les microorganismes d'altération et les bactéries pathogènes (**Galvez et al., 2007**).

Cette activité antimicrobienne est supposée due généralement aux acides organiques, au diacétyle, au peroxyde d'hydrogène ou à d'autres composés de faible poids moléculaire tels que la reutéline (**Vandenberg, 1993**).

En plus de ces métabolites, les bactéries lactiques peuvent également produire beaucoup d'autres composés ayant une activité antimicrobienne. Les bactériocines, l'acide phényllactique, les peptides, et les acides gras sont les plus actifs et pourraient être des molécules d'intérêt pour la bio-conservation des aliments (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

Diverses bactériocines produites par *Lb. plantarum*, isolée des produits fermentés, ont été rapportées (**Todorov et al., 2009; Hata et al., 2010; Xie et al., 2011**).

Ces bactériocines produites par *Lb. plantarum*, désignées « plantaricines », appartiennent généralement aux deux classes I et II (**Corsetti et Valmorri, 2011**). A titre d'exemple, on peut citer la plantaricine W appartenant à la classe I (**Holo et al., 2001**), la plantaricine C19 appartenant à la classe IIa (**Atrih et al., 2001**), les plantaricines EF, JK et NC8, appartenant à la classe IIb (**Moll et al., 1999; Maldonado et al., 2003**) et la plantaricine 1.25 $\beta$  appartenant à la classe IIc (**Remiger et al., 1999**).

D'autres bactériocines produites par *Lb. plantarum* sont désignées également par « pédiocines » c'est l'exemple de la pédiocine PA-1 (**Bernbom et al., 2009**) et la pédiocine LB-B1 (**Xie et al., 2011**).

Plusieurs études ont montré l'action des bactériocines de *Lb. plantarum* sur des agents pathogènes à Gram négatif ou à Gram positif telle que celle menée par **Loessner et al. (2003)** qui a démontré l'inhibition de *Listeria monocytogenes*, dans un fromage affiné, par la pédiocine AcH produite par *Lb. plantarum* ALC 01. De même, il a été rapporté que *Lb. plantarum* LMG P- 26358 inhibe *Listeria innocua* (espèce représentative de *Listeria monocytogenes*) par la production de la plantaricine 423 dans un fromage de type Gouda (**Mills et al., 2011**).

En outre, la plantaricine MG produite par *Lb. plantarum* KLDS1.0391 a montré une activité inhibitrice contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, y compris *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium et *Escherichia coli* (**Gong et al., 2010**).

Des protéines ou des peptides antimicrobiens autres que les bactériocines sont également produits par *Lb. plantarum*. Il s'agit de composés antifongiques dont les principaux sont représentés par l'acide phényllactique (PLA) et l'acide 4-hydroxyphényllactique (PLA-OH), qui dérivent du catabolisme de la phénylalanine (Phe); ces composés ont montré une activité inhibitrice contre *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. et *Aspergillus niger* à croissance mycélienne (**Corsetti et Valmorri, 2011**).

Parmi les souches rapportées productrices de ces composés, on retrouve *Lb. plantarum* 21B (**Lavermicocca et al., 2000**) et *Lb. plantarum* VTTE-78076 qui produit principalement de l'acide benzoïque, du méthylhydantoïne et du mévalonolactone (**Niku-Paavola et al., 1999**). Egalement, il a été rapporté que *Lb. plantarum* MiLAB 393 produit deux peptides

cycliques L-Phe-*trans*-4-OH-L-Pro et L-Phe-L-Pro, démontrant une activité antifongique à une concentration de l'ordre de milligrammes par millilitre (Strom *et al.*, 2002). Sjögren *et al.* (2003) ont rapporté également que la souche *Lb. plantarum* MiLAB 14 produit un acide gras hydroxylé actif à 10 mg/ml.

### III. 5. Ubiquité de *Lb. plantarum*

D'après l'analyse des gènes de *Lb. plantarum* impliqués dans le métabolisme des sucres, il peut être conclu que cette espèce est capable d'utiliser de nombreuses sources de carbone. Cette constatation est en accord avec l'observation que *Lb. plantarum* est une bactérie versatile capable de maintenir sa croissance dans diverses niches, y compris les produits laitiers, la viande, les légumes fermentés et les ensilages. Elle est communément trouvée dans le tractus gastro-intestinal humain (De Vries *et al.*, 2006).

Sa présence et son isolement à partir des olives crues et fermentées ainsi que leurs dérivés (huiles d'olives et margines) a suscité l'intérêt de plusieurs auteurs (Jimenez-Diaz *et al.*, 1993 ; Ercolini *et al.*, 2006). Les travaux de Campaniello *et al.* (2005) sur l'identification de souches bactériennes isolées des olives naturelles ou traitées, ont montré que *Lb. plantarum* était l'espèce prédominante. Cette même observation est constatée avec les travaux d'Idoui *et al.* (2009) sur des olives noires algériennes et ceux de Ghabbour *et al.* (2011) sur des olives vertes traitée du Maroc.

*Lb. plantarum* est souvent utilisée comme un levain dans la fermentation des olives. Elle joue un rôle majeur dans la conservation de ces dernières en fournissant de grandes quantités d'acide lactique par la fermentation des sucres contenus dans ces fruits (Jimenez Diaz *et al.*, 1993). Cette espèce coexiste généralement avec une population de levures jusqu'à la fin du processus de fermentation et lors du stockage (Ruiz-Barba *et al.*, 1994).

L'inoculation des olives par *Lb. plantarum* lors du broyage constitue un nouveau procédé microbiologique pour l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive. Une étude menée par Kachouri et Hamdi (2006) a montré que l'application de *Lb. plantarum* sur les olives pendant le processus de fabrication de l'huile d'olive favorise l'augmentation du taux des composés phénoliques dans cette dernière. Ceci serait dû à la capacité de cette espèce à piéger l'oxygène présent dans la solution qui est responsable de l'auto-oxydation des composés phénoliques.

#### **IV. 1. Aperçu sur la production de l'huile d'olive**

Parmi les huiles végétales alimentaires, l'huile d'olive occupe un rang privilégié notamment par le fait que cette huile, soit consommée surtout à l'état vierge. La production d'huile d'olive a toujours été concentrée dans les pays du pourtour méditerranéen : Espagne, Italie, Portugal, Grèce, Turquie, Tunisie et Maroc. A eux seuls ces pays représentent plus de 90% de la production mondiale. Après une forte augmentation au cours des années 1990, la production mondiale d'huile d'olive reste relativement stable depuis le début des années 2000 avec une production annuelle située entre 2,4 et 3,2 millions de tonnes (**C.O.I., 2009**).

En Algérie, la filière oléicole occupe une superficie de 200 000 hectares soit à peine 2,3% de la superficie agricole utile totale. Elle est en grande partie à caractère familial et localisée en zones de montagne (Kabylie, 55%) où l'autoconsommation est privilégiée (**Nouad, 2004**).

En termes de production nationale d'olives, la moyenne annuelle est estimée à 200 000 tonnes, dont un peu plus de 68% sont réalisés par les wilayas de Béjaïa, Tizi-Ouzou, Bouira, Jijel et Sétif. Quatre vingt huit pourcent (88%) de la production totale est destinée à l'extraction de l'huile. La production d'huile d'olive est évaluée à 265 000 hectolitres dont 82% sont réalisés par les cinq wilayas classées par ordre d'importance: Béjaïa (37,2%), Tizi-Ouzou (17%), Jijel (11,6%), Sétif (9,7%) et Bouira (6,5%). Le reste de la production d'olives (12%) est destiné à la consommation en tant qu'olives de table. La production moyenne d'huile d'olive subit des variations annuelles importantes, la campagne 2010/2011 avait atteint 66 981 tonnes (**I.T.A.F.V., 2013**).

La consommation algérienne d'huile d'olive par habitant est passée de 0,80 kg en moyenne dans les années 80 à 0,90 kg au début des années 90 et à 1 kg à la fin des années 90 (**Kerboua, 2003**).

#### **IV. 2. L'huile d'olive en tant que conservateur d'aliment**

L'huile d'olive était un aliment privilégié dans l'alimentation humaine depuis des millénaires. Elle servait à tous les usages culinaires et notamment pour la cuisson, la préparation des pâtisseries ou de divers plats à base de céréales. Elle servait également à l'assaisonnement des crudités, à la préparation des sauces ou accompagnait le poisson et le fromage de chèvre ou de brebis (**Henry, 2003**).

L'action antibactérienne de l'huile d'olive est supérieure à celle des autres produits alimentaires tels que le vin, le thé, le café et autres. Des études menées *in vivo* et *in vitro* ont démontré que les composés phénoliques contenus dans l'huile d'olive sont les responsables de son activité antimicrobienne. Ces composés ont la capacité d'inhiber ou de retarder la croissance de plusieurs bactéries et champignons (Cicerale *et al.*, 2012).

L'huile d'olive est souvent utilisée comme un traitement de surface au cours de la maturation des fromages à pâte dure (Wendorff et Wee, 1997), elle peut augmenter ou réduire la croissance des moisissures (*Aspergillus parasiticus*), en fonction de si une croûte se forme ou non lorsque l'huile d'olive est étalée sur la surface du fromage (Wendorff et Wee, 1997). L'application de l'huile fait de la maturation un processus plus long où l'humidité naturelle est conservée. Des fromages tels que le Bleu, Feta, Zamorano et du fromage de chèvre frais peuvent être conditionnés dans des jarres d'huile (La Grandeur *et al.*, 2003).

### **IV. 3. Caractéristiques de l'huile d'olive**

Selon le Conseil International d'Huile d'Olive (C.O.I.), l'huile d'olive est une huile obtenue à partir du fruit de l'olivier, à l'exclusion des huiles obtenues par extraction avec des solvants, par des procédures de ré-estérification, ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huiles. A la différence des autres huiles végétales ou d'autres produits, l'huile d'olive ne requiert aucune étape de raffinage ni aucune transformation chimique. Grâce à cette simplicité procédurale, l'huile d'olive a pu être fabriquée depuis l'antiquité (C.O.I., 1999).

#### **IV. 3. 1. Différents types d'huile d'olive**

L'huile d'olive est un corps gras parfaitement réglementé tant par sa définition que par sa composition. Le C.O.I. (2009) a clairement défini les différents types d'huile d'olive (vierge, vierge lampante et de grignons). Le classement des huiles d'olive est le suivant :

**IV. 3. 1. 1. Huiles d'olive vierges :** huiles obtenues à partir du fruit de l'olivier, uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'altération de l'huile.

- Les huiles d'olive vierge propres à la consommation en l'état comportent :

- Huile d'olive vierge extra
- Huile d'olive vierge
- Huile d'olive vierge courante.

- Les Huiles d'olive vierges non propres à la consommation en l'état dénommées huiles d'olive vierges lampantes :

- Huile d'olive raffinée
- Huile d'olive

**IV. 3. 1. 2. Huiles de grignons d'olive :** huiles obtenues par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

Ces diverses catégories qui correspondent à une certaine qualité sont définies en fonction de l'acidité d'huile, de son indice de peroxyde ainsi que d'autres critères chimiques et aussi de la qualité organoleptique qui représente une première approche de la qualité de l'huile et comprend l'odeur, la couleur et l'aspect à 20°C (**C.O.I., 2003**).

#### **IV. 3. 2. Caractéristiques physico-chimiques**

Conformément au règlement N° 2569/91 de la Communauté Européenne et la norme commerciale du C.O.I., les attributs qui déterminent la qualité de l'huile d'olive sont l'acidité, l'indice de peroxyde, les valeurs d'extinctions spécifiques dans l'UV à 232 ou 270 nm et la notation organoleptique (**Kalua et al., 2006**).

##### **IV. 3. 2. 1. Indice d'acidité**

L'indice d'acidité est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il est exprimé en pourcentage (%) d'acide oléique et mesuré par la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras (**C.O.I., 2003**).

L'acidité de l'huile est la conséquence de l'hydrolyse de cette dernière sous l'influence d'une enzyme hydrolytique « lipase » ou de différents microorganismes qui se développent dans le fruit à des conditions favorables de température et d'humidité (**Psyllakis et al., 1980**).

##### **IV. 3. 2. 2. Indice de peroxyde**

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kg de corps gras (**C.O.I., 2003**).



### IV. 3. 2. 3. Spectre en lumière Ultra-violette

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet fournit des informations complémentaires sur la qualité d'une huile. L'absorbance à 232 nm permet de quantifier les peroxydes tandis que l'absorbance à 270 nm est la résultante de la présence de composés secondaires d'oxydation (aldéhydes, cétones,...). Cette analyse peut donc venir en complément de la précédente ou peut intervenir en amont afin de vérifier si un dosage précis des hydroperoxydes est nécessaire (Veillet, 2010).

Le tableau III résume les caractéristiques physicochimiques des différentes classes d'huile d'olive.

**Tableau III: Données physico-chimiques des différentes classes d'huile d'olive (F.A.O., 2001).**

	Densité relative à 20°C	Acidité (% d'acide oléique)	Indice peroxyde (meq O <sub>2</sub> /kg)	Extinction spécifique à 270 nm E <sub>1cm</sub> <sup>%</sup>
Huile d'olive vierge extra	/	<1	<20	<0,25
Huile d'olive vierge	/	<2	<20	<0,3
Huile d'olive vierge courante	0,910	<3,3	<20	<0,3
Huile d'olive raffinée	0,916	<0,3	<5	<1,1
Huile de grignon d'olive raffinée	/	<1,5	<5	<2,0
Huile de grignon d'olive	/	<1,5	<15	<1,7

/: Paramètre non déterminé

### IV. 3. 3. Composition chimique

La composition de l'huile d'olive dépend de la variété du fruit, des conditions climatiques et des pratiques de culture (Boggia *et al.*, 2002). Elle est constituée d'un mélange d'acides gras saturés et insaturés et uniquement par une fraction de composés divers dite insaponifiable qui sont responsables des aspects liés à l'arôme, au goût, à la couleur et à la stabilité (Inglese, 1994).

### IV. 3. 3. 1. Fraction saponifiable

- **Triglycérides**

L'huile d'olive est constituée de 98 à 99% de triglycérides, de 2 à 3 % de diglycérides et de 0,1 à 0,25% de monoglycérides, ces deux derniers augmentent avec l'acidité jusqu'à atteindre 20 et 4% respectivement (Cimato, 1990).

- **Acides gras**

L'huile d'olive a un profil d'acides gras caractéristique dominé par l'acide oléique qui représente 55-83% des acides gras totaux (Karleskind, 1992). Elle est relativement pauvre en acides gras saturés, mais avec des teneurs importantes en acides gras insaturés et essentiels (acide linoléique, linoléique) (Nouhad et Tsimidou, 1998). Le tableau IV illustre la teneur en quelques acides gras.

**Tableau IV: Teneurs en quelques acides gras exprimées en pourcentage par rapport aux acides gras totaux ([http://tarweb.minfin.fgov.be/itarbel\\_ext/docs/h0015an1\\_F.htm](http://tarweb.minfin.fgov.be/itarbel_ext/docs/h0015an1_F.htm))**

Acides gras	Pourcentage
Acide oléique	55,0 - 83,0
Acide linoléique	3,5 - 21,0
Acide palmitique	7,5 – 20,0
Acide arachidonique	≤ 0,6
Acide stéarique	0,5 – 5,0

### IV. 3. 3. 2. Fraction insaponifiable

L'insaponifiable de l'huile d'olive renferme un mélange complexe de composés mineurs à fonctions diverses : 0,3 à 0,7% d'hydrocarbures (le squalène); 0,1 à 0,3% d'alcools triterpéniques ; 0,1 à 0,2% de phytostérols ; 0,005 à 0,015% de tocophérols et moins de 1 mg/100g de chlorophylles et caroténoïdes (Uzzan, 1992).

- **Composés phénoliques**

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité et lui confère des propriétés anti-oxydantes et modulent sa saveur.

Les principaux composés phénoliques sont l'hydroxytyrosol (HT), le tyrosol (T), les substances chimiquement dérivées de l'HT et l'oléuropeine (ester de l'acide élenolique et de l'HT) responsable de l'amertume du fruit (**Amiot et al., 1989**).

- **Stérols**

La composition de l'huile d'olive en stérols ou phytostérols varie entre 100 à 300 mg/100g, ils sont présents sous forme libre et estérifiés avec des acides gras. Il s'agit entre autre du  $\beta$ -sitostérol (70 à 90%), du  $\Delta$ -5 avénastérol (5 à 20%), du campésterol (1 à 15%) et du stigmastérol (0,5 à 2%) (**Ryan et al., 1998**).

- **Tocophérols**

La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable (de quelques mg à 450 mg/kg d'huile) (**Boskou, 2006**). L' $\alpha$ -tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols, mais on trouve également un peu de  $\beta$ - et  $\gamma$ -tocophérols, alors que le  $\delta$ -tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (**Psomiadou, 2000**).

- **Pigments**

La couleur de l'huile d'olive est liée à la présence d'une gamme de pigments, les principaux sont : les chlorophylles a et b qu'on retrouve naturellement dans les olives fraîches, les phéophytines a et b qui sont formées durant l'extraction de l'huile et les caroténoïdes (**Minguez-Mosquera et Gandul-Rojas, 1996**).

#### IV. 3. 4. Caractéristiques microbiologiques

Les études sur les microorganismes naturels présents dans l'huile d'olive sont limitées et ne donnent pas une image complète sur les huiles d'olive produites dans toutes les régions du monde. **Ciafardini et Zullo (2002a et 2002b)** ont examiné les huiles d'olive produites en Italie centrale, et ont conduit une analyse microbiologique sur la présence de bactéries aérobies et lactiques, de levures et de moisissures. Ils ont rapporté que les levures étaient présentes constamment au début et pendant le stockage, les moisissures ont été de temps en temps retrouvées et les bactéries n'ont été jamais trouvées. Les moisissures appartiennent principalement au genre *Aspergillus*. Les 50 isolats de levures examinés ont été identifiés comme étant *Candida wickerhamii* et *Saccharomyces cerevisiae* avec un rapport de 3:1. Ils ont également montré que les microorganismes et les particules solides ont été piégés dans des gouttelettes d'eau suspendues dans l'huile d'olive.

**Ciafardini et Zullo (2002b)** ont démontré l'activité biochimique de ces espèces. Ils avaient supposé que les levures pourraient modifier les propriétés physico-chimiques et sensorielles des huiles d'olive vierges extra via la production d'enzymes particulières. En effet, certaines souches de levures produisent l'enzyme  $\beta$ -glucosidase qui hydrolyse l'oléuropeine, responsable de l'amertume. **Zullo et Ciafardini (2008)** ont pu isoler *Candida parapsilosis* dans l'huile d'olive commerciale produite en Italie.

Cependant, quelques levures de forme dimorphe peuvent être également trouvées parmi les levures non désirées dans les huiles. **Zullo et al. (2010)** ont étudié la distribution de ces formes dimorphes dans des huiles d'olive vierges extra commerciales. Les espèces retrouvées étaient *Candida parapsilosis* et *Candida guilliermondii* qui sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes pour l'Homme.

### I. 1. Souches utilisées

Les souches de bactéries lactiques utilisées dans ce travail font partie de la collection des souches bactériennes du laboratoire de Microbiologie Appliquée (équipe : Microbiologie de lait et probiotiques) de l'Université A. Mira de Bejaia, isolées par M<sup>elles</sup> Sahraoui Y., Bendali F. et Hammi N. et identifiées phénotypiquement et génotypiquement par séquençage de leur ADNr 16S à l'institut Pasteur de Paris (France).

Il s'agit de deux souches de *Lactococcus (Lc.) lactis* (S1 et S2) et une souche de *Lactobacillus (Lb.) plantarum* (S4) isolées respectivement à partir de lait cru de chèvre, de lait cru de vache et d'olives vertes de table.

Les deux souches de *Lactococcus* sont testées pour leur utilisation éventuelle en tant que levains (ferments) pour la fabrication fromagère tandis que *Lb. plantarum* S4 est testée comme souche non levain (NSLAB) intervenant lors de la phase d'affinage et de conservation.

### I. 2. Revivification et vérification de la pureté des souches

Les souches *Lc. lactis* S1 et S2 ont été conservées sur gélose M17 (Fluka analytical, Suisse) (annexe 3) à 4°C. Elles sont revivifiées avant utilisation par un repiquage dans 5 ml de bouillon M17 et incubation à 30°C /24 h. La souche *Lb. plantarum* S4 conservée sur gélose de de Man Rogosa et Sharpe (MRS, Conda pronadisa, Espagne) (annexe 3) à 4°C est repiquée dans 5 ml de bouillon MRS et incubée à 30°C /24 h.

La pureté des souches est vérifiée par examen macroscopique (aspect des colonies sur gélose M17/MRS), microscopique (forme, Gram et mobilité) et en utilisant le test de la catalase.

### I. 3. Standardisation des *inocula*

Afin de pouvoir étudier les différentes activités liées aux souches, une standardisation des *inocula* est indispensable.

Des isolements en stries sur gélose M17 pour les souches *Lc. lactis* (S1 et S2) et sur gélose MRS pour *Lb. plantarum* S4 à partir du milieu de revivification sont effectués. Après incubation (30°C/48 h), 5 colonies identiques et bien isolées de chaque souche sont prélevées et repiquées dans 5 ml de bouillon M17 (S1, S2) et bouillon MRS (*Lb. plantarum* S4) et incubées à 30°C/18 h.

Au terme de la période d'incubation, des dilutions décimales sont réalisées dans de l'eau physiologique ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-8}$ ), 1 ml de chaque dilution ( $10^{-7}$  et  $10^{-8}$ ) estensemencé en masse dans des géloses M17 et MRS. Un dénombrement est effectué après incubation à  $30^{\circ}\text{C}/48$  h à l'aide d'un compteur de colonies (SUNTEX, Suisse).

Une mesure de la densité optique (DO) des bouillons de culture est également effectuée pour chaque souche à 620 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SPECORD 50 analytika jena, Allemagne).

#### I. 4. Recherche de l'activité antibactérienne

Les trois souches lactiques sont testées pour leur activité antibactérienne l'une à l'égard de l'autre et pour leur aptitude à inhiber des souches pathogènes en utilisant la méthode des spots décrite par **Schillinger et Lucke (1989)**.

##### I. 4. 1. Recherche de l'activité antibactérienne croisée des souches lactiques

Le test d'activité antibactérienne croisée des trois souches lactiques l'une à l'égard de l'autre est réalisé tel indiqué dans le tableau V.

Après remplissage des boîtes de Pétri avec de la gélose MRS, solidification et séchage, 5  $\mu\text{l}$  des cultures bactériennes de *Lb. plantarum* S4 et de *Lc. lactis* (S1, S2 et S1+S2), obtenues après 18 h d'incubation à  $30^{\circ}\text{C}$  et standardisées à  $10^7$ ,  $10^5$  et  $10^3$  UFC/ml sont déposés en spots à l'aide d'une micropipette. Les boîtes sont ensuite séchées pendant 30 min à température ambiante puis incubées à  $30^{\circ}\text{C}/18$  h.

**Tableau V. Souches lactiques (test et cibles) utilisées lors du test des spots**

Souche test ( $10^7$ , $10^5$ et $10^3$ UFC/ml)	Souche cible ( $10^7$ UFC/ml)
<i>Lc. lactis</i> S1	<i>Lc. lactis</i> S2
	<i>Lb. plantarum</i> S4
<i>Lc. lactis</i> S2	<i>Lc. lactis</i> S1
	<i>Lb. plantarum</i> S4
<i>Lb. plantarum</i> S4	<i>Lc. lactis</i> S1
	<i>Lc. lactis</i> S2
<i>Lc. lactis</i> S1+ <i>Lc. lactis</i> S2	<i>Lb. plantarum</i> S4

Au terme de la période d'incubation, les géloses sont recouvertes de 10 ml d'une gélose MRS préalablementensemencée avec 1 ml d'une culture fraîche de chaque souche cible ( $10^7$  UFC/ml) puis ré-incubées à 30°C/ 24 h. L'activité antibactérienne est révélée par la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des spots.

#### I. 4. 2. Recherche de l'activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries pathogènes

Les trois souches lactiques sont également testées pour leur aptitude à inhiber cinq souches pathogènes de référence : *Salmonella enterica* ssp. *arizonae* CIP 81-3, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Listeria innocua* CLIP 74915 (qui est utilisée comme modèle à la place de *Listeria monocytogenes* vu la grande virulence de cette dernière). La même méthode décrite en I. 4. 1. est suivie en utilisant une gélose nutritive (annexe 3) pour les bactéries pathogènes et en testant un taux de  $10^9$  UFC/ml pour les bactéries lactiques et de  $10^6$  UFC/ml pour les bactéries cibles. Cette activité est également testée avec des cultures mixtes de souches lactiques à différents taux (tableau VI).

**Tableau VI. Combinaisons lactiques testées.**

<i>Lc. lactis</i> S1 + <i>Lb. plantarum</i> S4	<i>Lc. lactis</i> S1 ( $10^3$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)
	<i>Lc. lactis</i> S1 ( $10^5$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)
<i>Lc. lactis</i> S2 + <i>Lb. plantarum</i> S4	<i>Lc. lactis</i> S2 ( $10^3$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)
	<i>Lc. lactis</i> S2 ( $10^5$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)
<i>Lc. lactis</i> S1 + <i>Lc. lactis</i> S2 + <i>Lb. plantarum</i> S4	<i>Lc. lactis</i> S1 ( $10^3$ UFC/ml) + S2 ( $10^3$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)
	<i>Lc. lactis</i> S1 ( $10^5$ UFC/ml) + S2 ( $10^5$ UFC/ml) + <i>Lb. plantarum</i> S4 ( $10^3$ UFC/ml)

#### I. 5. Etude de quelques aptitudes technologiques des souches lactiques

Il s'avère que la protéolyse et la lipolyse sont les deux grands processus biochimiques intervenant lors de la maturation des fromages en fournissant des composés de saveurs (Young, 2001). Pour cela, les trois souches lactiques sont testées pour leur aptitude à dégrader les protéines et les lipides.

### I. 5. 1. Activité protéolytique

Ce test est réalisé afin de mettre en évidence la capacité protéolytique des souches lactiques testées lors la fabrication fromagère. Pour cela, deux températures sont testées : 30°C (température de fabrication) et 12°C (température d'affinage).

L'activité protéolytique est mise en évidence selon le protocole décrit par **Essid et al. (2009)** : Une culture de 18 h de chaque souche (bouillon MRS / M17, 30°C) est centrifugée à 8000 g/20 min à 4°C (Hettich zentrifugen, Allemagne). Les culots récupérés sont lavé deux fois avec une solution de tryptone-sel (TS, annexe 3) afin d'éliminer toute trace de milieu de culture. Cinq microlitres (5 µl) des suspensions bactériennes de S1, S2 et S4 sont déposés en spots ( $10^5$  et  $10^3$  UFC/ml) sur une gélose MRS supplémentée de 10% de lait écrémé stérile (reconstitué à 10% et stérilisé par autoclavage à 110°C/10 min) et incubées à 30°C /48 h et à 12°C/ 3 jours. L'activité protéolytique est déterminée par la mesure des diamètres (mm) des zones claires apparaissant éventuellement autour des spots. Cette activité est également testée avec les mêmes souches en cultures mixtes et à différents taux (tableau VI).

### I. 5. 2. Activité lipolytique

L'activité lipolytique est évaluée comme décrit ci-dessus pour l'activité protéolytique sur une gélose MRS supplémentée de 1% d'huile d'olive (IFRI Olive, Bejaia), 1% de Tween 80 (Institut Pasteur, Algérie) (**Karam et al., 2012**) ou 1% de crème fraîche de lait de chèvre stérile. Pour la récupération de cette crème, le même lait destiné à la fabrication fromagère (voir plus loin, paragraphe I.7.1 page 40) est chauffé préalablement au bain-marie (GFL, Allemagne) à 30-35°C, agité légèrement pour favoriser la remontée de la matière grasse en surface et centrifugé à 3500 g/20 min. A la fin de la centrifugation, une séparation de phases est notée avec la formation d'une couche en surface correspondant à la crème du lait, celle-ci est récupérée à l'aide d'une spatule stérile (**Buffa et al., 2005**). Les mêmes cultures mixtes citées dans le tableau VI sont également testées aux mêmes concentrations.

### I. 5. 3. Activité autolytique

Les deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2) sont testées pour leur aptitude à s'autolyser selon la méthode décrite par **Lansgrud et al. (1987)**. Des cultures fraîches de S1 et S2 en phase exponentielle (DO 620nm = 0,6) dans du bouillon M17 sont récoltées par centrifugation à 8000 g/10 min à 4°C. Les culots sont lavés et remis en suspension dans du tampon phosphate (pH 6,8; 20 mM). La lyse des cellules est suivie pendant 4 h d'incubation à 30°C en enregistrant la baisse de la DO à 620nm à l'aide du spectrophotomètre SPECORD 50



(analytika jena, Allemagne). Le pourcentage de lyse est déterminé selon la formule suivante :  $100 - (A1/A2 \times 100)$ , où A1 est la valeur enregistrée à  $t_0$  (avant incubation) et A2 est la valeur enregistrée après la période d'incubation.

## I. 6. Culture dans le lait

Afin de suivre la croissance des souches lactiques et l'évolution de l'acidification dans le lait, une culture dans le lait UHT puis dans le lait de chèvre pasteurisé est réalisée.

### I. 6. 1. Adaptation des souches au milieu lait

Du lait UHT entier (Candia, commerce) est utilisé pour ce test. Une culture de 18 h des souches lactiques dans du bouillon M17 ou MRS est centrifugée puis lavée à 8000 g/ 20 min à 4°C. Après avoir effectué les dilutions appropriées dans une solution de TS, 1 ml de chaque suspension à un taux de  $10^4$  UFC/ml estensemencé dans 9 ml de lait UHT afin d'obtenir un taux final de  $10^3$  UFC/ml. L'incubation est réalisée à 30°C/18 h. Au terme de la période d'incubation, des dénombrements sont effectués pour chaque souche sur gélose MRS (*Lb. plantarum*) et gélose M17 (*Lc. lactis*). Cette culture constitue une pré-culture pour le reste des tests.

### I. 6. 2. Croissance dans le lait UHT

Un millilitre (1 ml) de chaque pré-culture, à des taux de  $10^4$  et  $10^6$  UFC/ml estensemencé dans 9 ml de lait UHT afin d'obtenir des taux finaux de  $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml respectivement. Ces cultures sont incubées à 30°C pendant 5, 12 et 18 h. Les mêmes cultures mixtes citées dans le tableau VI sont également testées aux mêmes concentrations. Au terme de la période d'incubation les tests suivants sont effectués :

- Une série de dilutions décimales pour chaque culture (pure et mixte) afin de réaliser un dénombrement de chaque souche (culture pure) et de *Lb. plantarum* S4 (culture mixte) sur gélose MRS ordinaire (pH 6,5) et gélose MRS acide (pH 5,4) en incubant à 30°C/ 48 h.
- Une mesure de pH (HANNA instruments HI 99161)
- Une détermination de l'acidité titrable.

## **I. 7. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé**

Etant donné que ce travail vise la fabrication d'un fromage de chèvre, la capacité des souches lactiques à croître et à acidifier le lait de chèvre est testée.

### **I. 7. 1. Origine des échantillons de lait de chèvre**

Le lait provient de la région d'Akbou (Wilaya de Bejaia). Les différents échantillons sont collectés sur une période de 4 mois (Juillet à Octobre). C'est un lait de mélange obtenu à partir de deux chèvres de race Saanen âgées de 15 mois, dont le régime alimentaire consiste en un mélange de différentes herbes et de foin. Après une traite manuelle effectuée par l'éleveur à 7 h du matin, tout en respectant les conditions d'hygiène, le lait est transporté immédiatement au laboratoire dans une glacière à 4°C (dans un délai ne dépassant pas les 3 heures). Pour chaque analyse trois échantillons de lait sont prélevés.

### **I. 7. 2. Analyses physico-chimiques**

Dès l'arrivée des échantillons de lait cru au laboratoire, trois mesures de pH et trois déterminations de l'acidité titrable et de sa composition chimique sont effectuées pour chaque échantillon.

#### **I. 7. 2. 1. Mesure de pH**

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre (HANNA instruments, HI 99161) muni d'une électrode combinée et préalablement étalonné.

#### **I. 7. 2. 2. Détermination de l'acidité titrable**

La méthode de dosage de l'acidité titrable (Dornic) permet de quantifier la teneur totale d'acide lactique présent dans le lait. Le titrage est réalisé par une solution de NaOH N/9 (soude Dornic) en présence d'un indicateur coloré (phénolphtaléine à 1%). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1°D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (A.F.NOR., 1999). Le mode opératoire est détaillé en annexe 1.

#### **I. 7. 2. 3. Détermination de la composition chimique**

Ces analyses sont réalisées au niveau du laboratoire d'analyses physico-chimiques de l'unité Tchîn-lait/ Candia (Wilaya de Bejaia). Les teneurs en matière sèche, protéines, matière grasse et en lactose du lait cru de chèvre sont déterminées par immersion de la sonde d'un appareil « Milkoscan FT2-FOSS » (Danemark) dans un bécher contenant 10 ml de lait. Cet

appareil fait appel à l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Les résultats sont affichés directement sur l'écran de l'appareil et exprimés en %.

La détermination de la teneur en minéraux est réalisée par incinération de 10 ml du lait dans un four à moufle réglé à 500°C. Le résultat est calculé de la manière suivante (**Lecoq, 1965**) :

$$\text{MM (\%)} = \text{X/Y} \times 100.$$

Avec :

**MM** : matière minérale ;

**X** : masse de l'échantillon en gramme après incinération ;

**Y** : masse de l'échantillon en gramme avant incinération.

#### **I. 7. 2. 4. Détermination de la densité**

La densité du lait est déterminée par l'appareil « Milkoscan FT2-FOSS » tel qu'indiqué en paragraphe I. 7. 2. 3.

#### **I. 7. 3. Appréciation de la qualité hygiénique du lait cru de chèvre**

Afin de déterminer la qualité hygiénique du lait cru de chèvre, un test d'estimation de la charge microbienne et des analyses microbiologiques sont effectués.

##### **I. 7. 3. 1. Estimation de la charge microbienne (test de la réductase)**

La plupart des bactéries se multipliant dans le lait sont capables, grâce à l'action de leurs réductases, d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction (rédox) jusqu'à décoloration d'un indicateur rédox. On utilise généralement le bleu de méthylène dont la forme réduite est incolore. La rapidité de la décoloration, due au métabolisme bactérien, est directement proportionnelle au nombre de bactéries présentes (**Guiraud, 1998**).

Ce test est réalisé par l'introduction de 1 ml de bleu de méthylène (0,5 %) stérile dans un tube à essai contenant 10 ml de lait. Après agitation, le tube est incubé dans une étuve à 37°C. Une observation est effectuée au bout d'une heure 30 min et de 3 h (**Guiraud, 1998**).

##### **I. 7. 3. 2. Analyses microbiologiques**

Les analyses microbiologiques du lait cru de chèvre, destiné à la fabrication de fromage, ont porté sur des flores microbiennes susceptibles de modifier la stabilité du lait. A partir d'une série de dilutions décimales, différents milieux sontensemencés en masse selon

le type de la flore dénombrée ou recherchée (tableau VII). La composition des différents milieux est donnée en annexe 3.

**Tableau VII. Analyse microbiologique du lait cru de chèvre (Guiraud, 1998).**

Flores		Milieux de culture	Marque (pays)	Température et durée d'incubation
Flore totale		Gélose PCA	Conda pronadisa (Espagne)	30°C /72 h
Flore lactique	lactocoques	Gélose M17 (pH 5,8)	Fluka analytical (Suisse)	30°C /48 h
	lactobacilles	Gélose MRS (pH 5,4)	Conda pronadisa (Espagne)	30°C /48 h
Coliformes totaux		Gélose VRBL	Conda pronadisa (Espagne)	37°C /24-48 h
Coliformes fécaux		Gélose VRBL		44°C /24-48 h
Entérocoques		Bouillon de Roth (test présumptif), Bouillon d'Eva Litsky (test confirmatif)	Institut Pasteur (Algérie)	37°C/24 h 37°C/24 h
Levures et moisissures		OGA base additionnée de l'oxytétracycline	Institut Pasteur (Algérie)	25°C / 5 jours
Clostridium sulfito-réducteurs		Viande foie (VF) base additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium	Institut Pasteur (Algérie)	46°C/24 h (sans et après activation à 80°C/10 min)
Staphylocoques		Enrichissement sur bouillon Giolitti et Cantoni (GC) additionné de tellurite de potassium, isolement sur gélose Chapman	Institut Pasteur (Algérie)	37°C/24 h 37°C/24 h
Salmonelles		Deux enrichissements sur bouillon au sélénite de sodium-cystine et isolement sur gélose Hecktoen	Institut Pasteur (Algérie)	37°C/24 h 37°C/24 h

#### I. 7. 4. Pasteurisation du lait cru de chèvre

La pasteurisation est un traitement thermique modéré qui entraîne la destruction de nombreuses formes végétatives de microorganismes banaux et celle de tous les microorganismes pathogènes (Guiraud, 1998).

Etant donné que le seul moyen dont nous disposons pour la pasteurisation du lait au niveau laboratoire est le chauffage dans un bain marie, un barème de pasteurisation modéré

est choisi pour le traitement thermique du lait cru de chèvre (65°C/30 min) (figure 06). Ce même barème a été déjà appliqué par d'autres auteurs (Poveda *et al.*, 2003 ; Malattou *et al.*, 2004).

Afin de contrôler l'efficacité du barème de pasteurisation appliqué, les microorganismes suivants sont dénombrés dans le lait pasteurisé: flore totale, flore lactique, coliformes (totaux et fécaux), levures et moisissures et staphylocoques. De même, pour évaluer l'effet de ce traitement thermique sur la qualité nutritionnelle du lait, la composition chimique est déterminée tel que décrit en paragraphe I. 7. 2. 3.



**Figure 06. Pasteurisation du lait de chèvre au bain Marie à 65°C/ 30 min (photo originale).**

#### **I. 7. 5. Croissance dans le lait de chèvre pasteurisé**

La croissance des souches lactiques est évaluée dans le lait de chèvre pasteurisé selon la méthode décrite dans le paragraphe I. 6. 2. Les souches pures et les mêmes combinaisons des souches lactiques (tableau VI) sont testées.

#### **I. 8. Protocole de fabrication du fromage**

A sa réception, le lait de chèvre est réparti dans des béchers stériles de 500 ml et pasteurisé à 65°C /30 min (figure 06) puis laissé à refroidir à température ambiante. Les différentes étapes du protocole de fabrication suivies sont illustrées sur la figure 07.

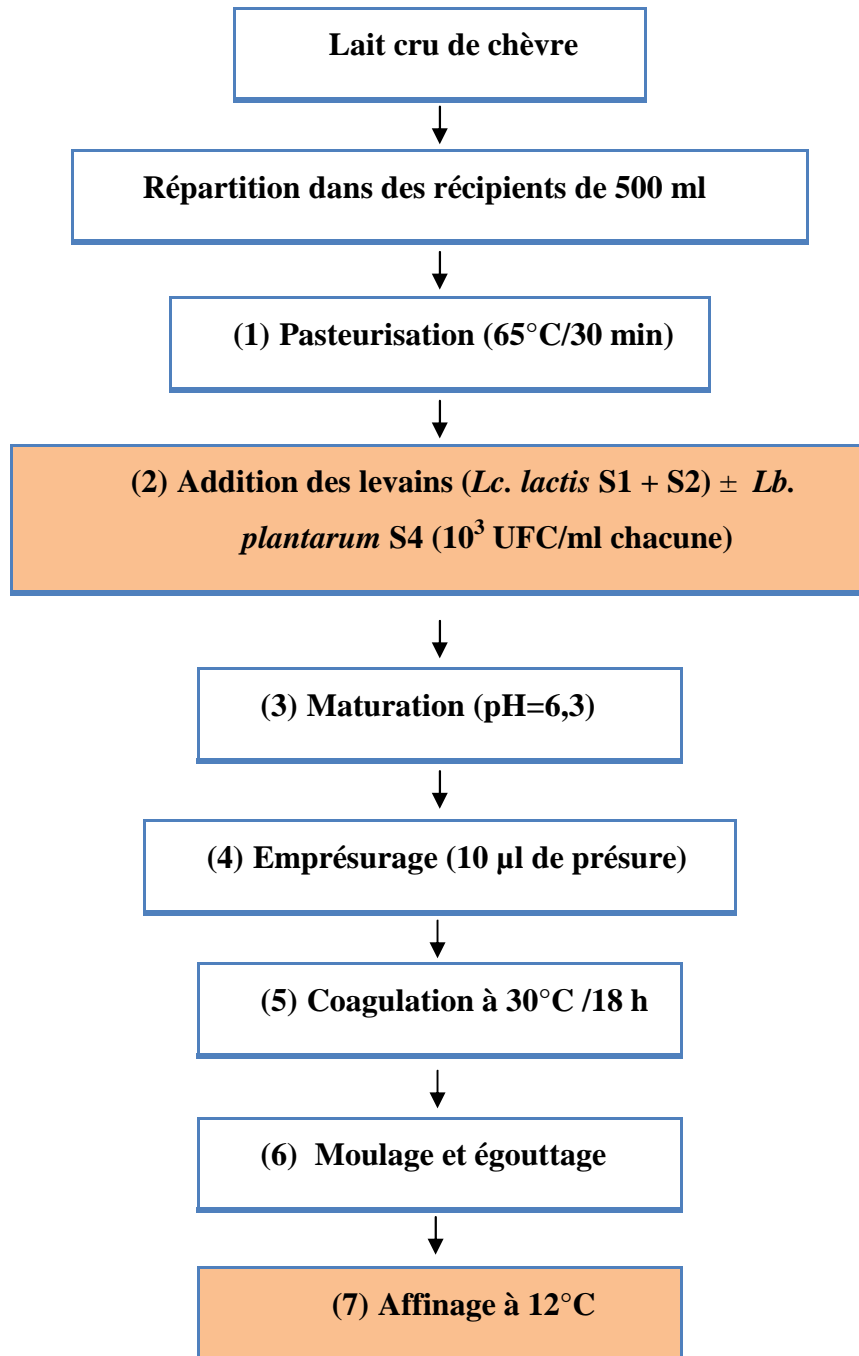


Figure 07. Diagramme de fabrication du fromage de chèvre affiné.

**Remarque :**

Les étapes 1 et 3-6 sont communes à toutes les fabrications par contre les étapes 2 et 7 sont variables suivant le protocole adopté : inclusion ou non de *Lb. plantarum* S4, affinage direct ou après immersion dans de l'huile d'olive.

**I. 8. 1. Préparation des pré-cultures**

La pré-culture des souches lactiques est réalisée telle quelle est décrite dans le paragraphe I. 6. 1.

**I. 8. 2. Ensemencement du lait de chèvre**

Le lait estensemencé avec 5 ml d'un mélange préparé dans 50 ml de lait de chèvre pasteurisé en incorporant les trois souches lactiques (1/1/1, v/v/v) à un taux de  $10^3$  UFC/ml chacune.

**I. 8. 3. Emprésurage**

Lors de l'étape de maturation (acidification par les bactéries lactiques), une vérification du pH est effectuée périodiquement. Une fois que le pH atteint 6,30, un emprésurage est réalisé. Dix microlitres (10  $\mu$ l) de présure « Caglio liquido, Caglifici clerici» (Italie) de force 1/10000 sont alors ajoutés au lait (500 ml). L'ensemble est soigneusement homogénéisé et ré-incubé à 30°C pour atteindre 18 h.

**I. 8. 4. Moulage et égouttage**

Après coagulation, le caillé est versé à l'aide d'une louche stérile dans des moules en plastique, perforés, stérilisés avec de l'alcool (éthanol absolu), de forme cylindrique et ayant des dimensions de 8×8 cm (figure 08). L'égouttage étant réalisé dans ces moules par entreposage du caillé dans une étuve à 20°C pendant 24 h. Deux à trois retournements sont effectués afin d'accomplir l'égouttage.



**Figure 08. Moulage des fromages (photo originale).**

### I. 9. Affinage

Après égouttage, les fromages sont mis dans des récipients en aluminium perforés (9×3cm). L'ensemble est placé dans une étuve (Nuve incubator, Turquie) réglée à une température de 12°C (figure 09). L'hygrométrie (H%) est mesuré à l'aide d'un hygromètre (HANNA instruments, HI 93640) et un retournement est effectué au 3<sup>ème</sup> jour.



Figure 09. Essai d'affinage des fromages à 12°C (photo originale).

### I. 10. Conservation dans l'huile d'olive

L'huile d'olive utilisée dans cette étude est une huile commerciale «IFRI Olive» gracieusement fournie par la maison Kemiche «IFRI Olive» (Ouzallaguen, Bejaia). Cette huile est choisie vue sa disponibilité régulière sur le marché et la stabilité de ses caractéristiques physico-chimiques. Deux types d'huile sont testés : huile d'olive vierge et vierge extra. Les caractéristiques physico-chimiques de ces huiles sont données en annexe 2.

Suivant le protocole de fabrication précédent, deux types de fromages (fromage I et fromage II) sont fabriqués, et ceci en présence ou en absence de *Lb. plantarum* S4. Le fromage I est un fromage affiné à 12°C puis conservé dans de l'huile d'olive à température ambiante. Le fromage II est un fromage qui est directement conservé dans de l'huile d'olive à température ambiante sans avoir subi d'affinage préalable à 12°C. Chaque type de fromage fabriqué, avec ou sans *Lb. plantarum* S4, est conservé dans les deux types d'huile : la vierge et la vierge extra (tableau VIII). Les fromages sont coupés en dés et immergés dans de l'huile d'olive contenue dans des bocaux en verre stériles. Ces bocaux sont étiquetés et entreposés à température ambiante et à l'abri de la lumière (figure 10).





Figure 10. Fromages conservés dans de l'huile d'olive (photos originales).

Tableau VIII. Les différents types de fromages fabriqués

	Souches incorporées	Affinage à 12°C / H%= 85-90%	Conservation dans de l'huile d'olive (T° ambiante)	Type d'huile d'olive
<b>Fromage I</b>	<i>Lc. lactis</i> S1+ <i>Lc. lactis</i> S2	+	7 jours	Vierge extra
	<i>Lc. lactis</i> S1+ <i>Lc. lactis</i> S2 + <i>Lb. plantarum</i> S4			Vierge
<b>Fromage II</b>	<i>Lc. lactis</i> S1 + <i>Lc. lactis</i> S2	-		Vierge extra
	<i>Lc. lactis</i> S1+ <i>Lc. lactis</i> S2 + <i>Lb. plantarum</i> S4			Vierge
				Vierge extra
				Vierge

H% : humidité relative, T° : Température, + : opération réalisée, - : opération non réalisée.

## I. 11. Analyse des fromages

### I. 11. 1. Prélèvement

Le contrôle de l'étape d'affinage nécessite de nombreux prélèvements, nous avons choisi trois points de contrôle (début, milieu et fin d'affinage). Des échantillons sont alors prélevés de chaque type de fromage au début, au milieu et à la fin de la période d'affinage à l'aide d'une spatule stérile. Dans le cas des fromages conservés dans de l'huile d'olive, des échantillons sont également prélevés au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive (jour 7).

Les échantillons réservés pour l'analyse physico-chimique sont conservés à -20°C jusqu'au moment de leur analyse contrairement à ceux réservés pour l'analyse microbiologique qui sont immédiatement analysés.

## I. 11. 2. Analyses physico-chimiques

Le contrôle physico–chimique permet d'évaluer la stabilité du produit en ce qui concerne ses caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques.

La détermination de la teneur en matière sèche, matière grasse et en protéines est réalisée au niveau du laboratoire de contrôle de qualité et de conformité PREVOLAB (El-Kseur, Bejaia).

### I. 11. 2. 1. Mesure du pH et détermination de l'acidité titrable

Le pH est déterminé par l'insertion directe de la sonde d'un pH-mètre spécifique (HANNA instruments, HI 99161) dans le cœur du fromage. L'acidité titrable est déterminée, tel que décrit en paragraphe I.7.2.2., en titrant 10 ml d'une émulsion obtenue par mélange de 5 g de fromage avec 30 ml d'eau distillée, le mélange est bien agité puis laissé au repos pendant 20 min (Amariglio, 1986).

### I. 11. 2. 2. Détermination de la teneur en matière sèche

Pour la réalisation de cette analyse, 10 g de chaque échantillon de fromage est placé dans des creusets préalablement séchés et tarés. Ces derniers sont placés dans une étuve (Nuve FN 400, Turquie) à 120°C. La matière sèche est déterminée par des pesées répétées jusqu'à avoir un poids constant. Le résultat est exprimé de la manière suivante (Lecoq, 1965):

$$MS (\%) = X/Y \times 100.$$

Avec :

**MS** : matière sèche ;

**X** : masse de l'échantillon en gramme après déshydratation;

**Y** : masse de l'échantillon en gramme avant déshydratation.

### I. 11. 2. 3. Détermination de la teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse est déterminée par la méthode butyrométrique de GERBER (A.F.NOR., 1999). Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution du produit à doser (excepté la matière grasse) par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux (le mode opératoire est détaillé en annexe 1).

#### I. 11. 2. 4. Détermination de la teneur en protéines

La méthode de référence officielle pour déterminer la quantité de protéines dans les produits laitiers est la méthode de Kjeldahl (A.F.NOR., 1999). Le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl s'effectue en trois étapes, soit la minéralisation, la distillation et le titrage.

La minéralisation vise à transformer l'azote organique en azote minéral sous forme ammoniacale  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  par l'action oxydative de l'acide sulfurique bouillant sur la matière organique en présence d'un catalyseur de minéralisation. L'ammoniac est distillé puis fixé dans une solution acide, après ajout d'un excès d'hydroxyde de sodium (NaOH), la solution est ensuite titrée par de l'acide chlorhydrique (HCl). Le mode opératoire est donné en annexe 1.

Les résultats sont exprimés en g pour 100 g de fromage selon les formules suivantes et les résultats finaux sont exprimés en pourcentage d'azote total (% NT) :

$$N (\%) = (14 \times V_s \times \text{Norm.}) \times 100 / m$$

$$\text{Taux protéines (g/100g fromage)} = 6,38 \times N$$

Avec:

**V<sub>s</sub>** : volume de HCl nécessaire pour titrer la solution de l'échantillon (ml).

**Norm.** : normalité de la solution de HCl exprimée en mol/l.

**m** : masse de l'échantillon en grammes.

**14** : masse moléculaire de l'azote (g d'azote/mol).

**6,38** : facteur d'équivalence azote total/protéines.

#### I. 11. 3. Analyse microbiologique

Cette analyse permet de suivre l'évolution de la microflore et son incidence sur le phénomène de la protéolyse et de la lipolyse.

Dix grammes (10 g) de chaque type de fromage sont dissous dans 90 ml de solution de citrate tri-sodique à 2% (w/v), préalablement chauffée à 45°C. Le mélange est agité jusqu'à dissolution complète puis une série de dilutions décimales est préparée dans une solution de TS et les microorganismes suivants sont dénombrés selon les méthodes décrites en paragraphe

I.7.3.2, la flore totale aérobie mésophile, bactéries lactiques (lactocoques et lactobacilles), coliformes (totaux et fécaux), levures et moisissures et les staphylocoques.

## **12. Détermination de la qualité organoleptique**

### **I. 12. 1. Choix de l'épreuve**

L'épreuve choisie est une épreuve de notation effectuée dans une perspective hédonique. Pour cela les opinions subjectives sur nos échantillons sont émises par un groupe de dégustateurs dit « jury naïf » composé de 39 individus. Le test de dégustation s'est déroulé dans une salle de dégustation conçue pour ce genre d'épreuves (université de Béjaia) (figure 11). Les dégustateurs choisis sont des personnes des deux sexes (féminin et masculin), d'âge différent, non utilisateurs de tabac, ne sont pas sous médication particulière et ne sont pas grippés ou enrhumés. La période de l'épreuve s'est étalée entre 10 h et 11 h.

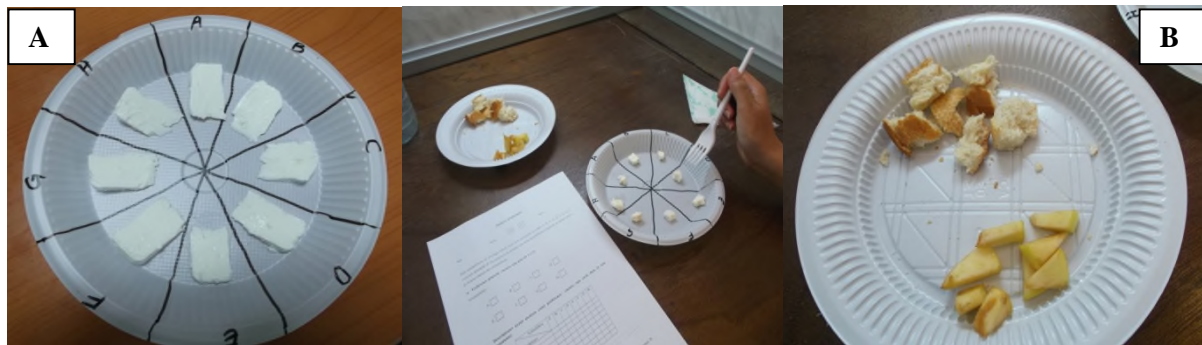


**Figure 11. Sujets naïfs en dégustation (photo originale).**

### **I. 12. 2. Présentation des échantillons**

Huit échantillons de fromage sont présentés aux dégustateurs. Ils sont préparés avant l'entrée du jury, numérotés de A à H (annexe 4) et sont présentés d'une façon identique (figure 12).

Les dégustateurs évaluent individuellement chaque fromage en attribuant une note de préférence globale (de 1 à 9) et répondent à certaines questions relatives aux paramètres qui ont motivé leurs préférences (fiche de dégustation présentée en annexe 5). Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, les dégustateurs se nettoient la bouche en mangeant un morceau de pain et un morceau de pomme afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent (figure 12).



**Figure 12. Présentation des échantillons de fromages pour dégustation (A) et morceaux de pain et de pomme servant au nettoyage de la bouche (B) (photos originales).**

### **I. 13. Analyses statistiques**

Les données expérimentales sont statistiquement analysées par le test de Student (XLSTAT) afin de déterminer la présence de différences significatives entre les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et le degré de lipolyse des fromages fabriqués en présence de *Lb. plantarum* S4 et ceux en son absence. Le seuil de signification retenu est de 0,05.

Le logiciel XLSTAT-MX (Addinsoft, 2013) est utilisé dans le traitement des résultats de l'analyse hédonique. Les résultats du test de dégustation sont évalués en réalisant une cartographie de préférences avec l'option « Preference Mapping » de ce logiciel.

### **II. 1. Vérification de la pureté des souches**

Deux souches de *Lc. lactis* ssp. *lactis* (S1 et S2), isolées de lait de chèvre et de vache respectivement et une souche de *Lb. plantarum* S4, isolée d'olives de table vertes, sont incluses dans cette étude. Les résultats des observations macroscopique (aspect des colonies) et microscopique (coloration de Gram, mobilité) réalisées après croissance des souches lactiques sur gélose M17 et MRS respectivement (30°C/48 h) ont permis de vérifier la pureté des souches. En effet, les observations concordent avec les caractéristiques spécifiques aux genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* à savoir des colonies muqueuses et blanches et des cellules sous forme de cocci et bâtonnets à Gram positif et immobiles. Le test de la catalase qui est négatif confirme cette constatation.

### **II. 2. Standardisation des *inocula***

Le but de la standardisation de l'*inoculum*, est d'avoir le même nombre de cellules bactériennes vivantes dans 1 ml de culture durant toute l'expérimentation.

Après les dénombrements effectués pour les trois souches lactiques, le nombre de cellules viables obtenu à partir des cultures de 18 h (30°C) est en moyenne de 10<sup>9</sup> UFC/ml. Pour obtenir les taux d'*inocula* nécessaires aux études ultérieures, des dilutions ont été réalisées.

### **II. 3. Activité antibactérienne**

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire lors de leur croissance des composés actifs doués d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de microorganismes d'altération ou pathogènes, leur permettant ainsi de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes (Klaenhammer, 1988).

#### **II. 3. 1. Activité antibactérienne croisée des bactéries lactiques**

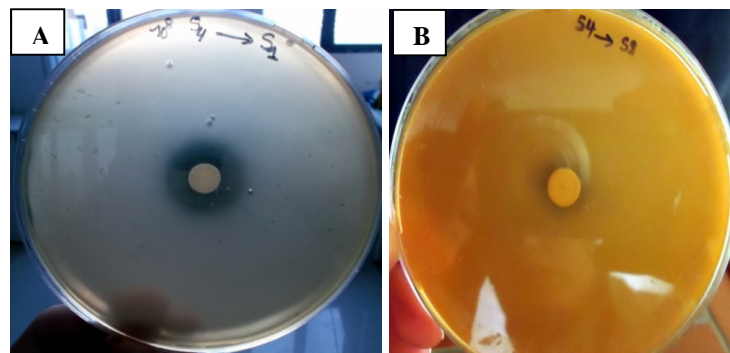
Il est assez rare que l'on utilise pour la fabrication des produits laitiers une seule souche de bactéries lactiques. En règle générale, on associe plusieurs souches, voir plusieurs espèces et genres bactériens (Juillard *et al.*, 1987). Dans le but de préparer un ferment mixte mésophile, l'étude des interactions entre les souches lactiques semble être une étape primordiale. Cette étude permettra de déterminer la possibilité d'associer les trois souches dans le lait afin de mener une meilleure acidification et par conséquent une bonne coagulation.

Le test d'antagonisme réalisé sur les différentes cultures de 18 h déposées en spots à raison de 10<sup>7</sup> UFC/ml (Tableau IX), a révélé la présence de zones d'inhibition dans le cas de

*Lb. plantarum* S4 à l'égard des souches *Lc. lactis* S1 et *Lc. lactis* S2 tel le montre la figure 13. Le diamètre des zones d'inhibition, en incluant le diamètre des spots est en moyenne de 17 et 11 mm respectivement.

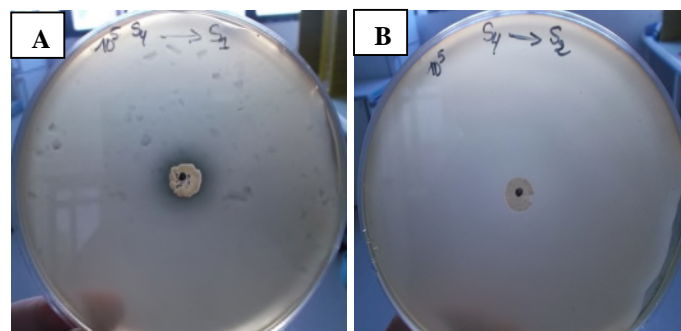
**Tableau IX. Résultats du test des spots des bactéries lactiques l'une à l'égard de l'autre.**

Souche test (10 <sup>7</sup> UFC/ml)	Souche cible (10 <sup>7</sup> UFC/ml)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Lc. lactis</i> S1	<i>Lc. lactis</i> S2	0
	<i>Lb. plantarum</i> S4	0
<i>Lc. lactis</i> S2	<i>Lc. lactis</i> S1	0
	<i>Lb. plantarum</i> S4	0
<i>Lb. plantarum</i> S4	<i>Lc. lactis</i> S1	17,00 ± 0,50
	<i>Lc. lactis</i> S2	11,00 ± 0,10
<i>Lc. lactis</i> S1+ <i>Lc. lactis</i> S2	<i>Lb. plantarum</i> S4	0



**Figure 13. Test des spots montrant l'activité antibactérienne de *Lb. plantarum* S4 (10<sup>7</sup> UFC/ml) vis-à-vis de *Lc. lactis* S1 (A) et de *Lc. lactis* S2 (B).**

Avec un *inoculum* de 10<sup>5</sup> UFC/ml, *Lb. plantarum* S4 a donné une zone d'inhibition d'un diamètre de 13 ± 0,28 mm vis-à-vis de *Lc. lactis* S1 (figure 14) et aucune zone n'a été détectée à l'égard de *Lc. lactis* S2.



**Figure 14. Test d'activité antibactérienne (test des spots) de *Lb. plantarum* S4 (10<sup>5</sup> UFC/ml) vis-à-vis de *Lc. lactis* S1 (A) et de *Lc. lactis* S2 (B).**

En utilisant l'inoculum de  $10^3$  UFC/ml, aucune activité de *Lb. plantarum* S4 à l'égard des deux souches de lactocoques n'a été observée.

Plusieurs études ont rapporté l'antagonisme des souches de bactéries lactiques, particulièrement *Lb. plantarum* isolées des olives de table fermentées, vis-à-vis d'autres bactéries lactiques et de bactéries d'altération et pathogènes et ceci par le biais de la production de substances antimicrobiennes tels que les bactériocines et les acides organiques (Jimenez-Diaz *et al.*, 1993; Ruiz-Barba *et al.*, 1994; Abriouel *et al.*, 2012).

Des souches de *Lb. plantarum* isolées de différents types d'olives fermentées d'origine espagnole, ont été rapportées capables d'inhiber la croissance de souches de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* par la production de bactériocines et d'autres métabolites (Maldonado *et al.*, 2002).

L'activité antagoniste de la souche de *Lb. plantarum* S4 vis-à-vis des deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2) peut influencer la croissance et par conséquent l'activité acidifiante de ces dernières utilisées comme souches « levains ». Pour cela, l'étude de la croissance et de l'activité acidifiante des souches lactiques en cultures mixtes dans le lait s'avère nécessaire.

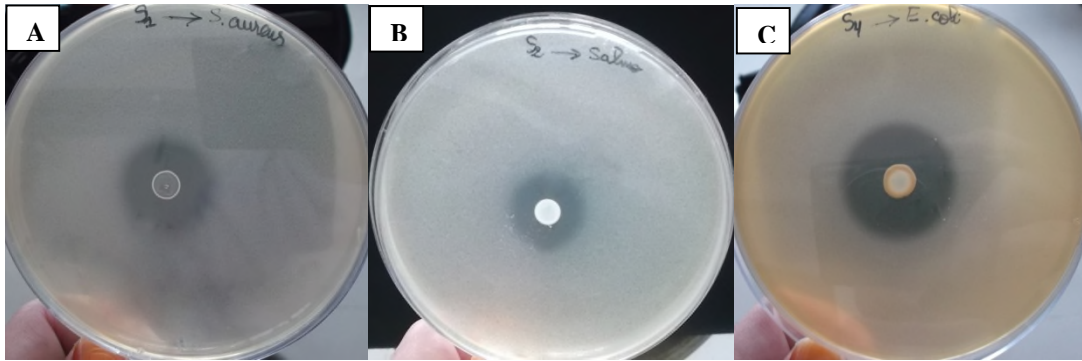
### II. 3. 2. Activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries pathogènes

L'activité antibactérienne de cultures pures et mixtes des trois souches lactiques à l'égard de cinq souches pathogènes de référence (*Staphylococcus* (*S.*) *aureus*, *Escherichia* (*E.*) *coli*, *Listeria* (*L.*) *innocua*, *Pseudomonas* (*P.*) *aeruginosa* et *Salmonella* (*Sal.*) *enterica*) a été évaluée afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste.

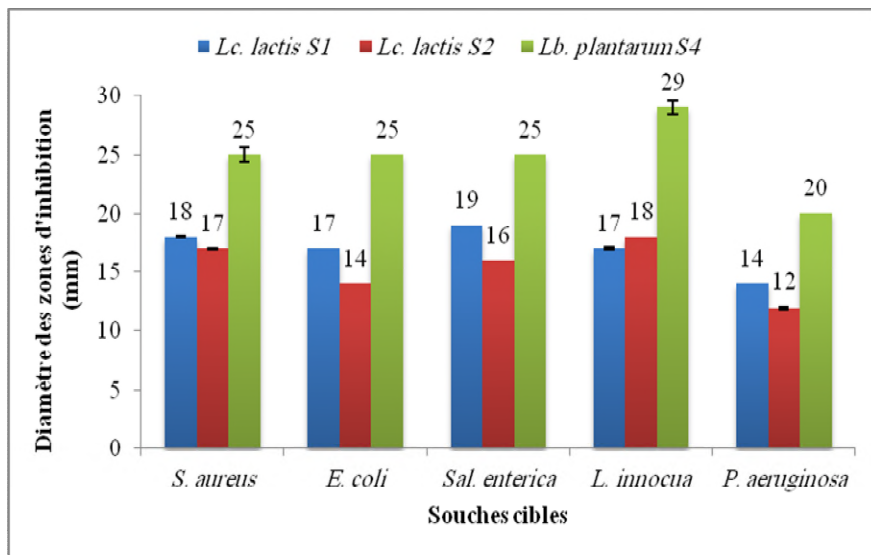
Les souches lactiques ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des cinq souches pathogènes testées. Cette activité a été révélée par l'apparition de zones d'inhibition autour des cultures lactiques déposées en spots (figure 15).

Les trois souches lactiques ( $10^9$  UFC/ml) ont révélé une disparité dans leur activité antibactérienne à l'égard des souches pathogènes ( $10^6$  UFC/ml). En effet, les souches *Lc. lactis* S1 et *Lc. lactis* S2 ont montré une activité antagoniste moyenne se traduisant par des zones d'inhibition allant de 14 à 19 mm pour *Lc. lactis* S1 et de 12 à 18 mm pour *Lc. lactis* S2; tandis que *Lb. plantarum* S4 a présenté une forte activité antagoniste avec des diamètres allant de 20 à 29 mm (figure 16).





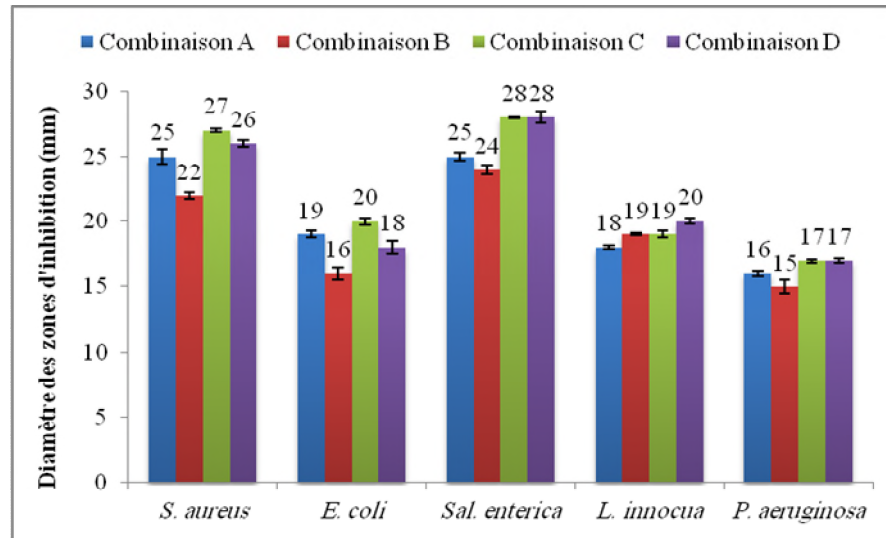
**Figure 15.** Exemples des résultats de l'activité antagoniste des trois souches lactiques à l'égard des bactéries pathogènes (A: *Lc. lactis* S1 vis-à-vis de *S. aureus*, B: *Lc. lactis* S2 vis-à-vis de *Sal. enterica*, C: *Lb. plantarum* S4 vis-à-vis d'*E. coli*).



**Figure 16.** Résultats du test d'antagonisme des bactéries lactiques ( $10^9$  UFC/ml) à l'égard des souches pathogènes ( $10^6$  UFC/ml).

Quoique les taux des souches lactiques soient faibles dans les combinaisons testées ( $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml), l'association des deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2) avec *Lb. plantarum* S4 dans des combinaisons binaires (*Lc. lactis* S1 ou S2/ *Lb. plantarum* S4) a révélé une activité antibactérienne plus prononcée à l'égard de *S. aureus* et de *Sal. enterica* en testant les deux rapports  $10^3/10^3$  UFC/ml et  $10^5/10^3$  UFC/ml par comparaison avec les résultats des cultures pures ( $10^9$  UFC/ml). Cette augmentation était plus prononcée avec le rapport  $10^5/10^3$  UFC/ml (figure 17). Ceci pourrait être expliqué par un effet de synergie entre les activités antibactériennes des deux souches lactiques associées.

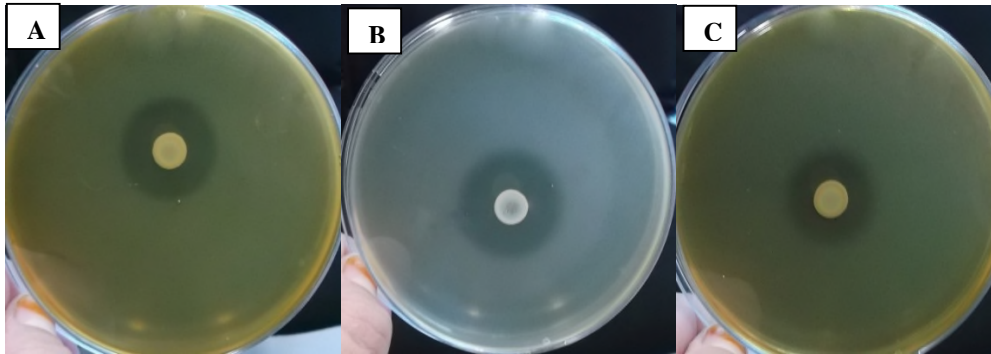
Toutefois, dans le cas d'*E. coli*, *L. innocua* et de *P. aeruginosa*, une meilleure activité antibactérienne a été notée chez *Lb. plantarum* S4 en culture pure comparée aux cultures binaires (figures 16 et 17).



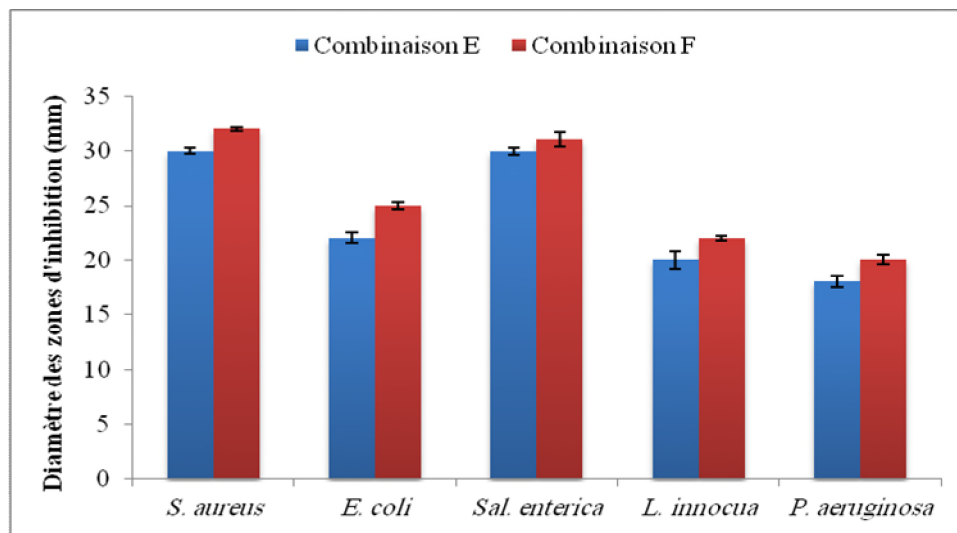
**Figure 17. Résultats du test d'antagonisme des combinaisons lactiques binaires à l'égard des souches pathogènes.** Combinaison A : *Lc. lactis* S1 / *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  /  $10^3$  UFC/ml), combinaison B : *Lc. lactis* S2 / *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  /  $10^3$  UFC/ml), combinaison C : *Lc. lactis* S1 / *Lb. plantarum* S4 ( $10^5$  /  $10^3$  UFC/ml), combinaison D : *Lc. lactis* S2 / *Lb. plantarum* S4 ( $10^5$  /  $10^3$  UFC/ml).

La combinaison tertiaire E (*Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 :  $10^3$ /  $10^3$ /  $10^3$  UFC/ml) a également présenté une activité inhibitrice plus prononcée vis-à-vis des souches pathogènes par rapport aux combinaisons binaires (figure 18). Les activités les plus importantes ont été notées à l'égard de *S. aureus* et de *Sal. enterica* où les zones d'inhibition ont atteint des diamètres de 30 mm (figure 19). Cette activité était encore plus élevée avec la combinaison F (*Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 :  $10^5$  /  $10^5$  / $10^3$  UFC/ml) (figure 19).

Ces résultats indiquent clairement que les souches lactiques testées dans cette étude (cultures pures ou mixtes) sont capables de synthétiser des substances ayant une activité antibactérienne. Les bactéries lactiques sont connues pour leur activité antagoniste par production d'une multitude de composés antimicrobiens : acides organiques, bactériocines, diacétyle et peroxyde d'hydrogène en plus de la compétition nutritionnelle interférant avec la croissance d'autres microorganismes (Aslam et Qazi, 2010).



**Figure 18. Exemples des résultats de l'activité antagoniste de la combinaison lactique ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml) à l'égard des bactéries pathogènes. (A) *L. innocua*, (B) *E. coli*, (C) *P. aeruginosa*.**



**Figure 19. Résultats du test d'antagonisme des combinaisons tertiaires à l'égard des souches pathogènes. Combinaison E : *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml), combinaison F: *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml).**

Différentes études ont montré le pouvoir inhibiteur du genre *Lactococcus* à l'égard de bactéries pathogènes. **Strahini et al. (2007)** ont isolé la souche *Lc. lactis* BGSM1 productrice d'une bactériocine active vis-à-vis des bactéries à Gram positif (*S. aureus* et *Bacillus subtilis*) et à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). De même, **Mitra et al. (2010)** ont montré un effet antagoniste significatif de la souche *Lc. lactis* W8, productrice de nisine, envers des bactéries d'altération et pathogènes telles que *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *L. monocytogenes* et *S. aureus* dans un lait fermenté nommé « dahi ».

Les lactobacilles sont également reconnus pour leur pouvoir antagoniste vis-à-vis des bactéries pathogènes. **Sobh et al. (2008)** ont montré que deux souches de *Lactobacillus* sp.,

isolées de la saumure d'olives, ont été capables d'inhiber la croissance de *S. aureus*. De même, **Delgado et al. (2001)** ont rapporté que la souche *Lb. plantarum* LB17.2b, isolée à partir d'olives de table fermentées traditionnellement, a montré une capacité à produire des substances antibactériennes de nature protéique et thermostables actives à l'égard d'*Enterococcus faecalis*.

Récemment, **Abriouel et al. (2012)** ont rapporté que 80% des lactobacilles isolés des olives de table vertes espagnoles possédaient une activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries pathogènes tels *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *B. cereus* et *Sal. enterica*.

La capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle primordial dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (**Ammor et al., 2006**). Les bactéries lactiques peuvent inhiber les flores non lactiques, dont certaines sont pathogènes ou préjudiciables à la qualité des fromages. En effet, **Ghraiiri et al. (2005)** ont rapporté que l'utilisation des lactocoques comme bio-conservateurs, dans l'industrie laitière, pourrait éventuellement inhiber complètement la flore de contamination. D'autre part, il a été démontré que l'association de la souche *Lb. plantarum* LMG P-26358 avec des souches de lactocoques dans le fromage « Gouda » a eu un effet inhibiteur contre *L. innocua* inoculée expérimentalement dans le lait (**Mills et al., 2011**).

#### **II. 4. Aptitudes technologiques des souches lactiques**

Deux principales aptitudes technologiques des souches lactiques ont été étudiées, l'activité protéolytique et l'activité lipolytique en plus de l'activité autolytique chez les lactocoques.

##### **II. 4. 1. Activité protéolytique**

La protéolyse est considérée comme l'un des processus biochimiques les plus importants impliqués dans la fabrication de plusieurs produits laitiers fermentés y compris les fromages.

Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans le tableau X. Il en ressort que les trois souches lactiques étudiées présentent une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des spots et ceci que ce soit à 30°C ou à 12°C.

Selon **Vuillemand (1986)**, la souche est dite protéolytique si elle présente une zone d'hydrolyse de diamètre supérieur à 5 mm. Par comparaison à cette donnée, nos souches se sont révélées protéolytiques avec des diamètres de zones de protéolyse compris entre 9 et 30 mm (y compris le diamètre du spot).

**Tableau X : Résultats de l'activité protéolytique des souches lactiques.**

Souche / combinaison	Taux (UFC/ml)	Diamètres (mm)	
		30°C	12°C
<i>Lc. lactis</i> S1	10 <sup>5</sup>	23 ± 0,28	19 ± 0,57
	10 <sup>3</sup>	22 ± 0,33	11 ± 0,15
<i>Lc. lactis</i> S2	10 <sup>5</sup>	23 ± 0,15	16 ± 0,16
	10 <sup>3</sup>	16 ± 0,26	09 ± 0,21
<i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>5</sup>	28 ± 0,06	21 ± 0,30
	10 <sup>3</sup>	27 ± 0,14	15 ± 0,41
<i>Lc. lactis</i> S1 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>3</sup> / 10 <sup>3</sup>	26 ± 0,08	15 ± 0,06
<i>Lc. lactis</i> S2 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>3</sup> / 10 <sup>3</sup>	28 ± 0,48	11 ± 0,21
<i>Lc. lactis</i> S1 / <i>Lc. lactis</i> S2 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>3</sup> / 10 <sup>3</sup> / 10 <sup>3</sup>	29 ± 0,37	16 ± 0,28
<i>Lc. lactis</i> S1 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>5</sup> / 10 <sup>3</sup>	30 ± 0,30	20 ± 0,08
<i>Lc. lactis</i> S2 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>5</sup> / 10 <sup>3</sup>	30 ± 0,21	17 ± 0,11
<i>Lc. lactis</i> S1 / <i>Lc. lactis</i> S2 / <i>Lb. plantarum</i> S4	10 <sup>5</sup> / 10 <sup>5</sup> / 10 <sup>3</sup>	30 ± 0,07	22 ± 0,33

Des résultats obtenus (tableau X), il apparaît clairement que *Lb. plantarum* S4 présente la plus grande activité protéolytique, exprimée par un diamètre moyen de 28 mm (10<sup>5</sup> UFC/ml) et de 27 mm (10<sup>3</sup> UFC/ml) à 30°C. La même observation est notée à 12°C avec des diamètres moyens de 21 et 15 mm respectivement. Quoique cette souche fût isolée des olives de table vertes, elle présente un fort pouvoir protéolytique des protéines de lait.

Bien que les deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2) soient originaires de lait (chèvre et vache, respectivement), elles ont montré une activité protéolytique moyenne comparée à celle de la souche *Lb. plantarum* S4 avec des diamètres de 23 mm (10<sup>5</sup> UFC/ml) et de 22 mm (10<sup>3</sup> UFC/ml) pour *Lc. lactis* S1 et de 23 mm (10<sup>5</sup> UFC/ml) et de 16 mm (10<sup>3</sup> UFC/ml) pour *Lc. lactis* S2 et ceci à 30°C. A 12°C, cette activité est encore moins prononcée ou le plus faible diamètre est enregistré par *Lc. lactis* S2 avec 9 mm (10<sup>3</sup> UFC/ml).

Il est à noter que l'activité protéolytique des trois souches lactiques est moins exprimée à 12°C qu'à 30°C. Ceci n'est pas surprenant vu que la croissance des bactéries

lactiques mésophiles (*Lc. lactis* et *Lb. plantarum*) est optimale à 30°C et que leur temps de génération est prolongé à 12°C. D'autre part, il est bien établi que leurs protéinases et peptidases sont freinées par les basses températures (**Desmazeaud et Hermier, 1968**).

Plusieurs études ont rapporté la capacité de souches de *Lc. lactis* et de *Lb. plantarum* à dégrader les protéines du lait, plus particulièrement les caséines (**Madera et al., 2003; Asteri et al., 2009; Picon et al., 2010**).

**Kacem et Karam (2006)** ont montré que des souches de *Lb. plantarum*, isolée des olives algériennes fermentées, possédaient une forte activité protéolytique, contrairement à **Idoui et al. (2009)** qui ont rapporté qu'aucune zone de protéolyse n'a été détectée autour de colonies de souches de *Lb. plantarum*, isolées des olives noires jijiliennes,ensemencées sur une gélose au lait. Cette dernière observation fut également rapportée par **Aponte et al. (2012)** en testant des souches de bactéries lactiques, isolées à partir d'olives de table italiennes. D'autre part, **Georgieva et al. (2009)** ont montré qu'une souche de *Lb. plantarum* isolée de fromages bulgares présentait une faible activité protéolytique *in vitro*. Contrairement à ces études, la souche de *Lb. plantarum* S4 utilisée dans cette étude s'avère être fortement protéolytique.

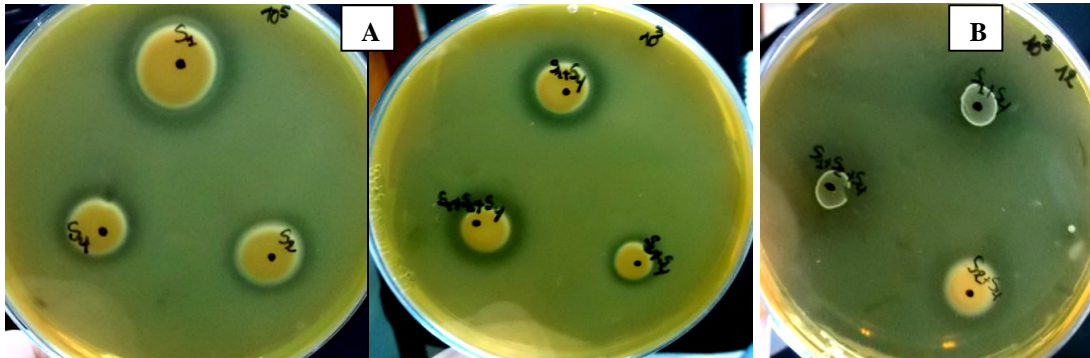
La protéolyse est importante pour les souches de *Lc. lactis*, généralement utilisées en tant que levains, car elles ont tendance à être auxotrophes pour plusieurs acides aminés et étant donné que la concentration de ces derniers dans le lait ne peut apporter que 20% des besoins d'une souche « levain », le reste doit être obtenu par l'intermédiaire d'hydrolyse des protéines du lait, en particulier des caséines (**Madera et al., 2003**).

**Zadi-Karam et al. (2004)** ont rapporté que des souches de *Lc. lactis* isolées de lait de chamelles de Timimoun (Sud algérien) se sont révélées protéolytiques sur une gélose au lait avec des diamètres variant entre 7 et 10 mm. De même, **Picon et al. (2010)** ont rapporté que différentes souches de *Lc. lactis*, isolées de fromages de chèvre et de brebis, sont douées d'une activité protéolytique.

Récemment, des souches de *Lc. lactis*, isolées d'aliments fermentés italiens, ont été rapportées possédant un fort pouvoir protéolytique en donnant de grandes zones de protéolyse sur une gélose au lait (**Dal Bello et al., 2012**).

L'association de la souche de *Lb. plantarum* avec les deux souches de lactocoques (S1/S2/S4 :  $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml et  $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml), a eu un effet positif sur les diamètres des zones de protéolyse qui se sont révélés plus grands avec une moyenne de 29 et

30 mm à 30°C, respectivement. Par contre à 12°C, les diamètres sont moins importants (16 et 22 mm, respectivement) mais plus prononcés par rapport à ceux obtenus par les cultures pures dans le cas de l'association ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml) (figure 20).

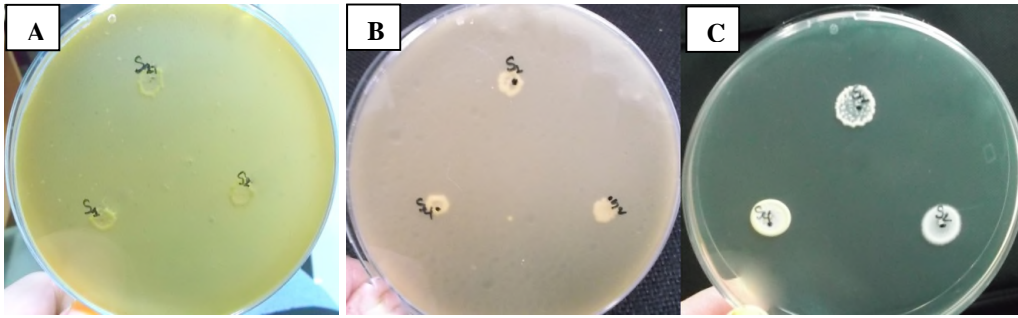


**Figure 20. Exemples d'activités protéolytiques des souches lactiques observées à 30°C (A) et à 12°C (B).**

En fromagerie, l'activité protéolytique est une propriété importante pour la sélection de bactéries lactiques, en tant que levains et non levains, vu son influence sur la flaveur des fromages en fournissant la majorité des précurseurs essentiels des arômes (Yvon, 2006). Cependant, il est important de considérer que les bactéries hautement protéolytiques ne sont pas toujours appropriées à une utilisation comme souches levains ou non levains, parce que la protéolyse excessive peut causer une production incontrôlée de peptides amers et d'autres composés non désirés, ou même provoquer une hydrolyse excessive des caséines ayant pour résultat la formation d'un produit fini trop mou (Buffa *et al.*, 2005).

#### II. 4. 2. Activité lipolytique

L'activité lipolytique a été testée sur un ester commercial « tween 80 », une huile d'olive vierge et la crème fraîche obtenue de lait de chèvre. Les résultats obtenus ont montré qu'aucune souche en culture pure ou en association avec les autres souches n'était capable de dégrader le tween 80, l'huile d'olive ou bien la crème fraîche du lait de chèvre (figure 21).



**Figure 21. Exemples de résultats montrant l'absence de toute activité lipolytique en présence de 1% de (A) crème de chèvre (B) huile d'olive (C) tween 80.**

Ces résultats sont en concordance avec ceux de **Buffa *et al.* (2005)** et **Nieto-Arribas *et al.* (2009)** qui ont rapporté qu'aucune activité lipolytique n'était observée en présence de 1% de crème de lait de chèvre. Le même résultat a été obtenu par **Ammor *et al.* (2005)** et **Essid *et al.* (2009)** concernant la dégradation du tween 80. Ceci n'est pas surprenant car selon **El Soda *et al.* (1995)**, les bactéries lactiques sont caractérisées par une faible activité lipolytique en comparaison avec d'autres groupes microbiens tels que les levures.

En revanche, l'étude menée par **Karam *et al.* (2012)** montre que des souches de lactocoques et de lactobacilles étaient capables de dégrader d'une manière significative l'huile d'olive additionnée à 1% à la gélose MRS. De même, **Asteri *et al.* (2009)** ont trouvé que cinq souches lactiques isolées de fromages artisanaux grecs, montraient une activité lipolytique en utilisant de la tributyrine.

Toutefois, les souches lactiques utilisées dans la fabrication fromagère devraient idéalement avoir une faible activité lipolytique, en dégradant légèrement la matière grasse durant la phase d'affinage afin d'assurer une production d'arômes sans saveur de rance (**Herrero *et al.*, 1996**).

### II. 4. 3. Activité autolytique

La capacité d'autolyse des souches de lactocoques, avec la libération ultérieure d'enzymes intracellulaires, a été décrite comme une propriété souhaitable pendant l'affinage du fromage pour l'amélioration des propriétés sensorielles et texturales (**El-Soda *et al.*, 1995**).

Les deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2) ont révélé des taux d'autolyse différents et qui sont de l'ordre de 65% et 57%, respectivement. Selon la classification d'**Ayad *et al.* (2004)**, les deux souches sont qualifiées d'avoir une bonne autolyse.



## II. 5. Croissance des souches lactiques dans le lait

Avant de suivre la croissance des souches lactiques, une pré-culture est réalisée dans le lait afin de permettre aux souches de s'adapter au milieu lait particulièrement pour *Lb. plantarum* qui est originaire des olives de table vertes.

### II. 5. 1. Adaptation des souches au milieu lait

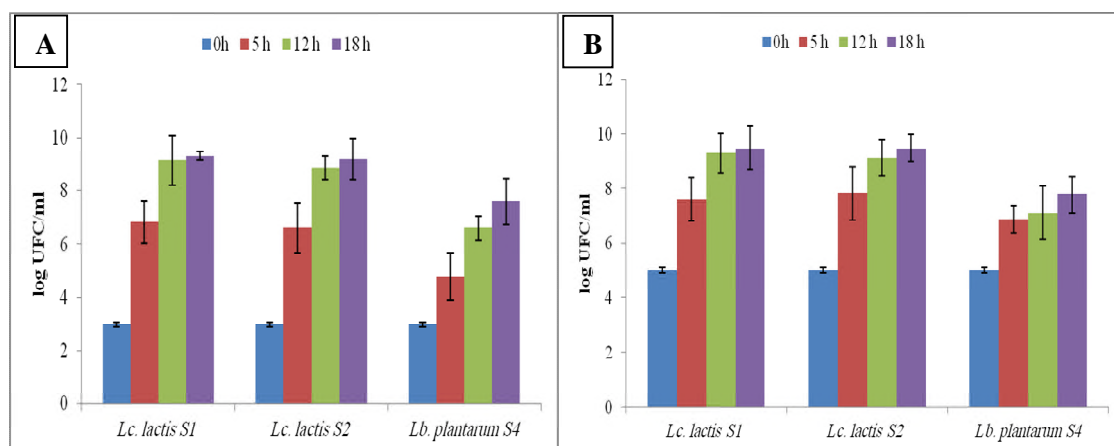
Après culture des souches lactiques dans du lait stérilisé « UHT » à 30°C/ 18 h, les taux finaux moyens enregistrés ont été de  $9. 10^8 \pm 0,32$  UFC/ml (*Lc. lactis* S1),  $6. 10^8 \pm 1,09$  UFC/ml (*Lc. lactis* S2) et  $2. 10^7 \pm 1,15$  UFC/ml (*Lb. plantarum* S4). Ceci montre une bonne capacité de croissance des souches étudiées dans le lait.

### II. 5. 2. Suivi de l'évolution de la croissance et de l'acidification (pH et acidité titrable) des cultures (pures et mixtes) des souches lactiques dans le lait UHT

#### II. 5. 2. 1. Cultures pures

##### a) Suivi de l'évolution de la croissance

La croissance (log UFC/ml) des trois souches lactiques dans le lait UHT, inoculées à raison de  $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml, a été déterminée par dénombrement après 5, 12 et 18 h de culture à 30°C (figure 22).



**Figure 22. Evolution de la croissance des trois souches lactiques dans du lait UHT inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et de  $10^5$  UFC/ml (B), à intervalles de temps bien définis.**

Le nombre de cellules viables de *Lc. lactis* S1, *Lc. lactis* S2 et de *Lb. plantarum* S4 en cultures pures ( $10^3$  UFC/ml) n'a pas cessé d'augmenter durant toute la période d'incubation atteignant des taux de  $2,09 \cdot 10^9$  (*Lc. lactis* S1),  $1,54 \cdot 10^9$  UFC/ml (*Lc. lactis* S2) et de  $4 \cdot 10^7$  UFC/ml (*Lb. plantarum* S4) au bout de 18 h. Ces mêmes taux respectifs ont été obtenus au bout de 12 h d'incubation en augmentant le taux initial à  $10^5$  UFC/ml (figure 22) et ils sont restés inchangés après 18 h d'incubation. Ceci est peut être dû à l'épuisement des éléments nutritifs du milieu (lait), mais aussi à l'augmentation de l'acidité qui a une incidence négative sur la croissance des souches lactiques (**Roukas et Kotzekidou, 1998**).

Quoique *Lb. plantarum* est une espèce ubiquitaire et peut dégrader plusieurs sources de carbone (**Corsetti et Valmorri, 2011**), la souche S4 a montré un faible taux de croissance dans le lait UHT comparativement aux deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que cette souche a été isolée des olives de table et qu'elle n'a pas pu s'adapter facilement au milieu lait, contrairement aux souches S1 et S2 d'origine laitière (lait de chèvre et de vache, respectivement).

#### **b) Suivi de l'évolution de l'acidification**

L'activité acidifiante des bactéries lactiques est un paramètre déterminant dans leur sélection et leur utilisation comme ferments. L'acidification est une conséquence de l'accumulation de l'acide lactique dans le milieu suite à la fermentation du lactose aboutissant à un abaissement du pH et à une augmentation de l'acidité titrable (**Chamba et al., 1994**).

La figure 23 illustre l'évolution du pH et de l'acidité titrable des cultures de *Lc. lactis* S1 et S2 et de *Lb. plantarum* S4 inoculées à raison de  $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml dans le lait UHT.

A l'état initial, le pH et l'acidité du lait UHT utilisé ont été respectivement de 6,57 et 1,6 g/l. En inoculant ce lait avec les souches *Lc. lactis* S1 et S2 ( $10^3$  UFC/ml), les valeurs de pH ont diminué à 6,30 et 6,24 respectivement au bout de 5 h d'incubation. En parallèle, la quantité d'acide lactique produite a été de 2,4 et 2 g d'acide lactique par litre de lait respectivement. Au bout de 18 h d'incubation, les valeurs de pH ont atteint 5,04 (S1) et 4,91 (S2), accompagnées par une augmentation de la quantité d'acide produite qui a atteint des valeurs de 6,97 et 6,8 g/l, respectivement.

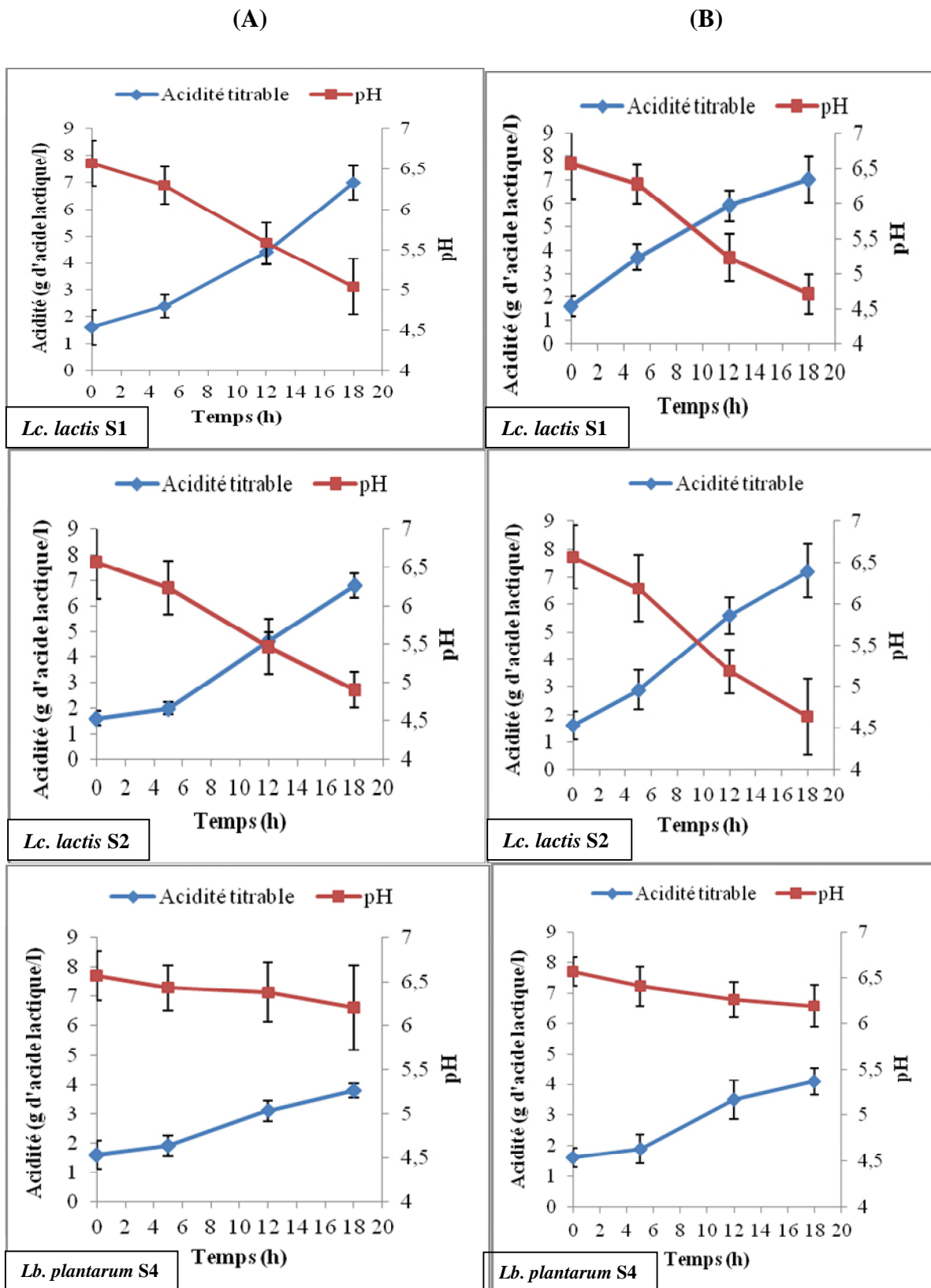


Figure 23. Réduction du pH et production d'acide lactique par les trois souches lactiques en cultures pures inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et  $10^5$  UFC/ml (B), dans le lait UHT, à intervalles de temps bien définis.

En utilisant les souches S1 et S2 à un *inoculum* de  $10^5$  UFC/ml, les valeurs de pH étaient encore plus basses (4,71 et 4,67 respectivement) et celles de l'acidité plus élevées (7 et 7,2 g/l respectivement) au bout des 18 h d'incubation.

Les souches S1 et S2 se sont montrées plus acidifiantes que celles étudiées par **Cheriguene et al. (2006)** qui ont rapporté une activité acidifiante plus faible de souches de *Lc. lactis*, isolées de lait de chèvre algérien (*Lc. lactis* ssp. *cremoris*, 6 g/l et *Lc. lactis* ssp. *lactis*, 7,5 g/l) après 24 h d'incubation. Par contre, **Idoui et al. (2009)** ont trouvé que des souches de *Lc. lactis* ssp. *lactis* et de *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, isolées de beurre fabriqué à partir de lait de brebis algérien, produisaient des quantités en acide lactique supérieures à 8,5 g/l après 24 h d'incubation dans un lait écrémé.

La souche *Lb. plantarum* S4 paraît moins acidifiante que les souches de lactocoques. En effet, après 18 h d'incubation et en inoculant le lait à raison de  $10^3$  UFC/ml, le pH enregistré a été de 6,31 et la quantité d'acide lactique produite a été de 3,8 g/l. Avec un *inoculum* plus élevé ( $10^5$  UFC/ml), les valeurs de pH et d'acidité titrable ont été de 6,19 et de 4,1 g/l respectivement au terme de la période d'incubation (18 h).

Ces valeurs d'acidité sont très inférieures à celles rapportées par **Idoui et al. (2009)** en étudiant deux souches de *Lb. plantarum* (FO1 et FO11) isolées de la surface d'olives noires, qui produisaient des quantités d'acide lactique de l'ordre de 6,2 et 8,6 g/l après 12 h d'incubation dans du lait écrémé, respectivement.

D'un autre coté, la majorité des souches de *Lb. plantarum* isolées de différents produits laitiers égyptiens avaient une lente activité acidifiante (**Ayad et al., 2004**).

Généralement, les bactéries lactiques utilisées comme non levains ne font pas partie de la flore d'acidification, elles ne contribuent pas à la production d'acides et elles ne se développent pas bien dans le lait (**Cogan et al., 1997**).

## **II. 5. 2. 2. Cultures mixtes**

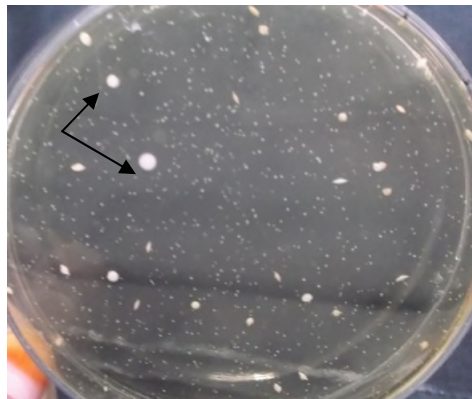
### **a) Suivi de la croissance de *Lb. plantarum* S4 dans les cultures mixtes**

Ce suivi nous a permis d'évaluer le comportement de *Lb. plantarum* S4 dans le lait en présence des deux souches de *Lc. lactis* (S1 et S2). L'évolution de la croissance de *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  UFC/ml) en cultures mixtes avec *Lc. lactis* S1 et *Lc. lactis* S2 a été

déterminée après 5, 12 et 18 h d'incubation à 30°C, inoculées suivant différentes combinaisons:

- A: *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml),
- B: *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml),
- C: *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml),
- D: *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml),
- E: *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml),
- F: *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml).

Quoique, *Lb. plantarum* S4 présente des colonies caractéristiques sur gélose MRS qui permet de le différencier (figure 24), le dénombrement a été effectué sur gélose MRS classique (pH 6,5) et acidifiée (pH 5,4) pour pouvoir distinguer entre cette espèce et les deux lactocoques.



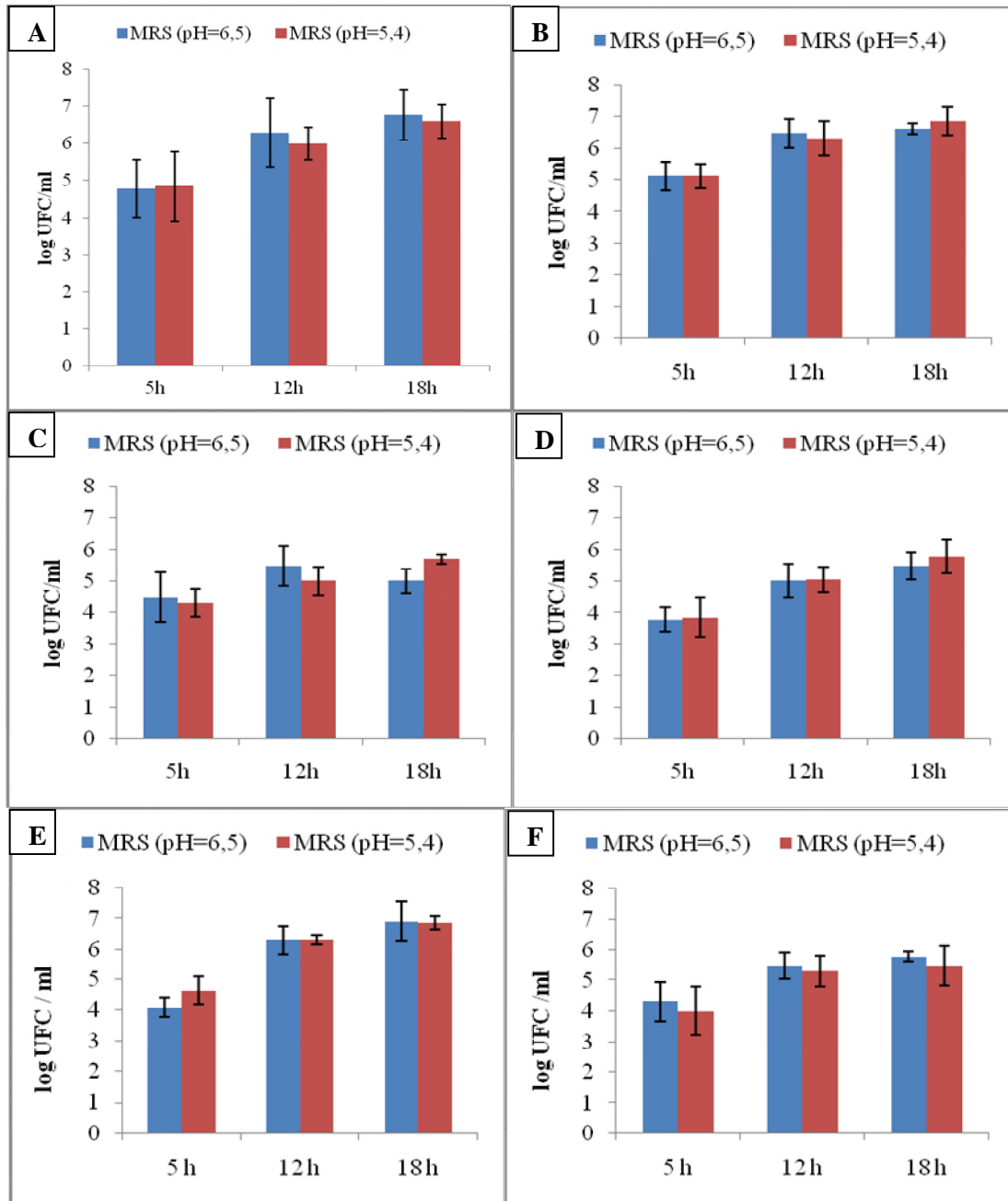
**Figure 24. Aspect des colonies de *Lb. plantarum* S4 (flèches) dans les cultures mixtes sur gélose MRS au bout de 48 h à 30°C.**

Quoique le dénombrement a été effectué sur les colonies caractéristiques de *Lb. plantarum* (figure 24), les taux déterminés sur les deux géloses n'ont pas été à 100% identiques ( $P > 0,05$ ). Vu que la gélose MRS (pH 5,4) est plus sélective des lactobacilles, les résultats issus de cette dernière ont été pris en considération dans la suite du travail.

En comparaison avec la culture pure (taux final après 18 h de  $10^7$  UFC/ml), les résultats rapportés sur la figure 25 montrent que la souche *Lb. plantarum* S4 présente une croissance plus lente en cultures mixtes. Ceci pourrait être dû à la compétition nutritionnelle du fait que les deux souches de lactocoques s'adaptent mieux au milieu lait tel que démontré plus haut (paragraphe II. 5. 1).

En testant la combinaison (A) et (B) et après 5 h d'incubation, le nombre de cellules de *Lb. plantarum* S4 enregistré était de  $6,9 \cdot 10^4$  et  $1,2 \cdot 10^5$  UFC/ml respectivement. Ces nombres ont atteint un taux de  $10^6$  et  $2 \cdot 10^6$  UFC/ml après 12 h et  $3,9 \cdot 10^6$  et  $6,8 \cdot 10^6$  UFC/ml

après 18 h d'incubation. Ces taux finaux sont inférieurs au taux enregistré en culture pure après 18 h d'incubation qui était de  $10^7$  UFC/ml avec les deux charges testées ( $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml).



**Figure 25.** Evolution du nombre de cellules de *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  UFC/ml) dans le lait UHT, inoculée avec *Lc. lactis* (S1 et S2) à intervalles de temps bien définis. (A) combinaison : *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml), (B) *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml), (C): *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml), (D): *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml), (E): S1/S2/S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml), (F): S1/S2/S4 ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml).

Après 5 h d'incubation, les combinaisons (C) et (D) ont révélé des taux de  $1,9.10^4$  et  $6,9.10^3$  UFC/ml respectivement. Ces taux ont augmenté pour enregistrer des valeurs de  $10^5$  et  $1,09.10^5$  UFC/ml après 12 h. Des taux de  $4,8.10^5$  et  $5,8.10^5$  UFC/ml ont été atteints après 18 h d'incubation. Ces taux sont également inférieurs à celui enregistré en culture pure ( $10^7$  UFC/ml).

Concernant les combinaisons tertiaires (E) et (F), des taux de  $4,2.10^4$  et  $10^4$  UFC/ml ont été enregistrés au bout de 5 h d'incubation, respectivement. Ces taux ont continué à augmenter pour atteindre après 12 h d'incubation des valeurs de  $2.10^6$  et  $1,9.10^5$  UFC/ml respectivement.

Après 18 h d'incubation, des retards dans la croissance de *Lb. plantarum* S4 (1 log, combinaison E; 2 log, combinaison F) ont été observés (figure 25) par rapport aux cultures pures ( $10^7$  UFC/ml).

### **b) Suivi de l'évolution de l'acidification**

Les résultats de ce suivi sont groupés dans le tableau XI. Il en ressort que l'association des souches en combinaisons binaires (A), (B), (C) et (D) a permis une activité acidifiante plus importante comparée à celle obtenue avec les cultures pures. Cette acidification a été traduite par une production d'acide lactique au cours de l'incubation dont les valeurs ont atteint 7,6 ; 7,5 ; 7,8 et 8 g/l après une incubation de 18 h respectivement.

De même, il apparaît que la production d'acide est accompagnée par une chute de pH dont les valeurs enregistrées après la même période d'incubation ont été de l'ordre de 4,50 ; 4,51 4,47 et 4,42 pour les combinaisons (A), (B), (C) et (D) respectivement.

En associant les trois souches lactiques dans des combinaisons tertiaires (E) et (F), et après 18 h d'incubation, les valeurs de pH ont diminué pour atteindre 4,37 et 4,31 et la quantité de l'acide lactique produite a atteint 8,8 et 9 g/l respectivement.

D'après ces résultats, on constate que l'évolution de l'acidification est plus considérable en combinaisons tertiaires qu'en cultures pures et en combinaisons binaires avec des valeurs de pH plus basses et d'acidité titrable plus élevées. Selon **Roukas et Kotzekidou (1998)**, l'abaissement du pH avec les cultures mixtes est généralement plus rapide et plus prononcé.

Les bactéries levains ou « Starter » peuvent être définies comme étant des isolats capables de produire suffisamment d'acides pour réduire le pH du lait à moins de 5,3 au bout de 6 h à 30-37°C (**Marilley et Casey, 2004**).

Bien que la souche *Lb. plantarum* S4 ait eu un pouvoir antagoniste vis-à-vis des deux souches de *Lactococcus in vitro*, le suivi de la croissance et de l'acidification du lait (*in situ*) par les cultures mixtes a révélé une chute de pH et une augmentation de l'acidité titrable plus importante comparée à celles obtenues avec les cultures pures. Ceci nous mène à penser que *Lb. plantarum* S4 n'a pas empêché la croissance de *Lc. lactis* (S1 et S2) et qu'elle n'a pas exercé son pouvoir antagoniste dans le lait. A partir de là, on peut conclure que les trois souches peuvent être associées et menées une meilleure acidification du lait.

**Tableau XI : Pouvoir acidifiant des cultures mixtes testées (pH et acidité exprimée en g d'acide lactique /l).**

Durée d'incubation combinaison	5 h		12 h		18 h	
	pH	Acidité	pH	Acidité	pH	Acidité
(A)	6,14	2,29	5,07	5	4,50	7,6
(B)	6,12	2,26	5,01	5,2	4,51	7,5
(C)	6,00	2,41	4,75	5,4	4,47	7,8
(D)	6,07	2,90	4,67	5,5	4,42	8,0
(E)	5,43	3,80	4,47	5,60	4,37	8,80
(F)	5,08	4,00	4,40	6,20	4,31	9,00

A: *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml),

B: *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml),

C: *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml),

D: *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml),

E: *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml),

F: *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml).

## II. 6. Analyse du lait cru de chèvre

Le lait utilisé est un lait de mélange frais provenant de la région d'Akbou (W. Béjaia). Ce lait est destiné à la fabrication de fromages. Afin de vérifier l'adéquation de ce lait à la fabrication fromagère des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été effectuées.

### II. 6. 1. Paramètres physico-chimiques (pH, acidité et densité)

La valeur moyenne du pH du lait cru de chèvre analysé, a été égale à  $6,63 \pm 0,41$ . En général, le pH d'un lait de chèvre normal varie entre 6,5 et 6,8 (F.A.O., 1990). L'acidité titrable lors de l'analyse du lait est généralement exprimée en degré Dornic ( $^{\circ}$ D), au moment de la traite, elle varie de 12 à 14 $^{\circ}$ D. Cette acidité naturelle est fonction du stade de lactation,



elle est liée à la teneur en caséines, sels minéraux et en ions. En fin de lactation, l'acidité liée à la richesse du lait en caséines est de 16° à 18°D (**Le Mens, 1985**).

Le lait analysé est donc un lait normal car il présente un pH de  $6,63 \pm 0,41$  et une acidité Dornic de 17°D (1,7 g/l).

Selon la **F.A.O. (1990)**, la densité d'un lait de chèvre varie de 1,027 à 1,035. La valeur enregistrée pour le lait de chèvre analysé est de 1,031, par conséquent ce lait est de bonne qualité (n'a pas subi de mouillage et il est riche en extrait sec) ce qui le rend adéquat pour une production fromagère. Toutefois, pour confirmer ces suppositions une analyse de sa composition chimique a été effectuée.

### **II. 6. 2. Composition chimique**

Les résultats de la détermination de la composition chimique du lait cru de chèvre sont mentionnés dans le tableau XII.

**Tableau XII. Composition chimique du lait cru de chèvre (%)**

<b>Paramètres</b>	<b>Taux (%)</b>
<b>Extrait sec total</b>	13,79
<b>Extrait sec dégraissé</b>	09,48
<b>Matière grasse</b>	04,52
<b>Protéines</b>	03,59
<b>Caséines</b>	02,83
<b>Lactose</b>	04,46
<b>Minéraux</b>	00,70

Les concentrations obtenues des différents éléments du lait de chèvre destiné à la fabrication fromagère dans ce travail, en utilisant le « Milkoscan FT2-FOSS » sont très proches de celles rapportées par **Kondyli et al. (2012)** qui ont utilisé un appareil « Milkoscan FT-6000 » pour la détermination de la composition du lait. En revanche, elles sont plus élevées que celles obtenues dans d'autres études (**Seifu et al., 2004 ; Attaie, 2005**). Ces différences pourraient s'expliquer par l'utilisation de méthodes de dosage classiques pour l'analyse du lait à la place d'un appareil automatique. D'autre part, **Zeng et al. (1999)** et **Guo et al. (2001)** ont rapporté que les teneurs les plus faibles en matière sèche, matière grasse et en protéines sont enregistrées en été quand la production laitière est abondante tandis que les teneurs les plus élevées sont rapportées en hiver, moment où les chèvres sont en fin de lactation, produisant de faibles quantités de lait.

### II. 6. 3. Qualité hygiénique

#### II. 6. 3. 1. Test de la réductase

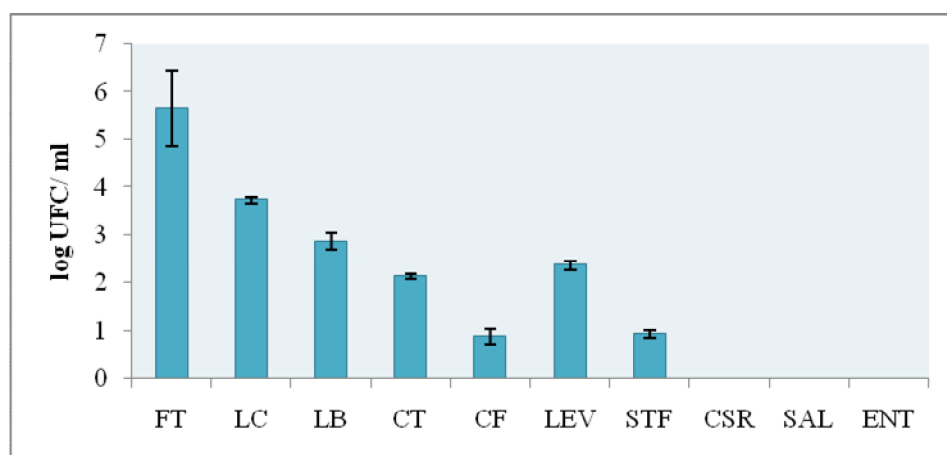
Après 3 h d'incubation du lait de chèvre testé, on a constaté que le bleu de méthylène n'est pas réduit (pas de décoloration). Cette observation est enregistrée même après 5 h d'incubation. En comparant ce résultat aux données citées dans le tableau XIII, on déduit que le lait de chèvre est de bonne qualité microbiologique du fait que le temps de réduction du bleu de méthylène est supérieur à 3 h.

**Tableau XIII. Classement des laits en fonction du test de la réductase (Guiraud, 1998).**

Temps de réduction	Appréciation
$t < 1 \text{ h } 30$	Lait contaminé
$1 \text{ h } 30 < t < 3 \text{ h}$	Lait peu contaminé
$t > 3 \text{ h}$	Lait de bonne qualité

#### II. 6. 3. 2. Analyse microbiologique du lait cru de chèvre

Les analyses microbiologiques du lait cru consistent en le dénombrement de la flore totale, des coliformes fécaux, des *Clostridium* sulfito-réducteurs et la recherche de *Staphylococcus aureus* et des entérocoques (J.O.R.A., 1998), néanmoins pour une meilleure appréciation de la qualité microbiologique du lait de chèvre collecté, une analyse plus complète a été réalisée (figure 26).



**Figure 26. Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre** (FT : flore totale ; LC : lactocoques ; LB : lactobacilles mésophiles ; CT : coliformes totaux ; CF : coliformes fécaux ; LEV : levures ; STF : staphylocoques ; CRS : *Clostridium* sulfito-réducteurs ; SAL : salmonelles ; ENT : entérocoques).

Cette analyse consistait en le dénombrement, en plus de la flore totale (FT) et des coliformes (totaux : CT et fécaux : CF), de la flore lactique (lactocoques : LC et lactobacilles : LB), des levures et moisissures (LEV), des clostridium sulfite-réducteurs (CSR) et des entérocoques (ENT) ainsi qu'en la recherche des bactéries pathogènes, à savoir les salmonelles (SAL) et les staphylocoques (STF).

La flore totale aérobie mésophile nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru. C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques et sa présence est bénéfique pour la fermentation spontanée du lait cru. Le lait, cru, analysé dans cette étude présente un taux en FT de  $4,5 \cdot 10^5$  UFC/ml. Ces résultats sont très proches de ceux ( $2,5 \cdot 10^5$  UFC/ml) rapportés par **El Azzi et Bassal (2005)**.

Les bactéries lactiques sont une flore naturelle des canaux galactophores mais peuvent également être hébergées à la surface des mamelles (**Michel et al., 2001**). D'après les résultats (figure 26), les échantillons de lait collecté montrent une charge assez importante en flore lactique :  $5,2 \cdot 10^3$  UFC/ml de lactocoques et  $7,2 \cdot 10^2$  UFC/ml de lactobacilles. Ce n'est pas surprenant vu que les bactéries lactiques constituent le groupe majoritaire dans le lait (**Pesic-Mikulec, 2005**).

On constate la présence de staphylocoques à raison de 8 UFC/ml, pouvant être assignés à l'espèce *S. aureus* en se basant sur leur aspect sur gélose Chapman (colonies jaunes). Etant une bactérie saprophyte naturelle des mamelles et des trayons, sa présence dans le lait paraît quasi inévitable (**Fatet, 2004**).

On note également l'absence de moisissures et la présence de levures ( $3 \cdot 10^2$  UFC/ml), ceci n'est pas étonnant étant donné leur grande capacité d'adaptation à de nombreux substrats et le fait qu'elles soient très largement répandues dans l'environnement (**Hermier et al., 1992**). Le lait analysé présente un taux faible en coliformes totaux ( $1,34 \cdot 10^2$  UFC/ml) et en coliformes fécaux (7 UFC/ml). Ces derniers d'origine intestinale et donc fécale, se retrouvent sur toute surface souillée ou ayant été en contact avec les excréments : muqueuses, peau, matériel puis le lait.

En se référant aux normes Algériennes tirées de l'arrêté interministériel publié dans le J.O.R.A (Journal Officiel de la République Algérienne) n° 35 du 27 Mai 1998 / Aoul Safar 1419, le lait analysé n'est pas de bonne qualité microbiologique (Tableau XIV). En effet, sa teneur en flore totale et la présence de staphylocoques, pouvant être assignés à l'espèce *S. aureus*, témoignent d'une mauvaise qualité hygiénique.

L'absence de la décoloration du bleu de méthylène malgré la charge microbienne importante du lait (flore totale =  $4,5 \cdot 10^5$  UFC/ml) pourrait s'expliquer selon **Guiraud et Galzy (1980)** par l'incapacité de la flore présente dans le lait à réduire le bleu de méthylène (réductase négative).

Vu que ce lait est destiné à la fabrication de fromages, sa qualité microbiologique ne permet pas son utilisation en l'état et une pasteurisation s'impose pour réduire la flore totale et éliminer les staphylocoques.

**Tableau XIV: Comparaison des résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre aux critères microbiologiques du J.O.R.A (1998)**

Critères microbiologiques du lait cru		Résultats obtenus (UFC/ml)
Groupes bactériens	M (UFC/ml)	
-Flore totale aérobies à 30°C	$10^5$	$4,5 \cdot 10^5$
-Coliformes fécaux	$10^3$	7
-Entérocoques	Absence /0,1ml	Absence
-Clostridium sulfito-réducteurs à 46 °C	50	Absence
- <i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	8

## II. 7. Pasteurisation du lait de chèvre

Un barème de pasteurisation modéré (65°C/30min) a été choisi dans cette étude. Ce type de pasteurisation connu sous le nom de pasteurisation à basse température a été d'un usage général pendant de nombreuses années (**F.A.O., 1995**).

Ce genre de pasteurisation se caractérise par rapport à la pasteurisation à haute température par quelques avantages. La pasteurisation basse ne détruit pas les substances contenues naturellement dans le lait qui aident à freiner la croissance des microorganismes contaminants alors que la pasteurisation haute les détruit. Avec la pasteurisation à haute température la coagulation est moins rapide. En effet, il se produit une dissociation et une précipitation des protéines du lactosérum ainsi et surtout une précipitation des sels. Il ne faut pas perdre de vue que les sels ont une influence énorme sur la coagulation de la caséine (**F.A.O., 1995**).

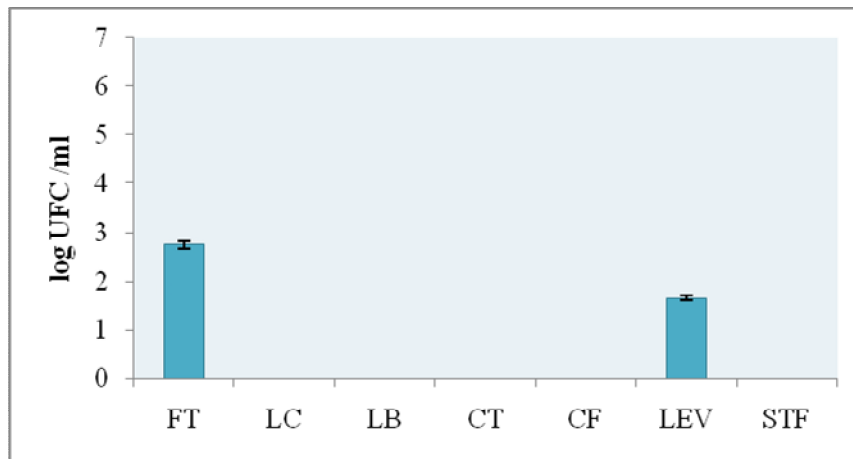
### II. 7. 1. Effet de la pasteurisation sur la flore microbienne

La pasteurisation du lait destiné à la fabrication fromagère assure une uniformité du produit et améliore l'état sanitaire des fromages fabriqués, mais elle élimine une partie de la

flore indigène du lait qui est partiellement responsable du développement de la saveur typique des fromages (Poveda *et al.*, 2003).

Suite à la pasteurisation, l'ensemble des résultats de l'analyse microbiologique (figure 27) montre que le barème appliqué (65°C/30min) a permis une élimination totale de la flore lactique (LB et LC), des coliformes (CT et CF) et des staphylocoques. Par contre, le taux de la flore totale a été réduit à  $5,01.10^2$  UFC/ml (soit 3 réductions décimales) et celui des levures à 45 UFC/ml (soit une seule réduction décimale).

Un taux de flore totale de  $3,8.10^3$  UFC/ ml et un nombre de lactocoques et de lactobacilles  $< 10$  UFC /ml sont rapportés par Poveda *et al.* (2003) en appliquant le même barème de pasteurisation (65°C/30min).



**Figure 27. Résultats de l'analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé** (FT : flore totale ; LC : lactocoques ; LB : lactobacilles ; CT : coliformes totaux ; CF : coliformes fécaux ; LEV : levures ; STF : staphylocoques).

D'après les normes algériennes tirées de l'arrêté interministériel publié dans le J.O.R.A (Journal Officiel de la République Algérienne) du 27 Mai 1998 (tableau XV) le lait de chèvre pasteurisé est conforme.

**Tableau XV: Comparaison des résultats de l'analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé aux critères microbiologiques du J.O.R.A (1998)**

Critères microbiologiques du lait pasteurisé		Résultats obtenus (UFC/ml)
Groupes bactériens	M (UFC/ml)	
-Flore totale aérobie à 30°C	$3.10^4$	$5,01.10^2$
-Coliformes	1	Absence
- Coliformes fécaux	Absence	Absence
- <i>Staphylococcus aureus</i>	1	Absence

### II. 7. 2. Effet de la pasteurisation sur la composition chimique du lait de chèvre

Les résultats de la détermination de la composition chimique du lait de chèvre après pasteurisation (65°C/30 min) sont illustrés dans le tableau XVI. Une légère diminution (non significative  $P > 0,05$ ) des taux des différents éléments (matière grasse, protéines,...) a été enregistrée. Quant à la densité elle est restée inchangée (1,031).

**Tableau XVI: Composition chimique (%) du lait de chèvre après pasteurisation (65°C/30 min).**

Paramètres	Taux (%)
Extrait sec total	13,12
Extrait sec dégraissé	09,02
Matière grasse	04,32
Protéines	03,10
Caséines	02,78
Lactose	04,40
Minéraux	00,69

En général, la pasteurisation entraîne peu de modifications de la composition chimique du lait. Les matières grasses et le lactose ne sont pas modifiés par la pasteurisation. Il en est de même pour la caséine. Quelques fois la pasteurisation peut avoir quelques désavantages défavorables aux fabrications fromagères. Les protéines de lactosérum sont dénaturées à des températures dépassant 60°C. Une fois dénaturées, elles se co-précipitent avec les caséines. Ce phénomène rend l'égouttage difficile et peut être à l'origine, lors de la maturation, de saveurs défectueuses. Egalement, il peut y avoir une rupture de l'équilibre phosphocalcique du lait se traduisant par un appauvrissement en sels de calcium solubles qui provoque des difficultés de coagulation (C.I.P.E.A., 1987).

### II. 7. 3. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé

Le suivi de la croissance ainsi que de l'évolution de l'acidification des souches lactiques en cultures pures ou mixtes dans le lait de chèvre pasteurisé a abouti aux mêmes résultats obtenus dans le lait UHT (figures 1, 2 et 3, tableau I, annexe 6). Ceci nous laisse conclure que la flore totale résiduelle après pasteurisation n'a pas influencé la croissance des souches lactiques étudiées.

## **II. 8. Suivi de la qualité du fromage de chèvre au cours de la phase d'affinage et de la conservation dans l'huile d'olive**

Du fromage de chèvre frais a été fabriqué puis soit affiné pendant 7 jours à 12°C puis conservé dans de l'huile d'olive (vierge et vierge extra) ou immédiatement conservé dans la même huile durant 7 jours.

### **II. 8. 1. Fabrication de fromages de chèvre**

En se basant sur la comparaison des résultats obtenus avec les différentes combinaisons lactiques testées auparavant (activité antibactérienne, activité protéolytique et lipolytique et croissance dans le lait de chèvre pasteurisé), nous pouvons déduire que les deux combinaisons: E (*Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 [ $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml]) et F (*Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 [ $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml]) sont celles présentant les meilleurs propriétés technologiques et antibactériennes. Ces deux combinaisons (E et F) ont montré une forte activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries pathogènes (30 et 32 mm respectivement) et une bonne activité protéolytique (29 mm [30°C], 16 mm [12°C] et 30 mm [30°C], 22 mm [12°C] respectivement). De même que pour l'activité acidifiante du lait: combinaison E (pH=4,35 et 8,81 g d'acide lactique/l) et combinaison F (pH=4,30 et 9,20 g d'acide lactique/l).

Quoique l'étude des interactions entre les souches lactiques ait révélé que la souche de *Lb. plantarum* S4 exerce une activité contre les deux souches de *Lactococcus* (test des spots), le suivi de leur croissance en association dans le lait a révélé que ces souches pouvaient cohabiter en permettant une bonne acidification du lait.

D'un point de vue économique, il est préférable d'utiliser un faible taux en ferments lactiques mais qui donne une bonne coagulation et un bon rendement fromager, pour cela, on a opté à choisir la combinaison E : *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml) pour la fabrication de nos fromages.

Dans le but de mettre en évidence l'implication de la souche *Lb. plantarum* S4 dans l'affinage et l'effet de ce dernier quand il est assuré à 12°C ainsi que l'effet de la conservation dans de l'huile d'olive, huit types de fromages ont été fabriqués :

- Quatre fromages avec l'association *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2 ( $10^3/10^3$  UFC/ml) sans addition de la souche *Lb. plantarum* S4:
  - o Deux affinés à 12°C puis conservés pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge et vierge extra.

- Deux autres conservés directement pendant 7 jours dans l'huile d'olives vierge et vierge extra.
- Quatre fromages avec l'association *Lc. lactis* S1/*Lc. lactis* S2 ( $10^3/10^3$  UFC/ml) avec addition de la souche de *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  UFC/ml):
  - Deux fromages affinés à 12°C puis conservés pendant 7 jours supplémentaires dans de l'huile d'olive vierge et vierge extra,
  - Deux fromages conservés directement pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge et vierge extra.

Le coagulum est obtenu par une coagulation mixte : la coagulation dite lactique et celle engendrée par l'action de la présure. Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait. L'égouttage a été spontané et a permis l'élimination de la plus grande partie du lactosérum qui imprègne le coagulum. Nous avons obtenu des fromages en forme de cylindre plat, d'un diamètre de 8 cm, une épaisseur d'environ 3 cm et d'un poids net moyen de  $108,9 \pm 8$  g tel qu'illustré sur la figure 9 (page 46).

Tous les types de fromages fabriqués avaient le même aspect extérieur : pâte homogène, onctueuse et blanchâtre. Aucune différence macroscopique n'a été remarquée entre les fromages préparés en présence ou en absence de *Lb. plantarum* S4.

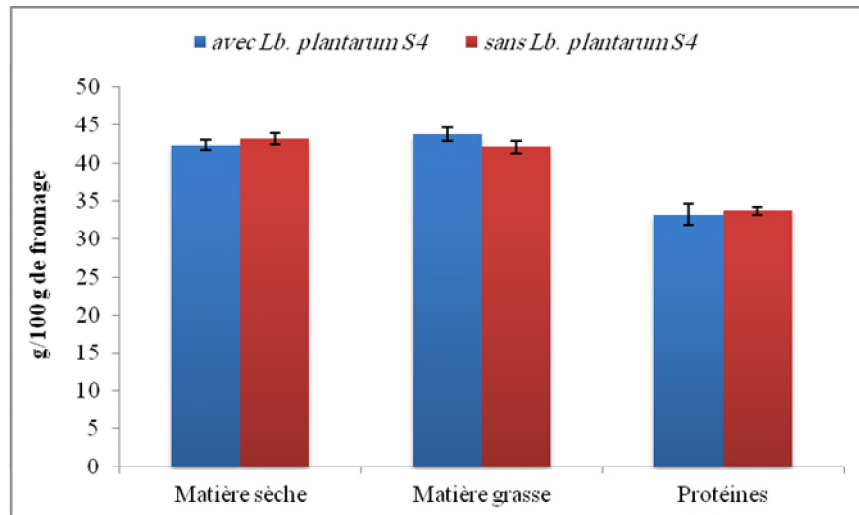
### **II. 8. 2. Analyse des fromages frais**

Juste après démoulage, des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées sur les fromages frais. Cela est nécessaire afin de connaître leur composition chimique et d'estimer le taux initial des flores microbiennes, présentes au stade de la fabrication, avant de procéder à leur affinage et leur conservation dans l'huile d'olive.

Le pH moyen des fromages fabriqués additionnés ou non de la souche *Lb. plantarum* S4 a été de l'ordre de 4,9. Cette valeur est plus élevée que celle rapportée par **Kouniba et al. (2007)** concernant le « Jben » marocain (4,14). Cette valeur enregistrée est élevée malgré le mode de coagulation qui est à prédominance lactique. Ceci pourrait s'expliquer par le fort pouvoir tampon du lait utilisé qui empêche la diminution du pH vu la richesse de sa composition. Quant à l'acidité titrable, celle-ci a été en moyenne de 68,9°D.

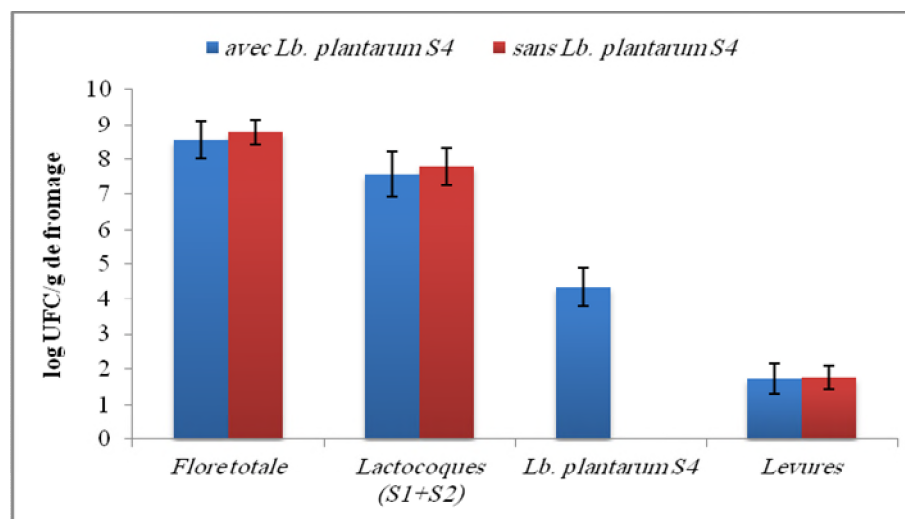
De plus, les fromages fabriqués en incluant ou non *Lb. plantarum* S4 ont une composition comparable ( $P > 0,05$ ). La teneur moyenne des fromages en matière sèche a été de 42 g/100 g et les teneurs en matière grasse et en protéines ont été de 43 g/100 g et de 33 g/100 g respectivement (figure 28).





**Figure 28. Teneurs en matière sèche, matière grasse et en protéines des fromages frais fabriqués.**

L'analyse microbiologique des fromages frais (figure 29) a révélé une charge moyenne en flore totale de  $10^8$  UFC/g et de  $10^7$  UFC/g en lactocoques. La charge moyenne de *Lb. plantarum S4* dans les fromages additionnés de ce dernier a été de  $2,13 \cdot 10^4$  UFC/g tandis que les levures ont montré une charge de 53 UFC/g. Une absence totale des coliformes (totaux et fécaux) et des staphylocoques a été enregistrée.



**Figure 29. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais fabriqués.**

### II. 8. 3. Suivi de la qualité des fromages pendant la période d'affinage

Au bout de 7 jours du début d'affinage, les fromages ont gardé leur aspect extérieur de départ, avec une certaine fermeté comparés aux fromages frais (avant affinage). Aucun changement indésirable n'a été enregistré. Par contre, à partir du 8<sup>ème</sup> jour, on a enregistré

l'apparition de moisissures sur la surface des fromages ce que nous a poussé à arrêter l'affinage.

### **II. 8. 3. 1. Analyses physico-chimiques**

- **pH et acidité titrable**

Une diminution modérée du pH a été observée, pendant les 7 jours d'entreposage à 12°C, passant de 4,8 au premier jour à une valeur de 4,5 au 7<sup>ème</sup> jour. Quant à l'acidité, une augmentation progressive pendant toute la période d'entreposage a été constatée. Au premier jour, l'acidité des fromages était de 70°D, cette valeur a augmenté pour atteindre 77,8°D au 7<sup>ème</sup> jour.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus lors des travaux de **Herreros et al. (2007)** menés sur le fromage « Armada » au lait de chèvre pasteurisé fabriqué en présence d'une souche de *Lb. plantarum*, dont le pH a passé de 4,87 au premier jour pour atteindre une valeur de 4,5 au 7<sup>ème</sup> jour d'entreposage.

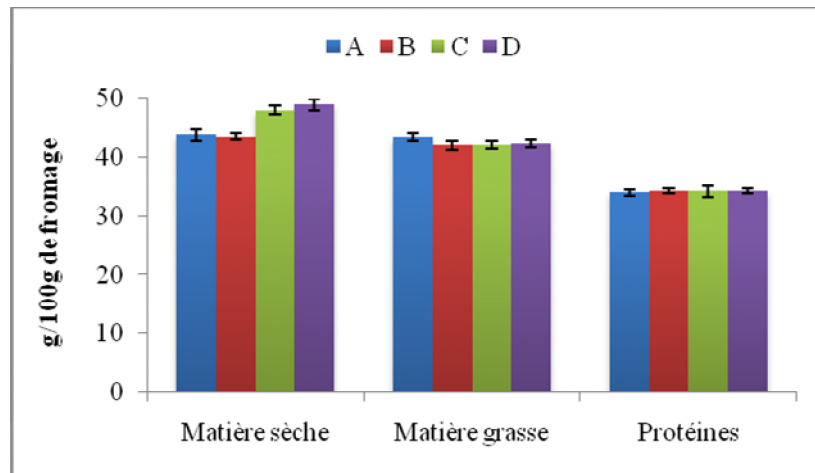
L'augmentation de l'acidité couplée à la diminution du pH serait liée à la forte production d'acide lactique à partir du lactose résiduel fermenté par la flore microbienne des fromages: l'ensemble des bactéries lactiques inoculées et celle du lait pasteurisé (flore résiduelle).

- **Teneur en matière sèche, matière grasse et en protéines**

L'évolution de la composition chimique des fromages au cours de l'entreposage est présentée dans la figure 30. L'examen de ces résultats ne montre pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les fromages fabriqués en présence de *Lb. plantarum* S4 et ceux fabriqués en son absence.

Le taux de la matière sèche a augmenté d'une manière progressive pour atteindre une valeur moyenne de 48,50 g/100g de fromage. Ce taux s'est avéré inférieur à celui observé dans le fromage espagnol « Manchego » (65 g/100g) affiné pendant 30 jours (**Cabezas et al., 2005**). Ceci serait lié à la perte progressive d'eau due à son évaporation et qui serait facilitée par la faible taille de nos fromages ce qui augmenterait considérablement les échanges avec l'atmosphère. Cette constatation est en concordance avec les observations relatives à la fermeté des fromages affinés par rapport aux fromages frais.

Les teneurs en matière grasse et en protéines n'ont pas changé durant l'entreposage avec des valeurs finales de 42 et 34 g/100 g respectivement.



**Figure 30. Evolution des teneurs en matière sèche, matière grasse et en protéines des fromages durant la période d'entreposage à 12°C (1<sup>er</sup> ■ et 7<sup>ème</sup> jour ■ d'entreposage des fromages fabriqués en incluant *Lb. plantarum* S4; 1<sup>er</sup> ■ et 7<sup>ème</sup> jour ■ d'entreposage des fromages fabriqués en absence de *Lb. plantarum* S4).**

### II. 8. 3. 2. Analyses microbiologiques

Les résultats du dénombrement des grands groupes microbiens (flore totale, lactocoques, lactobacilles et levures) présents dans les fromages (figures 31 et 32) montrent que globalement il n'y a pas de différences sensibles ( $P > 0,05$ ) dans l'évolution de ces populations dans les fromages fabriqués en présence ou en absence de la souche *Lb. plantarum* S4 à l'exception des lactobacilles.

Le dénombrement de la flore totale a montré un taux de  $10^9$  UFC/g au premier jour d'affinage, un taux demeurant stable jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour. Ce même taux a été observé par **Buffa et al. (2004)** au premier jour d'affinage d'un fromage de chèvre à coagulation mixte fabriqué au lait pasteurisé.

Au premier jour d'affinage, le nombre de lactocoques (*Lc. lactis* S1, *Lc. lactis* S2) a atteint une valeur de  $10^9$  UFC/g. Cette charge a été maintenue constante jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour.

Ce taux reflète la prédominance des lactocoques au cours des premiers 7 jours d'entreposage de nos fromages. D'autres études menées sur les fromages ont rapporté également la prédominance des lactocoques pendant les premiers stades de la maturation (**Proveda et al., 2003**). En général, les bactéries lactiques levains sont présentes à des taux de  $10^8$  à  $10^9$  UFC/g dans la plupart des variétés de fromages mais ces charges diminuent au cours de la maturation (à long terme) en raison de leur autolyse (**Beresford et al., 2001**).

Il est à signaler également que même à 12°C, le taux enregistré en lactocoques (*Lc. lactis* S1, *Lc. lactis* S2) a été élevé. Quoique la croissance à 10°C est une des caractéristiques des lactocoques, ce taux enregistré ( $10^9$  UFC/g) nous conduit à déduire que les souches utilisées (S1 et S2) sont capables de se développer rapidement à basse température.

Au premier jour d'entreposage, le taux de *Lb. plantarum* S4 (le seul lactobacille présent après l'élimination de tous les lactobacilles du lait cru par la pasteurisation) était de  $10^6$  UFC/g. Ce taux qui était relativement bas, a connu une augmentation progressive après le 3<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour d'affinage pour atteindre des valeurs de  $10^7$  et  $10^8$  UFC/g respectivement.

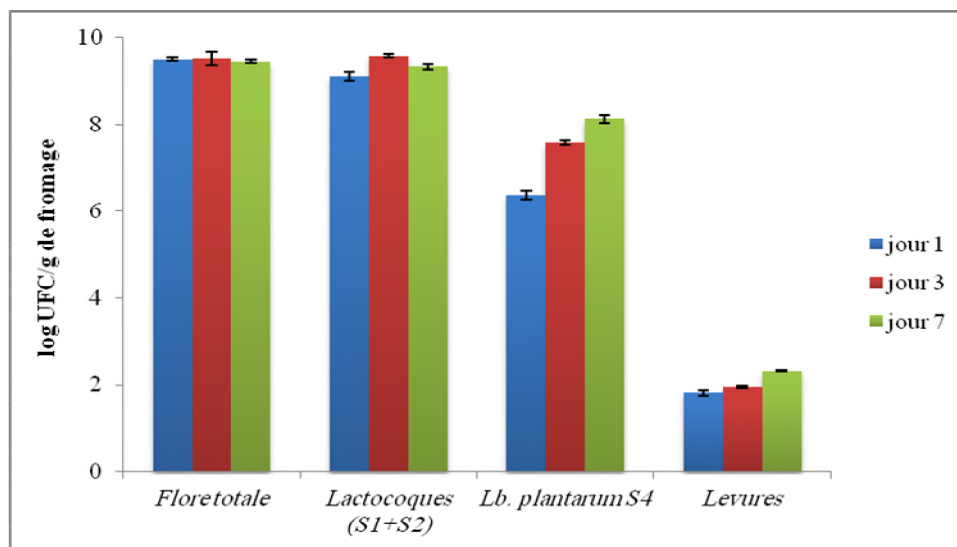


Figure 31. Evolution des différentes flores microbiennes des fromages fabriqués en incluant *Lb. plantarum* S4 durant les 7 premiers jours d'entreposage (12°C).

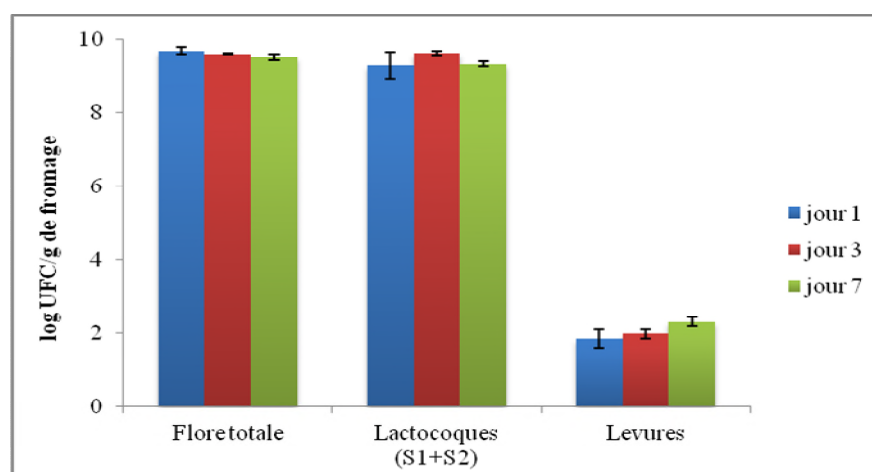


Figure 32. Evolution des différentes flores microbiennes dans les fromages fabriqués en absence de *Lb. plantarum* S4 durant les 7 premiers jours d'entreposage (12°C).

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Herreros et al. (2007)** concernant le fromage « Armada », affiné à 11°C et inoculé avec  $10^6$  UFC/ml d'une souche de *Lb. plantarum*, dans lequel un taux de  $10^8$  UFC/g a été atteint au bout de 7 jours d'affinage et qui demeura constant jusqu'au 15<sup>ème</sup> jour. Ils rejoignent également ceux de **Poveda et al. (2003)** relatifs au fromage « Manchego », affiné à 12°C, dans lequel une souche de *Lb. plantarum* fût ajoutée comme une culture non levain ( $2,7.10^6$  UFC/ml) et dont le taux a pu atteindre  $10^8$  UFC/g après 15 jours.

Selon **Tzanetakis et Hatzikamari (1994)**, la flore lactique dominante dans le fromage de chèvre « Feta », après 4 jours d'affinage, est composée de souches de *Leuconostoc*, *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* ; tandis qu'à la fin de la phase d'affinage (120 jours) cette flore est composée principalement de lactobacilles où *Lb. plantarum* s'avère être l'espèce prédominante.

Les bactéries lactiques non levains atteignent généralement des taux de  $10^7$  et  $10^8$  UFC/g au cours de la maturation de plusieurs fromages où les lactobacilles dominent généralement cette flore (**Fox et al., 1993**).

Plusieurs variétés de fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé ont été trouvées être dominées par *Lb. plantarum*, c'est le cas du « Feta » dans lequel cette espèce représentait 47,8% des lactobacilles, le « Teleme » (65,8%) et le « Tenerife » (56,9%) (**Corsetti et Valmorri, 2011**). Selon ces mêmes auteurs, la vitesse de croissance et la charge finale de *Lb. plantarum* dans les fromages est affectée par le pH, la concentration en sel, l'humidité du caillé et par la température d'affinage.

Le nombre de levures est passé de 65 UFC/g au premier jour d'entreposage à  $2,05.10^2$  UFC/g au 7<sup>ème</sup> jour. Le pH bas, le taux d'humidité, la basse température sont autant de facteurs favorisant le développement des levures.

En effet, les levures ont été retrouvées dans plusieurs variétés de fromages. Elles peuvent avoir un rôle important dans la protéolyse, la lipolyse et la désacidification de la masse fromagère. Selon une étude menée par **Tzanetakis et al. (1996)** sur le fromage de chèvre « Feta », les levures prédominantes après 4 jours d'affinage étaient *Saccharomyces cerevisiae* et *Debaryomyces hansenii*.

Suite à leur élimination par la pasteurisation, aucun coliforme ni staphylocoque n'a été également détecté durant toute la période d'affinage. Cela indique l'état de propreté de

l'ambiance environnante lors de la fabrication, et implique les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) et de fabrication (BPF) de ces fromages.

#### **II. 8. 4. Conservation des fromages dans l'huile d'olive**

Les fromages préalablement entreposés à 12°C pendant 7 jours ont été par la suite conservés dans de l'huile d'olive durant 7 jours supplémentaires. D'autres fromages ont été conservés directement dans l'huile d'olive pendant 7 jours. La conservation a été réalisée dans des bocaux en verre (figure 10, page 47), à température ambiante et à l'abri de la lumière. A la fin de la période de conservation, aucun développement de moisissures ou de changements d'aspect macroscopique n'a été remarqué.

##### **II. 8. 4. 1. Caractérisation physico-chimique**

Les paramètres physico-chimiques des fromages entreposée pendant 7 jours (12°C) puis conservés pendant 7 jours supplémentaires dans de l'huile d'olive et ceux ayant subi une conservation directe dans de l'huile d'olive pendant 7 jours, sont mentionnés dans le tableau XVII.

En comparant les résultats obtenus (tableau XVII), on note clairement qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) dans l'évolution des différents paramètres physico-chimiques dans ces fromages. Ceci est remarqué que ce soit en présence ou en absence de *Lb. plantarum* S4.

A partir de là, on peut conclure que l'entreposage préalable ou concomitant à la conservation dans de l'huile d'olive n'a pas d'influence significative sur les différents paramètres physico-chimiques.

Après 7 jours de conservation dans l'huile d'olive pour les fromages entreposés pendant 7 jours à 12°C, le pH a continué de baisser progressivement pour atteindre une valeur de 4,3. De même pour l'acidité qui a atteint une valeur de 82°D. Ceci pourrait être dû à l'action continue de la flore microbienne (lactocoques et levures) sur le lactose résiduel qui génère de l'acide lactique ou d'autres acides.

Malgré la conservation dans l'huile d'olive qui est censée influencer les échanges entre la pâte fromagère et l'air extérieur favorisant la perte progressive d'eau, le taux de la matière sèche a augmenté après la conservation pour atteindre une valeur de 54%. Ceci pourrait être la conséquence d'une diffusion de l'huile d'olive dans la masse fromagère.

Quoique les valeurs de la matière grasse et celles des protéines enregistrées au terme des 7 jours d'entreposage aient été maintenues constantes après la conservation dans l'huile d'olive.

**Tableau XVII : Evolution des paramètres physico-chimiques du fromage au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive.**

Paramètres	7 jours de conservation dans l'huile d'olive (T° ambiante)	7 jours d'entreposage (12°C) + 7 jours de conservation dans l'huile d'olive (T° ambiante)
<b>pH</b>		
-S4	4,47 ± 0,56	4,30 ± 1,03
+S4	4,51 ± 0,05	4,38 ± 0,16
<b>Acidité titrable (°D)</b>		
-S4	77,00 ± 0,03	82,00 ± 0,08
+S4	78,00 ± 0,23	82,50 ± 0,56
<b>Matière sèche (g/100g)</b>		
-S4	46,45 ± 0,32	53,20 ± 0,13
+S4	46,18 ± 0,29	54,67 ± 0,39
<b>Matière grasse (g/100g)</b>		
-S4	42,83 ± 0,06	43,12 ± 0,05
+S4	42,30 ± 1,23	42,14 ± 0,10
<b>Protéines (g/100g)</b>		
-S4	34,83 ± 0,98	34,09 ± 1,86
+S4	34,25 ± 1,75	34,54 ± 1,17
-S4 : En absence de <i>Lb. plantarum</i> S4      +S4 : En présence de <i>Lb. plantarum</i> S4		

#### II. 8. 4. 2. Caractérisation microbiologique

Le tableau XVIII rassemble les résultats du suivi du développement des différentes flores microbiennes des fromages conservés dans l'huile d'olive.

Les fromages conservés directement dans l'huile d'olive pendant 7 jours ont été marqués par un taux de flore totale et de lactocoques de  $10^9$  UFC/g. Il correspond au même taux enregistré dans les fromages entreposés pendant 7 jours à 12°C. On peut déduire que la conservation dans l'huile d'olive n'a pas eu d'effet sur le développement de ces deux flores.

En revanche, le taux de *Lb. plantarum* S4 et des levures était plus élevé après conservation dans l'huile d'olive comparé aux taux enregistrés dans les fromages entreposés pendant 7 jours à 12°C. Des valeurs de  $10^9$  UFC/g et de  $10^3$  UFC/g ont été enregistrées respectivement. Les conditions d'anaérobiose créées par l'huile d'olive n'ont pas freiné le développement de *Lb. plantarum* S4 et des levures qui ont continué à se développer.

D'après **Keceli et al. (1999)** et **Dib et al. (2012)**, aucune bactérie lactique n'a pu être isolée du fromage caprin traditionnel « Labneh Anbaris » conservé pendant 3 mois à 25°C dans de l'huile d'olive. La différence constatée entre les résultats rapportés par ces deux auteurs et les nôtres pourraient être liée à la différence dans la durée de conservation qui est environ 13 fois plus longue (90 jours) que celle appliquée dans cette étude (7 jours).

On remarque également l'absence de développement de coliformes et de staphylocoques qui étaient à l'origine absents dans le fromage frais.

**Tableau XVIII: Evolution des différentes flores microbiennes des fromages au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive (log UFC/g de fromage)**

Flore	7 jours de conservation dans l'huile d'olive (T° ambiante)	7 jours d'entreposage (12°C) + 7 jours de conservation dans l'huile d'olive (T° ambiante)
<b>Flore totale</b>		
-S4	9,47±0,07	9,40±0,03
+S4	9,21±0,13	9,34±0,21
<b>Lactocoques</b>		
-S4	9,43±0,12	8,40±0,16
+S4	9,35±0,24	8,17±0,27
<b><i>Lb. plantarum</i></b>		
-S4	0,00±0,00	0,00±0,00
+S4	9,59±0,44	8,35±0,18
<b>Levures</b>		
-S4	3,36±0,05	3,32±0,23
+S4	3,85±0,02	2,96±0,13
<b>Coliformes totaux</b>		
-S4	0,00±0,00	0,00±0,00
+S4	0,00±0,00	0,00±0,00
<b>Coliformes fécaux</b>		
-S4	0,00±0,00	0,00±0,00
+S4	0,00±0,00	0,00±0,00
<b>Staphylocoques</b>		
-S4	0,00±0,00	0,00±0,00
+S4	0,00±0,00	0,00±0,00

-S4 : En absence de *Lb. plantarum* S4      +S4 : En présence de *Lb. plantarum* S4

Concernant les fromages entreposés pendant 7 jours à 12°C puis conservés dans l'huile d'olive pour 7 jours supplémentaires, le taux de la flore totale (10<sup>9</sup> UFC/g) ainsi que celui de *Lb. plantarum* S4 sont restés inchangés après 7 jours de conservation. Ceci nous



mène une autre fois à conclure que l'huile d'olive n'influence pas le développement de ces deux flores.

Le nombre de lactocoques a connu une diminution d'un log ( $10^8$  UFC/g). Ceci serait dû à leur lyse dans la pâte fromagère. La diminution du nombre de lactocoques est un phénomène qui a été observé et décrit par de nombreux auteurs (**Martley et Crow, 1993; Menendez et al., 2001 ; Proveda et al., 2003**). Après la lyse des lactocoques, des enzymes intracellulaires sont libérées et peuvent ainsi intervenir par leur activité protéolytique et lipolytique dans la maturation de la pâte fromagère (**Lortal et Chapot-Chartier, 2005**). De même, le taux de levures a connu une augmentation d'un log ( $10^3$  UFC/g) favorisée par les conditions d'anaérobiose.

## **II. 10. Analyse sensorielle**

### **II. 10. 1. Contexte général**

En industrie fromagère, la qualité des fromages est largement déterminée par la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (**Edima, 2007**). L'analyse sensorielle se divise en deux catégories : l'analyse sensorielle faite par un jury expert et l'analyse hédonique réalisée par un jury naïf. C'est cette dernière qui a été exploitée dans cette étude afin d'analyser nos fromages.

Les caractéristiques sensorielles d'un fromage sont influencées par la composition du lait (richesse en protéines et en matière grasse). Dans cette étude les fromages sont fabriqués à partir du même lait afin d'attirer l'attention du jury de dégustation principalement sur les propriétés sensorielles conférées par la souche de *Lb. plantarum* S4 (ajoutée comme non levain) et l'imprégnation par l'huile d'olive (affinage et conservation).

Dans notre pays, le fromage de chèvre n'est pas très consommé. Ceci est dû au manque d'intérêt du consommateur à ce genre de produits et ce sous l'influence de divers facteurs, tels que :

- les fromages de chèvre sont des produits régionaux (production artisanale), consommés localement et peu hors des communautés productrices,
- les fromages de chèvre ont une saveur forte typiquement « goût de chèvre ».

L'objectif de cette analyse hédonique était de déterminer si un fromage de chèvre frais, légèrement affiné, en présence ou en absence de *Lb. plantarum* S4, et conservé dans de l'huile d'olive pourrait être mieux accepté par le consommateur algérien. Notre analyse hédonique a été menée sur 39 individus formant un jury naïf (non expérimenté) évaluant huit échantillons de fromages codés de A à H (annexe 4).

## II. 10. 2. Cartographie de préférence « Preference Mapping »

Les évaluations sensorielles des fromages ont permis de déterminer leur degré d'acceptabilité par le jury et les descripteurs qui ont le plus motivé leurs choix parmi ceux proposés (fermeté, acidité, amertume, odeur de chèvre et odeur d'huile d'olive et autres...).

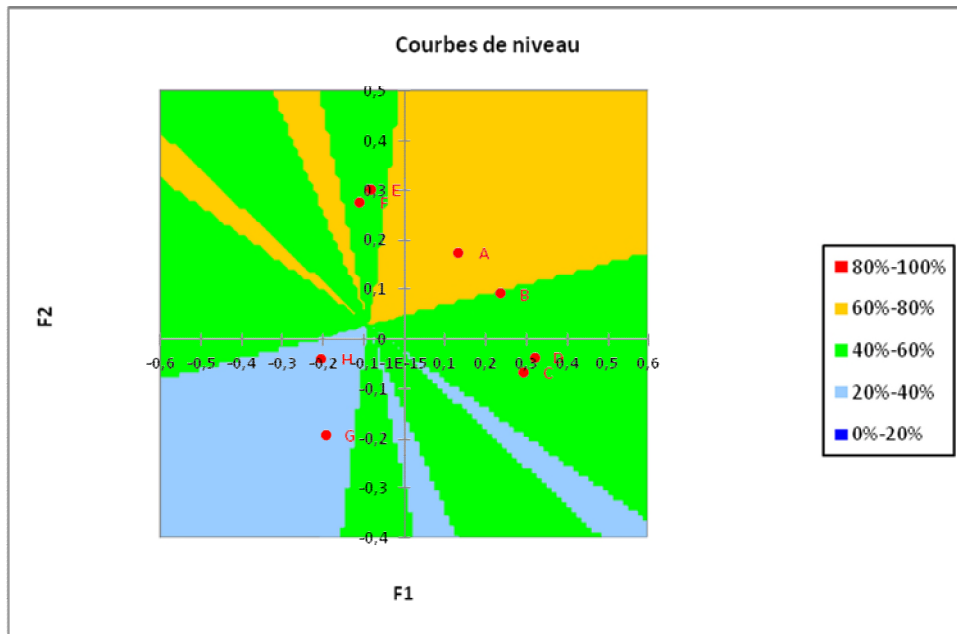
La cartographie des préférences est un outil couramment utilisé dans la compréhension des caractéristiques sensorielles descriptives qui animent les préférences des consommateurs (Naes et Risvik, 1996). Cette cartographie permet de visualiser sur une même représentation graphique d'une part des objets, et d'autre part des indications montrant le niveau de préférence des dégustateurs en certains points de l'espace de représentation (Danzart et Heyd, 1996).

La carte obtenue est de qualité assez bonne puisqu'elle permet de représenter la variabilité, qui nous a permis de constater que les fromages ont été perçus par les dégustateurs comme assez différents (figure 33).

D'après cette carte, on constate que l'échantillon « A » était le plus préféré par le jury avec un niveau d'acceptation allant de 60 à 80%. Cet échantillon correspond au fromage fabriqué en présence de *Lb. plantarum* S4, comme souche non levain, entreposé à 12°C/7 jours et qui a été ensuite conservé dans de l'huile d'olive vierge pendant 7 jours supplémentaires.

Pour les échantillons B, C, D, E et F l'acceptation était moyenne et varie entre 40 - 60%. Les échantillons G et H ont marqué le plus faible niveau d'acceptation avec des pourcentages allant de 20 à 40%.

En analysant les différents descripteurs qui ont motivé le choix des dégustateurs, on constate que la majorité a aimé la texture friable et molle du fromage « A » fabriqué en incluant *Lb. plantarum* S4. La saveur «acide» a été également appréciée dans ce fromage.



**Figure 33. Carte des préférences et courbes de niveaux générées lors de l'analyse hédonique** (A, B, C, D, E, F, G, H représentent les 8 fromages fabriqués et les couleurs indiquent le niveau de leur acceptabilité).

La plupart des dégustateurs n'ont pas apprécié la saveur amère qui était assez prononcée dans les différents types de fromages.

Le choix des dégustateurs pour le fromage fabriqué en incluant la souche de *Lb. plantarum* prouve que cette espèce pourrait jouer un rôle dans l'amélioration de la qualité organoleptique du fromage.

En effet, *Lb. plantarum* possède des activités protéasiques, peptidasiques, estérasiques et lipasiques (Ztaliou *et al.*, 1996; Gobbetti *et al.*, 1997). Ceci suggère que cette espèce a le potentiel de décomposer les protéines et la matière grasse dans les fromages afin de générer des composés de saveur.

Bien qu'il y ait un manque d'études liant *Lb. plantarum* avec la formation d'acides gras libres dans les fromages, il est prouvé que cette espèce contribue à la production d'acides aminés libres dans ces derniers (Lynch *et al.*, 1999; Hynes *et al.*, 2001). L'activité peptidasique de *Lb. plantarum* est bien adaptée aux conditions environnementales hostiles des fromages au cours de l'affinage et apporte une contribution majeure dans la maturation de ces derniers.

Egalement, il a été démontré que des souches de *Lb. plantarum* étaient capables d'utiliser le citrate comme seule source d'énergie (De Figueroa *et al.*, 1996, 2000) pour produire des composés aromatiques tels que le diacétyl, l'acétoïne et le butanediol (Corsetti et Valmorri, 2011) et aussi de l'aspartate, acétate, lactate et du succinate (Dudley et Steele, 2004).

Des études récentes évaluant les interactions entre les levains et une culture supplémentaire de *Lb. plantarum* ont montré que la dégradation du citrate dans le fromage varie en fonction du type de levain utilisé; *Lb. plantarum* dégrade le citrate en acétoïne et diacétyl, en particulier en présence d'un levain mésophile homo-fermentaire ne métabolisant pas le citrate. En outre, la même souche dégrade le citrate en acide succinique en présence d'un ferment thermophile (Skeie *et al.*, 2008).

Diverses études ont été menées pour examiner la contribution potentielle de *Lb. plantarum* dans la formation des saveurs de fromage, en vue de son utilisation comme une culture supplémentaire dans la fabrication fromagère (Lynch *et al.*, 1999 ; Poveda *et al.*, 2003 ; Milesi *et al.*, 2009).

Lynch *et al.* (1999) rapportent qu'une souche de *Lb. plantarum* utilisée comme culture non levain dans le fromage « Cheddar » a augmenté le taux d'acides aminés libres et a amélioré la qualité sensorielle de ce fromage. Egalement, l'addition de la souche *Lb. plantarum* I91 dans un fromage à pâte molle a permis l'augmentation de la concentration en diacétyl et le taux de la protéolyse, qui est révélé par un contenu élevé en acides aminés libres (Milesi *et al.*, 2009 ; Burns *et al.*, 2012).

L'addition de cultures supplémentaires non levains peut également donner lieu à des saveurs ou à des défauts de qualité (Herrerros *et al.*, 2007). Certaines souches ne contribuent pas de façon significative à la protéolyse et même elles peuvent causer des défauts de goût en augmentant la formation de peptides amers (Poveda *et al.*, 2003). Pour cela, la sélection des souches non levains selon leurs propriétés technologiques est importante avant de les introduire dans les fromages.

La majorité des dégustateurs s'avère être des consommateurs de l'huile d'olive et de fromage. Toutefois, certaines personnes n'ont pas aimé l'odeur et le goût fort de l'huile d'olive utilisée (vierge et vierge extra), et qui pouvait être dû au fait que ce n'est pas le type d'huile qui sont consommés habituellement.

Les dégustateurs ont mentionné également que le goût et l'odeur de l'huile d'olive vierge ou vierge extra étaient assez forts et avaient masqué le goût et l'odeur de chèvre dans les fromages. Ce qui est un atout dans le cas de consommateurs n'aimant pas l'odeur de chèvre.

Durant la période de conservation dans l'huile d'olive, les fromages ont gardé leur couleur blanchâtre ainsi que leur texture molle et aucun changement indésirable n'a été détecté

Le nombre d'études menées sur la conservation de fromages dans l'huile d'olive est très restreint voir inexistant. Celle menée par **Keceli et al. (1999)** a prouvé que des boules de fromage « Labneh Anbaris » se conservaient dans de l'huile d'olive vierge pendant 3 mois 25°C.

Les fromages sont sujets à de nombreuses contaminations par des micro-organismes pathogènes ou d'altération. Ces micro-organismes peuvent être à l'origine de défauts organoleptiques et constituent un risque sanitaire énorme. L'origine de ces contaminations peut être le lait utilisé pour la fabrication fromagère ou l'environnement. *Listeria*, *Staphylococcus*, *Salmonella* et *E. coli* sont les principaux agents suspects de ces contaminations.

La possibilité que l'huile d'olive ait des propriétés antimicrobiennes a été reconnue depuis de nombreuses années. En effet, plusieurs études ont montré l'effet des huiles d'olive vierges et vierges extra sur les micro-organismes pathogènes et d'altération. **Medina et al. (2006)** ont étudié l'activité antimicrobienne de différentes huiles comestibles, et ont trouvé que les huiles d'olive ont une forte action bactéricide contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. enterica*, *Yersinia* sp. et *Clostridium perfringens*). Les composés phénoliques contenus dans l'huile d'olive s'avèrent être responsables de cette activité. Ils ont été identifiés comme étant de l'acide cinnamique, l'acide férulique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, la lutéoline, l'acide syringique, le tyrosol, l'acide vanillique et la vanilline (**Karaosmanoglu et al., 2010**).

## Conclusion générale et perspectives

Ces dernières années, la demande pour des fromages ayant des qualités organoleptiques et sanitaires améliorées est de plus en plus croissante. Pour cela, un besoin perpétuel existe pour la recherche et la sélection de nouvelles souches accélérant l'affinage et améliorant la saveur des fromages. D'un autre côté, d'autres procédés d'amélioration de la qualité sanitaire des aliments tels que la conservation dans l'huile d'olive sont proposés. Cet aspect a été abordé dans cette étude où un fromage au lait de chèvre pasteurisé a été fabriqué, en incluant une souche non levain « *Lactobacillus plantarum* », et conservé dans de l'huile d'olive (vierge, vierge extra).

Trois souches de bactéries lactiques isolées localement ont été exploitées dans ce travail pour la fabrication fromagère, deux souches de *Lactococcus lactis* (S1 et S2), utilisées comme « levains », et une souche de *Lb. plantarum* (S4) utilisée comme « non levain » pour vérifier son rôle au cours de la conservation.

Dans une première partie, l'étude des interactions des souches lactiques l'une à l'égard de l'autre a révélé que la souche *Lb. plantarum* S4 exerce un pouvoir antagoniste vis-à-vis des deux souches *Lc. lactis* S1 et S2. Ces souches ont également présenté une activité inhibitrice vis-à-vis de cinq souches pathogènes, les plus représentatives des espèces rencontrées dans le lait et les produits laitiers (*E. coli* ATCC 25922, *Sal. enterica* CIP 81-3, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 et *L. innocua* CLIP 74915). L'étude des aptitudes technologiques (activité protéolytique, lipolytique et acidifiante) des trois souches lactiques a démontré que ces dernières présentent un fort et un faible pouvoir protéolytique à 30 et à 12°C respectivement. Par contre, aucune des souches n'a présenté d'activité lipolytique. De même, l'activité acidifiante de *Lb. plantarum* S4 ( $10^5$  UFC/ml) était faible (pH=6,19 et 4,1 g/l d'acide lactique) comparée à celle des deux lactocoques ( $10^5$  UFC/ml) qui ont montré un fort pouvoir acidifiant (pH=4,71 et 4,67 ; 7 et 7,2 g/l d'acide lactique respectivement) après 18 h de culture dans du lait de chèvre pasteurisé. L'étude de la propriété autolytique des lactocoques, une propriété très recherchée en fromagerie, a montré que les deux souches testées (S1 et S2) peuvent s'autolyser et par conséquent libérer leur contenu enzymatique dans la pâte fromagère et contribuer ainsi à l'affinage. Les résultats des combinaisons des trois souches lactiques testées à différents taux ( $10^3$  et  $10^5$  UFC/ml) ont montré de meilleures propriétés technologiques comparées aux cultures pures, ce qui nous a amené à déduire que ces souches peuvent vivre en association et former un levain mixte. La combinaison *Lc. lactis*

S1/*Lc. lactis* S2/ *Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml) a été choisie pour la fabrication fromagère.

Un entreposage des fromages a été réalisé à 12°C pendant 7 jours préalablement à leur conservation dans de l'huile d'olive (vierge et vierge extra). L'analyse physico-chimique et microbiologique des fromages ainsi maintenus n'a mis en évidence aucune différence significative entre les fromages additionnés de la souche *Lb. plantarum* S4 et ceux fabriqués en son absence.

De même, la conservation dans l'huile d'olive, après entreposage (12°C) ou directe (température ambiante), n'a eu aucune influence sur l'évolution des paramètres physico-chimiques et le développement de la flore microbienne des fromages fabriqués en incluant ou non *Lb. plantarum* S4.

Cependant, des résultats de l'analyse hédonique, il en ressort que les dégustateurs ont mieux apprécié le fromage fabriqué en incluant la souche *Lb. plantarum* S4, entreposés à 12°C puis conservés dans l'huile d'olive vierge.

Les résultats de cette étude sont très prometteurs permettant la valorisation d'une part du lait de chèvre et d'autre part de l'huile d'olive, deux produits locaux très longtemps utilisés dans nos fabrications artisanales et méritant d'être mieux exploités.

A travers cette étude de nombreuses perspectives se dégagent et permettront de compléter ce travail, pour y parvenir nous proposons de:

- Réussir l'affinage des fromages sous des conditions plus contrôlées (température, humidité, asepsie, réalisation en haloir,...).
- Prolonger la durée de conservation des fromages dans l'huile d'olive.
- Améliorer la saveur des fromages en incluant des substances naturelles aromatisantes (clou de girofle, romarin, épices...) dans l'huile d'olive.
- Etudier les acides aminés et les composés volatils aromatiques qui peuvent être libérés dans les fromages.
- Etudier le rôle antibactérien que peut jouer *Lb. plantarum* dans les fromages.
- Etudier le taux de pénétration et la stabilité de l'huile d'olive dans les fromages.

*Références bibliographiques*

**A**

- Abriouel H., Benomar N., Cobo A., Caballero N., Fernandez F.M.A., Perez-Pulido R. et Gálvez A. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented *Manzanilla aloreña* green table olives. *Food Microbiology*, 32, 308-316.
- A.F.NOR. (Association Française de NORmalisation). (1999). Lait et produits laitiers. Ed. L'Union (Toulouse), 407 p.
- Amariglio S. (1986). Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et chimiques. Méthode II-3. AFNOR- ITSV (France), 123-124.
- Amarita F., Requena T., Taborda G., Amigo L. et Pelaez C. (2001). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* initiate catabolism of methionine by transamination. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 971-978.
- Amiot M.J., Fleuriet A. et Macheix J.J. (1989). Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 28, 67-69.
- Ammor S., Dufour E., Zagorec M., Chaillou S., et Chevalier I. (2005). Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiology*, 22, 529-538.
- Ammor S., Tauveron G., Dufour E. et Chevalier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*, 17, 454-461.
- Aponte M., Blaiotta G., La Croce F., Mazzaglia A., Farina V., Settanni L. et Moschetti G. (2012). Use of selected autochthonous lactic acid bacteria for Spanish-style table olive fermentation. *Food Microbiology*, 30, 8-16.
- Aslam S. et Qazi J.I. (2010). Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan Journal of Zoology*, 42 (5), 567-573.
- Asteri I.A., Robertson N., Kagkli D.M., Andrewes P., Nychas G., Coolbear T., Holland R., Crowb V. et Tsakalidou E. (2009). Technological and flavour potential of cultures isolated from traditional Greek cheeses - A pool of novel species and starters. *International Dairy Journal*, 19, 595-604.
- Atrih A., Rekhif N., Moir A.J.G., Lebrihi A. et Lefebvre G. (2001). Mode of action, purification and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. *International Journal of Food Microbiology*, 68, 93-104.
- Attaie R. (2005). Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. *Small Ruminant Research*, 57, 19-29.
- Ayad E.H.E, Nashat S., El-Sadek N., Metwaly H. et El-Soda M. (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology*, 21, 715-725.



**B**

Badis A., Laoubdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « ARABIA et KABYLE ». *Sciences et Technologie*, 23, 30-37.

Beresford T.P., Fitzimons N.A., Brennan N.L. et Cognan T.M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11, 259-274.

Beresford T.P. et Williams A. (2004). The microbiology of ripening. *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects*. Ed. Elsevier, Academic press (Londres), 640p.

Bernardeau M. Vernoux J.P., Dubernet S. et Guéguen M. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms : The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126 (3), 278-285.

Bernbom N., Jelle B., Brogren C.H., Vogensen F.K., Norrung B. et Licht T.R. (2009). Pediocin PA-1 and a pediocin producing *Lactobacillus plantarum* strain do not change the HMA rat microbiota. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 251-257.

Boggia R., Zunin P., Lanteri S., Rossi N. et Evangelisti F. (2002). Classification and class-modeling of “Riviera Ligure” extra- virgin olive oil using chemical-physical parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (8), 2444-2449.

Boskou D., Blekas G. et Tsimidou M. (2006). Olive oil composition. *In Olive oil, Chemistry and Technology*. Ed. revised (Londres), 268p.

Brenes M., Medina E., Romero C. et De Castro A. (2006). Antimicrobial activity of olive oil. *Agro Food Industry hi-tech*, 18, 6-8.

Brulé G., Lenoir J. et Remeuf F. (2006). La micelle de caséine et la coagulation du lait. *In Le fromage*. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 886p.

Buffa M., Guamis B., Saldo J. et Trujillo A.J. (2004). Changes in organic acids during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats milk. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*, 37, 247-253.

Buffa M., Morais J., Jiménez-Belenguer A., Hernandez-Giménez E. et Guamis B. (2005). Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from raw ewes’ milk for cheese making. *Milchwissenschaft*, 61, 404-407.

Burns P., Cuffia F., Milesi M., Vinderola G., Meinardi C., Sabbag N. et Hynes E. (2012). Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. *Food Microbiology*, 30, 45-50.

**C**

Canteri G. (2006). Les agents de transformation du lait. *In Le fromage*. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 886p.

C.O.I. (Conseil oléicole international) (1999). Normes commerciales applicables aux huiles d’olive et aux huiles de grignons d’olive. COI/T15/NC N°2. [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org) (consulté le 19/02/2014).

- C.O.I. (2003). Normes commerciales applicables aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T15/NC N°3. [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org) (consulté le 19/02/2014).
- C.O.I. (2009). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI/T.15/NC N°9. [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org) (consulté le 19/02/2014).
- Cabezas L., Poveda J.M., Sanchez I. et Palop M. (2005). Physico-chemical and sensory characteristics of Spanish goat cheeses. *Milchwissenschaft*, 60, 48-51.
- Campaniello D., Bevilacqua A., D'amato D., Corbo M.R., Altieri C. et Sinigaglia M. (2005). Microbial Characterization of Table Olives: Processed According to Spanish and Natural Styles. *Food Technology and Biotechnology*, 43, (3), 289-294.
- Chamba J.F., Duong C., Fazel A. et Prost F. (1994). Selection des souches de bactéries lactiques. *In Bactéries lactiques*. Ed. Loriga (Paris), 614p.
- Champagne C.P., Moineau S., Lange M., Gelinas P. et Audet P. (2000). Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière. Ed. Fondation des Gouverneurs (Paris), 210p.
- Cheriguene A., Chougrani F. et Bensoltane A. (2006). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from goat's Algerian milk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (7), 1242-1249.
- Chilliard Y. et Sauvant D. (1987). La sécrétion des constituants du lait. *In le lait : matière première de l'industrie laitière*. Ed. INRA (Paris), 394p.
- Chilliard Y. (1996). Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : Comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque, le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA (Niort), 51-65.
- Ciafardini G. et Zullo B.A. (2002a). Microbiological activity in stored olive oil. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 111-118.
- Ciafardini G. et Zullo B.A. (2002b). Survival of micro-organisms in extra virgin olive oil during storage. *International Journal of Food Microbiology*, 19, 105-109.
- Cicerale S., Lucas L.J. et Keast R.S. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 129-135.
- Cimato A. (1990). La qualité de l'huile d'olive et les facteurs agronomiques. *Olivae*, 31, 20-31.
- C.I.P.E.A. (Centre International pour l'Elevage en Afrique). (1987). Bulletin du CIPEA. 27. <http://books.google.dz/books?id=NeM0cKVvVt8C>. (Consulté le 11/02/2014).
- Cogan T.M., Barbosa M., Beuvier E., Bianchi-Salvadori B., Cocconcelli P.S., Fernandes I., Gomez J., Gomez R., Kalantzopoulos G., Ledda A., Medina M., Rea M.C. et Rodriguez E. (1997). Characterisation of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64, 409-421.
- Contreras A., Corrales J.C. et Siera D. (1993). Caprine intermammary infection : Quality of milk. *Le lait*, 73 (5-6), 485-488.

Corsetti A. et Valmorri S. (2011). Lactic Acid Bacteria | *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus plantarum*. In Encyclopedia of Dairy Sciences, 3, 111-118.

## **D**

Dal Bello B., Cocolin L., Zeppa G., Field D., Cotter P.D. et Hill C. (2012). Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese. International Journal of Food Microbiology, 153, 58-65.

Danzart M. et Heyd B. (1996). Le modèle quadratique en cartographie des préférences. 3<sup>ème</sup> Congrès Sensometrics, ENITIAA (Nantes), 28p.

De Angelis M., Di Cagno R., Huet C., Crecchio C., Fox P.F. et Gobbetti M. (2004). Heat Shock Response in *Lactobacillus plantarum*. Applied and Environmental Microbiology, 70, 1336-1346.

De Figueroa R.M., Alvarez F., De Ruiz Holgado A.P., Oliver G. et Sesma F. (2000). Citrate utilisation by homo- and heterofermentative lactobacilli. Microbiological Research, 154, 313-320.

De Figueroa R.M., De Cardenas I.L.B., Sesma F. et Alvarez F. (1996). Inducible transport of citrate in *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. Journal of Applied Bacteriology, 81, 348-354.

Deeth H.C. et Touch V. (2000). Methods for detecting lipase activity in milk and milk products. Australian Journal of Dairy Technology, 55, 153-168.

Delgado A., Brito D., Fevereiro P., Peres C. et Marques J.F. (2001). Antimicrobial activity of *L. plantarum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives. Lait, 81, 203-215.

Desmazeaud M. et Hermier J. (1986). Isolement, purification et propriétés d'une protéase exocellulaire de *Micrococcus caseolyticus*. Annales de Biologie Animale, Biochimie et Biophysique, 8(4), 565-577.

De Vries M.C., Vaughan E.E., Kleerebezem M. et de Vos W.M. (2006). *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. International Dairy Journal, 16, 1018-1028.

Dib H., Hajj Semaan E., Mrad R., Ayoub J., Choueiry L., Moussa H. et G. Bitar. (2012). Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. Lebanese Science Journal, 13, 43-58.

Doyon A. (2005). Influence de l'alimentation sur la composition du lait de chèvre : revue des travaux récents. Colloque sur la chèvre. CRAAQ (Quebec), 23p.

Dudley E. et Steele J.L. (2004). Succinate production and citrate catabolism by Cheddar cheese nonstarter lactobacilli. Journal of Applied Microbiology, 98, 14-23.

## **E**

Eck A. (1990). Le Fromage. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 539p.

Eck A. et Gillis J.C. (2006). Le fromage. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 886p.

Edima HC. (2007). *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Institut National Polytechnique de Lorraine (France), 57-66.

El Azzi M. et Bassal A. (2005). Optimisation de la production de fromage artisanal de chèvre (fromage fermier Français). *Annales de Recherches Scientifique*, 06, 125-143.

El-Soda M., Farkye N., Vuilleumard J., Simard R, Olson N., El Kholy W., Dako E., Medrano E., Gaber M. et Lim L. (1995). Autolysis of lactic acid bacteria. Impact on flavour development in cheese. *In Food Flavour: Generation Analysis and Process Influence*. Ed. Elsevier Science B.V. (Amsterdam), 2223p.

Ercolini D., Villani F., Aponte M. et Mauriello G. (2006). Fluorescence *in situ* hybridisation detection of *Lactobacillus plantarum* group on olives to be used in natural fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 291-296.

Essid I., Medini M. et Hassouna M. (2009). Technological and safety properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Science*, 81, 203-208.

## **F**

F.A.O. (Food and Agriculture Organization). (1990). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO/Alimentation et Nutrition, 2, 23p. <http://www.fao.org>. (Consulté le 14/01/2014).

F.A.O. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. <http://www.fao.org> (Consulté le 14/01/2014).

F.A.O. (2001). Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles-Annexe IV : Projet de norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. Archives de documents de la FAO. <http://www.fao.org> (Consulté le 14/01/2014).

F.A.O. (2006). Subject: Statistiques alimentaires. <http://www.fao.org> (Consulté le 14/01/2014).

Fatet P. (2004). Les staphylocoques dans les produits laitiers. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. [http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/d10907e2de91b132c1256cd1003424f8/\\$FILE/200412gds\\_info.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/0/d10907e2de91b132c1256cd1003424f8/$FILE/200412gds_info.pdf). (Consulté le 05/01/2014).

Feliachi K. (2003). Rapport national sur les ressources génétiques animales : Algérie. Commission Nationale, Point focal Algérien pour les ressources génétiques, 1-46.

Ferain T., Schanck A.N. et Delcour J. (1996). <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance analysis of glucose and citrate end products in a ldhL-ldhD double-knockout strain of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology*, 178, 7311-7315.

Fitzsimons N.A., Cogan T.M., Condon S. et Beresford T. (1999). Phenotypic and genotypic characterisation of non-starter lactic acid bacteria in mature Cheddar cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3418-3426.

Fox P.F., Law J., Mc Sweeney P.L.H. et Wallace J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. *In Cheese : chemistry, physics and microbiology: General Aspects..* Ed. revised (Londres), 601p.

Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. et Guinee T.P. (2004). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects. Ed. Elsevier, Academic press (Londres), 640p.

Fox P.F., McSweeney P.L.H et Lynch C.M. (1998). Significance of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53, 83-89.

Fugelsang K.C. et Edwards C.G. (1997). *Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures*. Ed. Springer (Londres), 392p.

## **G**

Gaddour A., Najari S. et Ouni M. (2007). Dairy performance of goat genetic groups in the southern Tunisian. *Agricultural Journal*, 2, 248-253.

Ghabbour N., Lamzira Z., Thonart P., Cidalia P., Markaouid M. et Asehrou A. (2011). Selection of oleuropein-degrading lactic acid bacteria strains isolated from fermenting Moroccan green olives. *Grasas y Aceites*, 62, 84-89.

Gálvez A., Abriouel H., López R.L. et Ben Omar N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120, 51-70.

Gaucheron F. (2005). The minerals of milk. *Reproduction Nutrition and Development*, 45, 473-483.

Georgieva R., Iliev I., Haertle T., Chobert J.M., Ivanova I. et Danova S. (2009). Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Dairy Journal*, 19, 696-702.

Ghozlane F., Yakhlef H. et Ziki B. (2006). Performances zootechniques et caractérisation des élevages bovins laitiers dans la région d'Annaba (Algérie). *Rencontres Recherches Ruminants*, 13, 386.

Ghrairi T., Frere J., Berjeaud J.M. et Manai M. (2005). Lactococcin MMT24, a novel two-peptide bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* isolated from Rigota cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 389-398.

Gobbetti M., Fox P.F. et Stepaniak L. (1997). Isolation and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* 2739. *Journal of Dairy Science*, 80, 3099-3106.

Gong H.S., Meng X.C. et Wang H. (2010). Plantaricin MG active against Gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from "Jiaoke", a traditional fermented cream from China. *Food Control*, 21 (1), 89-96.

Grappin R. et Beuvier E. (1997). Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal*, 7, 751-761.

Guéguen L. (1996). La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre. Intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque, le lait de chèvre, un atout pour la santé. INRA, Niort (France), 67-80.

Guiraud J.P. (1998). *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod (Paris), 571p.

Guiraud J.P. et Galzy P. (1980). *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires*. Ed. L'usine nouvelle (Paris), 239p.

Guo M.R., Dixon P.H., Park Y.W., Gilmore J.A. et Kindstedt P.S. (2001). Seasonal changes in the chemical composition of commingled goat milk. *Journal of Dairy Science*, 84, 79-83.

## H

Haenlein G.F.W. (1998). Goat milk in human nutrition. *International Journal of Animal Sciences*, 6, 13.

Hardy J. (1997). L'activité de l'eau et le salage. *In* Le fromage. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 890p.

Hata T., Tanaka R. et Ohmomo S. (2010). Isolation and characterization of plantaricin ASM1: A new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* A-1. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 94-99.

Hebert A. (2010). Ecosystème fromager : de l'étude du métabolisme du soufre chez *Kluyveromyces lactis* et *Yarrowia lipolytica* à l'interaction entre *Kluyveromyces lactis* et *Brevibacterium aurantiacum*. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech) (France), 284p.

Henry S. (2003). L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1 (France), 91p.

Hermier J., Lenoir J. et Weber F. (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed. CEPIL (Paris), 568p.

Herrero M., Mayo B., Gonzalez B. et Suarez J. E. (1996). Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 565-570.

Herreros M.A., Arenas R., Sandoval M.H., Castro J.M., Fresno J.M. et Tornadizo M.E. (2007). Effect of addition of native cultures on characteristics of Armada cheese manufactured with pasteurized milk: A preliminary study. *International Dairy Journal*, 17, 328-335.

Herros M.A., Fresno J.M., Gonzalez Prieto M.J. et Tornadizo M.E. (2003). Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goat's milk cheese). *International Dairy Journal*, 13 (6), 469-479.

Holo H., Jeknic Z., Daeschel M., Stevanovic S., Nes I.F. (2001). Plantaricin W from *Lactobacillus plantarum* belongs to a new family of two-peptide antibiotics. *Microbiology*, 147 (3), 643-651.

Hynes E., Ogier J.C. et Delacroix-Buchet A. (2001). Proteolysis during ripening of miniature washed-curd cheeses manufactured with different strains of starter bacteria and a *Lactobacillus plantarum* adjunct culture. *International Dairy Journal*, 11 (8), 587-597.

## I

Idoui T., Boudjerda J., Leghouchia E. et Karam N. (2009a). Naturally fermented Jijelian black olives: microbiological characteristics and isolation of lactic acid bacteria. *Grasas Y Aceites*, 60 (5), 516-520.

Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. et Karam N.E. (2009b). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas Y Aceites*, 60 (2), 177-183.

Inglese P. (1994). L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitative de l'huile d'olive. *Olivae*, 54, 42-47.

ITAFV. (Institut Technique de L'Arboriculture Fruitière et de la Vigne) (2013). Campagne 2013 d'huile d'olive. <http://www.itafv.dz>. (Consulté le 24/02/2014).

## **J**

Jacobsen T. et Poulsen O. M. (1995). Comparison of lipases from different strains of the fungus *Geotrichum candidum*. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1257(2), 96-102.

Jaubert G., Jaubert A., Bodin J.P. (1997). Flavour of goat farm bulk milk. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 25, 89-93.

Jiménez-Díaz R., Rios-Sánchez R.M., Desmazeaud M., Ruiz-Barba J.L. et Piard J.C. (1993). Plantaricins S and T, Two New Bacteriocins Produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 Isolated from a Green Olive Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (5), 1416-1424.

J.O.R.A. (1998). *Journal Officiel de la République Algérienne* n°35 du 27 Mai 1998 / Aoul Safar 1419.

Jordan K.N. et Cogan T.M. (1993). Identification and growth of non-starter lactic acid bacteria in Irish Cheddar cheese. *Irish Journal of Agriculture and Food Research*, 32, 47-55.

J.O.R.F. (2013). *Journal officiel de la République française*. <http://www.journal-officiel.gouv.fr/> (Consulté le 13/01/2014).

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

## **K**

Kacem M. et Karam N. (2006). *In vitro* preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 1, 27-32.

Kachouri F. et Hamdi M. (2006). Use of *Lactobacillus plantarum* in olive oil process and improvement of phenolic compounds content. *Journal of Food Engineering*, 77, 746-752.

Kalua C.M., Allenm S. et Bedgood J.R. (2006). Olive oil volatile compound, flavor development and quality. *Food Chemistry*, 54 (20), 1-12.

Karam N.E., Dellali A. et Zadi-Karam H. (2012). Activité lipolytique chez les bactéries lactiques Lipolytic Activity from Lactic Bacteria. *Rencontre Recherches Ruminants*, 19, 415.

Karaosmanoglu H., Soyer F., Ozen B. et F. Tokatli. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8238-8245.

Karleskind A. (1992). *Manuel des corps gras*. Ed. Lavoisier (Paris), 600p.

Katz M., Medina R., Gonzalez S. et Oliver G. (2002). Esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk and cheese. *Journal of Food Protection*, 65 (12), 1997-2001.

Keceli T., Robinson R.K. et Gordon M.H. (1999). The role of olive oil in the preservation of yogurt cheese (labneh anbaris). *International Journal of Dairy Technology*, 52, 68-72.

Kerboua M. (2003). La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Olivea*, 99, 56-58.

Klaenhammer T.R. (1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70, 337-349.

Kleerebezem M., Boekhorst J., Kranenburg R.V., Molenaar D., Kuipers O.P., Leer R., Turchini R., Sander A.P., Sandbrink M.H., Fiers M.W.E.J., Stiekema W., Klein Lankhorst R.M., Bron P.A., Sally M.H., Masja N.N., Robert K., Maaik de V., Bjorn U., de Vos W.M. et Siezen R.J. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *PNAS*, 100 (4), 1990-1995.

Knights M. et Garcia G.W. (1997). The status and characteristics of the goat (*Capra hircus*) and its potential role as a significant milk producer in the tropics: A review. *Small Ruminants Research*, 26, 203-215.

Kondyli E., Svarnas C., Samelis J. et Katsiari M.C. (2012). Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research*, 103, 194-199.

Kouniba A., Berrada M. et El Marakchi A. (2007). Étude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race locale Marocaine et la race alpine et évaluation de leur aptitude fromagère. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 158 (03), 152-160.

## **L**

La Grandeur R., Biddle R., Krohn R.L. et Wills R.L. (2003). The Cheese Wedge. Center for Dairy Research, 3(1), 2-4.

Lambert G. et Lenoir J. (1976). Les caractères du système lipolytique de l'espèce *Penicillium caseicolum*. Purification et propriétés de la lipase majeure. *Lait*, 56, 622-644.

Lansgrud T., Landaas A. et Casteberg H.B. (1987). Autolytic properties of different strains of group N streptococci. *Milchwissenschaft*, 42, 556-560.

Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A. et Gobetti M. (2000). Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4084-4090.

Le Jaouen J.C., Remeuf F. et Lenoir J. (1990). Données récentes sur le lait de chèvre et les fabrications des produits laitiers caprins. XXIII International Dairy Congress (Montréal), 12p.

Le Mens P. (1985). Propriétés physico-chimiques, nutritionnelles et chimiques *In* Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre (T1). Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 389 p.

Lecoq R. (1965). Manuel d'analyses alimentaires et expertises usuelles. Ed. Doin (Paris), 2185p.



Lenoir J., Lambert G., Schmidt J.L. et Tourneur C. (1985). La maîtrise du bioréacteur fromage. *Biofutur*, 41, 23-50.

Liu S.Q., Holland R. et Crow V.L. (1998). Ethyl butanoate formation by dairy lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 8, 651-657.

Liu S.Q., Holland R., McJarrow P. et Crow V.L. (2003). Serine metabolism in *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Food Microbiology*, 89, 265-273.

Loessner M., Guenther S., Steffan S. et Scherer S. (2003). A Pediocin-Producing *Lactobacillus plantarum* Strain Inhibits *Listeria monocytogenes* in a Multispecies Cheese Surface Microbial Ripening Consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (3), 1854-1857.

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

Lynch C.M., Muir D.D., Banks J.M., McSweeney P.L.H. et Fox P.F. (1999). Influence of Adjunct Cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, 82 (8), 1618-1628.

## **M**

Madera C., Garcia P., Janzen T., Rodriguez A. et Suarez J.E. (2003). Characterization of technological proficient wild *Lactococcus lactis* strains resistant to phage infection. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 213-222.

Mahé S. (1996). Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humaine. Intérêt nutritionnel et diététiques du lait de chèvre. Actes du colloque : le lait de chèvre un atout pour la santé. INRA (Paris), 9-26.

Maldonado A., Ruiz-Barba J.L. et Jimenez-Diaz R. (2003). Purification and genetic characterization of plantaricin NC8, a novel coculture inducible two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* NC8. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 383-389.

Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Floriano B. et Jimenez-Diaz R. (2002). The locus responsible for production of plantaricin S, a class IIb bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10, is widely distributed among wild-type *Lact. plantarum* strains isolated from olive fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 77, 117-124.

Mallatou H., Pappa E.C. et Boumba V.A. (2004). Proteolysis in Teleme cheese made from ewes, goats or a mixture of ewes and goats milk. *International Dairy Journal*, 14, 977-987.

Marcos A. (1993). Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety. *In Cheese : chemistry, physics and microbiology: General Aspects..* Ed. revised (Londres), 601p.

Marilley L. et Casey M.G. (2004). Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 139-159.

Martley F.G. et Crow V.L. (1993). Interactions between non-starter microorganisms during cheese manufacture and ripening. *International Dairy Journal*, 3(4-6), 461-484.

McSweeney P.L.H. et Sousa M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. *Le lait*, 80, 293-324.

Medina E., de Castro A., Romero C. et M. Brenes. (2006). Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: Correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 4954-4961.

Menendez S., Godínez R., Centeno J.A. et Rodríguez-Otero J.L. (2001). Microbiological, chemical and biochemical characteristics of Tetilla raw cows-milk cheese. *Food Microbiology*, 18, 151-158.

Mengjin L., Arjen N., Christof F. et Siezen J. (2008). Comparative Genomics of Enzymes in Flavor-Forming Pathways from Amino Acids in Lactic Acid Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 74, 4590-4600.

Michel V., Hauwuy A. et Chamba J.F. (2001). La flore microbienne des laits cru de vache : diversité et influence des conditions de production. *Lait*, 81, 575-582.

Mietton B. (1995). Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage. *Revue des ENIL*, 189, 19-27.

Mietton B., Desmazeaud M., De Roissart H. et Weber F. (1994). Transformation du lait en fromage. *In Bactéries lactiques*. Ed. Loriga (Paris) 614p.

Milesi M.M., Vinderola G., Sabbag N., Meinardi C.A. et Hynes E. (2009). Influence on cheese proteolysis and sensory characteristics of non-starter lactobacilli strains with probiotic potential. *Food Research International*, 42, 1186-1196.

Mills S., Serrano L.M., Griffin C., O'Connor P.M., Schaad G., Bruining C., Hill C., Ross R.P. et Meijer W.C. (2011). Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG P-26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese. *Microbial Cell Factories*, 10, 1-11.

Mínguez-Mosquera M.I. et Gandul-Rojas B. (1996). Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72, 31-39.

Mitra S., Chakrabarty P.K. et Biswas S.R. (2010). Potential production and preservation of dahi by *Lactococcus lactis* W8, a nisin-producing strain. *Food Science and Technology*, 43, 337-342.

Molimard P. et Spinnler H.E. (1996). Review: compounds involved in the flavor of surface mould- ripened cheeses: Origins and properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169-184.

Moll G.N., Van Den Akker E., Hauge H.H., Nissen-Meyer J., Nes I.F., Konings W.N. et Driessen A.J. (1999). Complementary and overlapping selectivity of the two-peptide bacteriocins plantaricin EF and JK. *Journal of Bacteriology*, 181, 4848-4852.

## N

Nadjraoui D. (2008). Etat, conservation et gestion des écosystèmes forestiers steppiques et sahariens en Algérie. Rapport d'expert PNAE, Banque Mondiale, 89p. <http://www.fao.org/ag/agp/AGPC/doc/Counprof/Algeria/Algerie.htm> (Consulté le 20/12/2013).

Naes T. et Risvik E. (1996). *Multivariate Analysis of Data in Sensory Science*. Ed. Elsevier Science (Amsterdam), 343p.

Nieto-Arribas P., Poveda J.M., Sese S., Palop L. et Cabezas L. (2009). Technological characterization of *Lactobacillus* isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures. *Food Control*, 20, 1092-1098.

Niku-Paavola M.L., Laitila A., Mattila-Sandholm T. et Haikara A. (1999). New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 29-35.

Noreen N., Hooi W.Y., Baradaran A., Rosfarizan M., Sieo C., Rosli M.I., Yusoff K. et Raha1 A.R. (2011). *Lactococcus lactis* M4, a potential host for the expression of heterologous proteins. *Microbial Cell Factories*, 10, 28.

Nouad G. (2004). L'huile d'olive, un créneau pour l'exportation. *PME Magazine*, 23, 20-21.

Nouhad A. et Tsimidou M. (1998). Huile d'olive aux aromates : idées préconçues des consommateurs, potentiels sur les attributs nutritionnels et sensoriels de ces produits. *Olivea*, 71, 431-442.

## **P**

Palles T., Beresford T., Condon S. et Cogan T.M. (1998). Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 85, 147-154.

Pavia M., Trujillo E.J., Gamis B. et Ferragut V. (2000). Effectiveness of high pressure brining on Manchego-type cheese. *Lebensm-Wiss.u. Technologie*, 33, 401-403.

Pešić-Mikulec D. (2005). Microbiological study of fresh white cheese (A Serbian craft variety). *Applied Ecology and Environmental Research*, 4(1), 129-134.

Picon A., Garcia-Casado M.A. et Nunez M. (2010). Proteolytic activities, peptide utilization and oligopeptide transport systems of wild *Lactococcus lactis* strains. *International Dairy Journal*, 20, 156-162.

Picque D., Leclercq-Perlat M.N. et Corrieu G. (2006). Effects of Atmospheric Composition on Respiratory Behavior, Weight Loss, and Appearance of Camembert-Type Cheeses during Chamber Ripening. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 3250-3259.

Poveda J.M., Sousa M.J., Cabezas L. et Mc Sweeney P.L.H. (2003). Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined-strain starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum*) or a commercial starter. *International Dairy Journal*, 13, 169-178.

Pradal M. (2012). *La transformation fromagère caprine fermière*. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 118p.

Psomiadou E., Tsimidou M. et Boskou D. (2000).  $\alpha$ -tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (5), 1770-1775.

Psoni L., Tzanetakis N. et Litopoulou-Tzanetaki E. (2003). Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. *Food Microbiology*, 20, 575-582.

Psyllakis N., Mirros L. et Kiritsakis A. (1980). Caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive et les facteurs qui influent sur ses caractéristiques. *Olivea*, 20, 553-565.

## **R**

Ramet J.P. (1997). Technologie comparée des différents types de caillé. *In* Le fromage. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 890p.

Remiger A., Eijsink V.G.H., Ehrmann M.A., Sletten K., Nes I.F. et Vogel R.F. (1999). Purification and partial amino acid sequence of plantaricin 1.25 a and 1.25 b, two bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* TMW1.25. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 1053-1058.

Richard J. (1983). Composition of dominant and subdominant flora of milk of poor bacteriological quality. *Lait*, 63, 148-170.

Roudj S., Bessadat A. et Karam N.E. (2005). Caractérisations physico-chimiques et analyses électrophorétiques des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, 12, 400.

Roukas T. et Kotzekidou P. (1998). Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 199-204.

Roy S. (2003). Le lait de chèvre: intolérance au lactose. *Service Vie*, 17, 3-6.

Ryan D., Robardas K. et Lavee S. (1998). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivea*, 72, 23-38.

Ruiz-Barba J.L. et Jimenez-Diaz R. (1994). Vitamin and amino acid requirements of *Lactobacillus plantarum* isolated from green olive fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 350-355.

## **S**

Saldo J., Fernandez A., Sendra E., Butz P., Tauschery B. et Guamis B. (2003). High pressure treatment decelerates the lipolysis in a caprine cheese. *Food Research International*, 36, 1061-1068.

Schillinger U. et Lücke K. (1989). Antimicrobial activity of *Lactobacillus sakei* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1901-1906.

Seifu E., Buys E.M. et Donkin E.F. (2004). Quality aspects of Gouda cheese made from goat milk preserved by the lactoperoxidase system. *International Dairy Journal*, 14, 581-589.

Serhan M. (2008). Valorisation durable des laits de chèvre de la région du nord Liban. Transformation en fromages *Darfiyeh* et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de la création d'une appellation d'origine. Thèse de Doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut polytechnique de Lorraine (France), 199p.

Sjögren J., Magnusson J., Broberg A., Schnürer J. et Kenne L. (2003). Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 7554-7557.

Skeie S., Kieronczyk A., Eidet S., Reitan M., Olsen K. et Ostlie H. (2008). Interaction between starter bacteria and adjunct *Lactobacillus plantarum* INF15D on the degradation of citrate, asparagine and aspartate in a washed-curd cheese. *International dairy journal*, 18 (2), 169-177.

Sobh M., Chaouch A., Echchelh A., Oudda H. et Ouhssine M. (2008). Activité Antibactérienne de *Lactobacillus Plantarum*. *Science Libre*, 5, 1-11.

St-Gelais D., Ould-Baba A.M. et Turcot S.M. (1999). Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation. *Agriculture et Agro-alimentaire*, 70, 1-33.

St-Gelais D. et Tirard-Collet P. (2002). Fromage. *In Science et technologie du lait*. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 600p.

Strom K., Sjogren J., Broberg A. et Schnurer J. (2002). *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Applied of Environmental Microbiology*, 68, 4322-4327.

Strahini I., Cvetanovi D., Koji M. Fira D.J., Tolina K.M. et Topisirovi L.J. (2007). Characterization and antimicrobial activity of natural isolate *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGSM1-19. *Acta Veterinaria*, 57, 509-521.

## **T**

Terzic-Vidojevic A., Vukasinovic M., Veljovic K., Ostojic M. et Topisirovic L. (2007). Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlatar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 114 (1), 36-42.

Thomas T.D. (1987). Acetate production from lactate and citrate by non-starter bacteria in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 22, 25-38.

Todorov S.D., Ho P., Vaz-Velho M. et Dicks L.M.T. (2009). Characterization of bacteriocins produced by two strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from Beloura and Chouriço, traditional pork products from Portugal. *Meat Science*, 84, 334-343.

Tormo H. (2010). Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de variabilité. Thèse de Doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition. Université Toulouse III - Paul Sabatier (France), 257p.

Touhami M. (1996). Intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque, le lait de chèvre, un atout pour la santé. INRA, Niort (France), 93-100.

Turner K.W., Lawrence R.C. et Lelievre J. (1986). A microbiological specification for milk for aseptic cheese making New Zealand. *Journal of Dairy Science and Technology*, 21, 249-254.

Tzanetakis N. et Hatzikamari M. (1994). La flore lactique superficielle du fromage Feta. Colloque de Société Française de Microbiologie : Gestions des populations microbiennes dans les industries agro-alimentaires. Dijon (France), 23-57.

Tzanetakis N., Hatzikamari M. et Litopoulou- Tzanetaki E. (1996). Yeast of the surface microflora of Feta, a traditional Greek cheese. Symposium, Yeasts in the Dairy Industry, Positive and negative aspects. FIL-IDF, Copenhagen (Danemark), 56-98.

Tzanetakis N. et Litopoulou-Tzanetaki E. (1992). Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria in Feta and Teleme, two Greek cheeses from ewes' milk. *Journal of Dairy Science*, 75, 1389-1393.

## U

Ugarte M.B., Gugliemotti D., Giraffa G., Reinheimer J. et Hynes E. (2006). Nonstarter lactobacilli isolated from soft and semihard Argentinean cheeses: genetic characterization and resistance to biological barriers. *Journal of Food Protection*, 69 (12), 2983-2991.

Uzzan A. (1992). Olive et huile d'olive. *In* Manuel des corps gras. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 1500p.

## V

Van Hoorde K., Van Leuven I., Dirinck P., Heyndrickx M., Coudijzer K. , Vandamme P. et Huys G. (2010). Selection, application and monitoring of *Lactobacillus paracasei* strains as adjunct cultures in the production of Gouda-type cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 226-235.

Vandenberg P.A. (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology*, 12, 221-238.

Veillet S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse de Doctorat en Chimie. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France), 153p.

Veisseyre R. (1979). Technologie du Lait. Ed. Maison Rustique (Paris), 714p.

Vignola C.L. (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 600p.

Vuilleumard J.C. (1986). Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Ed. Techniques et Documentation, Lavoisier (Paris), 600p.

## W

Wendorff W.L. et Wee C. (1997). Effect of smoke and spice oils on growth of moulds on oil-coated cheeses. *Journal of Food Protection*, 60, 153-156.

## X

Xie Y., An H., Hao Y., Qin Q., Huang Y., Luo Y. et Zhang L. (2011). Characterization of an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LB-B1 isolated from koumiss, a traditionally fermented dairy product from China. *Food Control*, 22, 1027-1031.

## Y

Young W. P. (2001). Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese. *Journal of Dairy Science*, 84, 84-92.

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

Yvon M., Thirouin S., Trijnen L., Fromentier D. et Gripon G.C. (1997). An aminotransferase from *Lactococcus lactis* initiates conversion of aminoacids to cheese flavor compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 414-419.

**Z**

Zadi-Karam H., Hassaine O. et Karam N.E. (2004). Pouvoir acidifiant et activité protéolytique des souches de *Lactococcus lactis* isolées de lait de chèvres de Timimoun (Sud algérien). Rencontre Recherches Ruminants, 11, 108.

Zárate V., Belda F., Pérez C. et Cardell E. (1997). Changes in the microbial flora of Tenerife goats' milk cheese during ripening. International Dairy Journal, 7 (10), 635-641.

Zeller B. (2005). Le fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques. Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires. Université Paul-Sabatier de Toulouse (France), 78p.

Zeng S.S., Popham T. et Escobar E.N. (1999). Seasonal variation of somatic cell count and chemical composition in bulk tank goat milk. Dairy Food Environmental Sanitation. 19, 685-690.

Zotta T., Piraino P. et Ricciardi A. (2006). Proteolysis in Model Sourdough Fermentations. Journal Agricultural of Food Chemistray, 54, 2567-2574.

Ztaliou I., Tsakalidou E., Tzanetakis N. et Kalantzopoulos G. (1996). *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Greek cheese. Taxonomic characterization and screening for enzyme activities. Lait, 76, 209- 216.

Zullo B.A. Cioccia G. et Ciafardini G. (2010). Distribution of dimorphic yeast species in commercial extra virgin olive oil. International Journal of Food Microbiology, 27, 1035-1042.

Zullo B.A. et Ciafardini G. (2008). Lipolytic yeasts distribution in commercial extra virgin olive oil. International Journal of Food Microbiology, 25 (8), 970-977.

***Références numériques:***

[http://www.tarweb.minfin.fgov.be/itarbel\\_ext/docs/h0015an\\_1.Fhtm](http://www.tarweb.minfin.fgov.be/itarbel_ext/docs/h0015an_1.Fhtm) (consulté le 24/02/13).

<http://www.fotosearch.fr/photos-images/chèvre> (consulté le 20/01/13).

<http://www.unibas.it/parente/Starter/gruppi.html> (consulté le 20/01/13).

## **Liste des tableaux en annexes**

### **Annexe 2 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olive**

**Tableau I.** Huile d'olive vierge

**Tableau II.** Huile d'olive vierge extra

### **Annexe 3. Composition des Milieux de culture utilisés**

**Tableau I:** Bouillon de Roth (pH=6,8)

**Tableau II :** Bouillon de Litsky (pH=6,8)

**Tableau III :** Bouillon Giolitti et Cantoni (pH=6,9)

**Tableau IV :** Bouillon Sélénite Sodium + Cystine (pH=7,0)

**Tableau V.** Bouillon et gélose MRS

**Tableau VI.** Bouillon et gélose M17

**Tableau VII.** Bouillon et gélose nutritive

**Tableau VIII :** Gélose PCA (pH=7,2)

**Tableau IX :** Gélose VRBL (pH=7, 30)

**Tableau X :** Gélose Chapman (pH=7,4)

**Tableau XI :** Gélose Viande-Foie base (pH=7,4)

**Tableau XII :** Gélose Hektoen (pH=7, 6)

**Tableau XIII:** Gélose de base à l'oxytétracycline (OGA pH=7,2)

**Tableau XIV :** Tryptone-sel

### **Annexe 6 : Résultats du suivi de la croissance et de l'évolution de l'acidification des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé**

**Tableau I :** Pouvoir acidifiant des cultures mixtes testées dans le lait de chèvre pasteurisé (pH et acidité exprimée en g d'acide lactique /l)



## **Annexe 1 : Analyses physico-chimiques**

### **Détermination de l'acidité du lait (A.F.NOR., 1999)**

#### **1. Prise d'essai**

10 ml de lait sont préparés dans un bêcher de 100 ml.

#### **2. Mode opératoire**

- 2 à 3 gouttes de la solution de phénolphtaléine à 1% sont ajoutées à la solution du lait déjà préparée;

- Cette dernière est titrée avec de la soude (NaOH N/9) jusqu'au virage au rose de la solution qui doit persister pendant une dizaine de secondes.

L'acidité exprimée en degré Dornic (°D) ou en gramme d'acide lactique par litre de lait est égale à:

$$V_1 \times 0,01 \times 1000 / V_0 = 10 \times V_1 / V_0$$

Où :

$V_0$  : est le volume en millilitre de la prise d'essai

$V_1$  : est le volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de Sodium (N/9) nécessaire.

### **Détermination de la teneur en matière grasse du fromage par la méthode acido-butyrométrique de Gerber (A.F.NOR., 1999)**

#### **1. Prise d'essai**

- Trois grammes (3 g) de fromage sont broyés dans le godet qu'on introduit dans le butyromètre de Gerbert.

#### **2. Mode opératoire**

- De l'acide sulfurique (Biochem Chemopharma, France) est introduit par l'extrémité du butyromètre jusqu'à ce que son niveau dépasse le godet de 2 mm ;

- Le butyromètre est placé dans un bain-marie (65°C) jusqu'à la dissolution totale du fromage;

- 1 ml d'alcool isoamylique (Biochem Chemopharma, France) est introduit dans le butyromètre;

- De l'acide sulfurique est ajouté jusqu'à l'avant dernière graduation du butyromètre ;

- Des retournements puis des agitations sont effectués (2 fois) ;

- Le butyromètre est ensuite placé dans une centrifugeuse (Nova Safety, Funky Gerber, France) pendant 5 minutes ;

- La teneur en matière grasse, exprimée en pourcentage de fromage, est donnée par lecture directe sur le butyromètre.

## **Détermination de la teneur en protéines du fromage par la méthode de Kjeldhal (A.F.NOR., 1999)**

### **1. Remise en suspension du fromage**

- 5 g de fromage sont pesés au mg près à l'aide d'une balance (ADAM, AFA-120LC);
- Le produit est broyé à l'aide d'un mortier et mélangé pour le rendre homogène ;
- L'homogénéisât est dispersé dans une solution de citrate sodique (0,5 M) pendant 8 min;
- La solution est transvasée sans pertes dans une fiole jaugée de 100 ml en rinçant les parois du mixeur;
- Ensuite, le volume est ajusté à 100 ml avec la solution de citrate de sodium ;

### **2. Dosage de l'azote soluble**

- 20 ml de la solution préparée auparavant sont mis dans un bêcher ;
- Le pH est amené à 4,6 avec du HCl 1 N (Biochem Chemopharma, France);
- Le mélange est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml ;
- Le volume est ensuite ajusté avec de l'eau distillée, agité et laissé reposer pendant 10 minutes;
- Le mélange est filtré sur papier Wattman N°1 et un dosage est effectué sur 5 ml du filtrat.

### **3. Mode opératoire**

#### **3. 1. Minéralisation**

- La prise d'essai (mélangée avec 10 g de sulfate de cuivre cristallisé [Biochem Chemopharma] et 100 g de sulfate de potassium [Biochem Chemopharma]) est introduite dans un ballon Kjeldhal ou matras avec 15 à 17 ml d'acide sulfurique concentré ;
- Après agitation, les matras sont placés sur le dispositif de chauffage sous une hotte chimique;
- Le mélange acide est porté jusqu'à une douce ébullition; le chauffage est prolongé 30 minutes après décoloration du mélange acide ;

#### **3. 2. Distillation**

- Après refroidissement, 30 à 50 ml d'eau distillée sont additionnés au mélange tout en rinçant les matras ;
- Le contenu du matras est ensuite alcalinisé avec l'ajout de 20 à 30 ml de soude (Biochem Chemopharma, France) concentrée et le matras est adapté aussitôt à l'appareil de distillation ;

- L'allonge du réfrigérant est ajustée de façon à ce qu'elle plonge au fond d'un bêcher dans lequel sont introduits 10 ml de solution d'acide borique avec un indicateur coloré,
- L'entraînement de l'ammoniac commence presque aussitôt et se fait très rapidement et l'indicateur contenu dans le bêcher vire à sa teinte alcaline,

### 3. 3. Titration

- Le mélange est titré avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N jusqu'à virage de l'indicateur à sa teinte acide.

## Annexe 2 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olive (IFRI Olive, Bejaia)

**Tableau I. Huile d'olive vierge**

Déterminations	Résultats	Unités	Normes	Réf. méthodes
Teneur en eau	0,1	% m/m	Max 0,2	NA 272/90
Acidité	1,74	% ac. oléique	Max 3,3	NA 273/90
Indice de peroxyde	11,2	meq/kg	Max 20	NA 274/90
Indice d'iode	88,1	g/100g	75-94	NA 275/90
Densité à 20°C	0,912	/	0,910-0,916	N°11.95.02

ac. : acide, meq. : milliéquivalent, m/m. : masse/masse, Max. : Maximum, NA : Norme Algérienne, N° : Numéro, / : pas d'unité

**Tableau II. Huile d'olive vierge extra**

Déterminations	Résultats	Unités	Normes	Réf. méthodes
Teneur en eau	0,16	% m/m	Max 0,2	NA 272/90
Acidité	0,34	% ac. oléique	Max 3,3	NA 273/90
Indice de peroxyde	86,5	meq/kg	75-94	NA 274/90
Indice d'iode	0,916	g/100g	0,910-0,916	NA 275/90
Densité à 20°C	9,96	/	Max 20	N°11.95.02

ac. : acide, meq. : milliéquivalent, m/m. : masse/masse, Max. : Maximum, NA : Norme Algérienne, N° : Numéro, / : pas d'unité

**Annexe 3. Composition des Milieux de culture utilisés (Guiraud, 2003)****Tableau I :** Bouillon de Roth (pH=6,8)

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Extrait de viande	1,5
Peptone	20,0
Glucose	4,0
Azide de sodium	0,20
NaCl	5,0
Phosphate dipotassique	2,70
Phosphate monopotassique	2,70
Eau	Qsp. 1L

**Tableau II :** Bouillon de Litsky (pH=6,8)

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Polypeptone	20,0
Glucose	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Phosphate monopotassique	2,7
Phosphate dipotassique	2,7
Azide de sodium	0,3
Ethyl-violet	0,0005
Eau	Qsp. 1L

**Tableau III :** Bouillon Giolitti et Cantoni (pH=6,9)

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Tryptone	10,0
Extrait de viande	5,0
Extrait de levure	5,0
Chlorure de lithium	5,0
Mannitol	20,0
Chlorure de sodium	5,0
Glycine	1,2
Pyruvate de sodium	3,0
Eau	Qsp. 1L

**Tableau IV :** Bouillon Sélénite Sodium + Cystine (pH=7,0)

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Tryptone	5,0
Lactose	4,0
Phosphate di sodique (12H <sub>2</sub> O)	10,0
Sélénite de sodium	4,0
L-Cystine	0,01
Eau	Qsp. 1L

**Tableau V.** Bouillon et gélose MRS

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Peptone	10,0
Extrait de Viande	08,0
Extrait de levure	04,0
Citrate d'ammonium	02,0
Hydrogénophosphate de Sodium	02,0
Sulfate de Magnésium	00,2
Sulfate de Manganèse	0,05
Agar	15,0
Tween 80	1 ml
Eau	Qsp. 1L

**Tableau VI.** Bouillon et gélose M17

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Tryptone	05,00
Peptone de Soja	05,00
Infusion de Viande	05,00
Extrait de levure	02,50
Acide ascorbique	00,50
Glycérophosphate disodique	19,00
Sulfate de Magnésium	00,25
Agar	15,00
Eau	Qsp. 1L

**Tableau VII.** Bouillon et gélose nutritive

<b>Composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Peptone	10,0
Extrait de Viande	03,0
Extrait de levure	03,0
NaCl	05,0
Agar	15,00
Eau	Qsp. 1L

**Tableau VIII :** Gélose PCA (pH=7,2)

<b>composant</b>	<b>Quantité (g/l)</b>
Tryptone	5,0
Dextrose	1,0
Extrait de levure	2,5
Eau	Qsp. 1L
Agar	15,0

**Tableau IX : Gélose VRBL (pH=7, 30)**

Composant	Quantité (g/l)
Peptone de viande	7,00
Extrait de levure	3,00
Lactose	10,00
Sels biliaires	2,00
Chlorure de sodium	5,00
Cristal violet	0,002
Rouge neutre	0,03
Eau	Qsp. 1L
Agar	15,00

**Tableau X : Gélose Chapman (pH=7,4)**

Composant	Quantité (g/l)
Extrait de viande	1
Chlorure de sodium	75
Peptone	10
D-Mannitol	10
Rouge de phénol	0,025
Eau	Qsp. 1L
Agar	15

**Tableau XI : Gélose Viande-Foie base (pH=7,4)**

Composant	Quantité (g/l)
Peptone viande-foie	30,0
Glucose	1,0
Amidon soluble	1,0
Citrate ferrique ammoniacal	0,5
Eau	Qsp. 1L
Agar	8,0

**Tableau XII : Gélose Hektoen (pH=7, 6)**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	12,0
Extrait de levure	3,0
Saccharose	12,0
Lactose	12,0
Salicine	2,0
Citrate de fer	1,5
Sels biliaires	9,0
Fuchsine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Eau	Qsp. 1L
Agar	15,0

**Tableau XIII:** Gélose de base à l'oxytétracycline (OGA pH=7,2)

Composant	Quantité (g/l)
Extrait de levure	5
Glucose	20
Eau	Qsp. 1L
Agar	16

**Tableau XIV :** Tryptone-sel

Composant	Quantité (g/l)
Tryptone	1,0
Sel	8,5
Eau	Qsp. 1L

**Annexe 4 : Codification des échantillons de fromage**

**A :** Fromage fabriqué en incluant la souche de *Lb. plantarum* S4, entreposé à 12°C, puis conservé pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge à température ambiante.

**B :** Fromage fabriqué en incluant la souche de *Lb. plantarum* S4, entreposé à 12°C, puis conservé pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge extra à température ambiante.

**C :** Fromage fabriqué sans addition de la souche de *Lb. plantarum* S4, entreposé à 12°C, puis conservé pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge à température ambiante.

**D :** Fromage fabriqué sans addition de la souche de *Lb. plantarum* S4, entreposé à 12°C, puis conservé pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge extra à température ambiante.

**E :** Fromage fabriqué en incluant la souche de *Lb. plantarum* S4, conservé directement pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge à température ambiante.

**F :** Fromage fabriqué en incluant la souche de *Lb. plantarum* S4, conservé directement pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge extra à température ambiante.

**G :** Fromage fabriqué sans addition de la souche de *Lb. plantarum* S4, conservé directement pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge à température ambiante.

**H :** Fromage fabriqué sans addition de la souche de *Lb. plantarum* S4, conservé directement pendant 7 jours dans de l'huile d'olive vierge extra à température ambiante.

**Annexe 5 : Fiche de dégustation**

Age :

sexe :

 M

 F

date :

Huit échantillons de fromage affiné vous sont présentés et codés A, B, C, D, E, F, G, H, il vous est demandé de les goûter et de donner une note de préférence générale se situant entre 1 et 9 pour chacun des échantillons.

a/ Préférence générale :

Echantillons

A 

B 

C 

D 

E 

F 

G 

H 

b/ Descripteurs ayant motivé votre préférence : (mettre une croix dans la case correspondante)

Descripteurs \ Echantillons	A	B	C	D	E	F	G	H
Ferme								
Mou								
Friable								
Visqueux								
Acide								
Amer								
Odeur de chèvre								
Odeur d'huile d'olive								

Barrer la mention inutile :

Q1 : Etes-vous un consommateur de fromage ? Oui Non

Q2 : Si oui est ce que c'est un fromage frais traditionnel ? Oui Non

Q3 : Etes-vous un consommateur d'huile d'olive ? Oui Non

Q4 : Quel est le caractère que vous n'avez pas apprécié le plus dans ces échantillons ? Mentionnez-le.

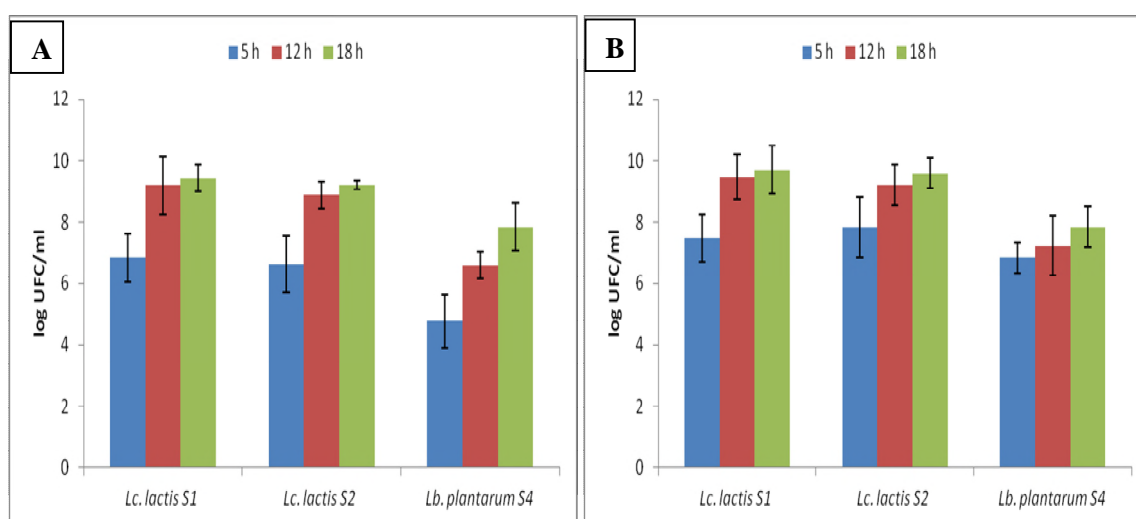
**Merci pour votre participation**



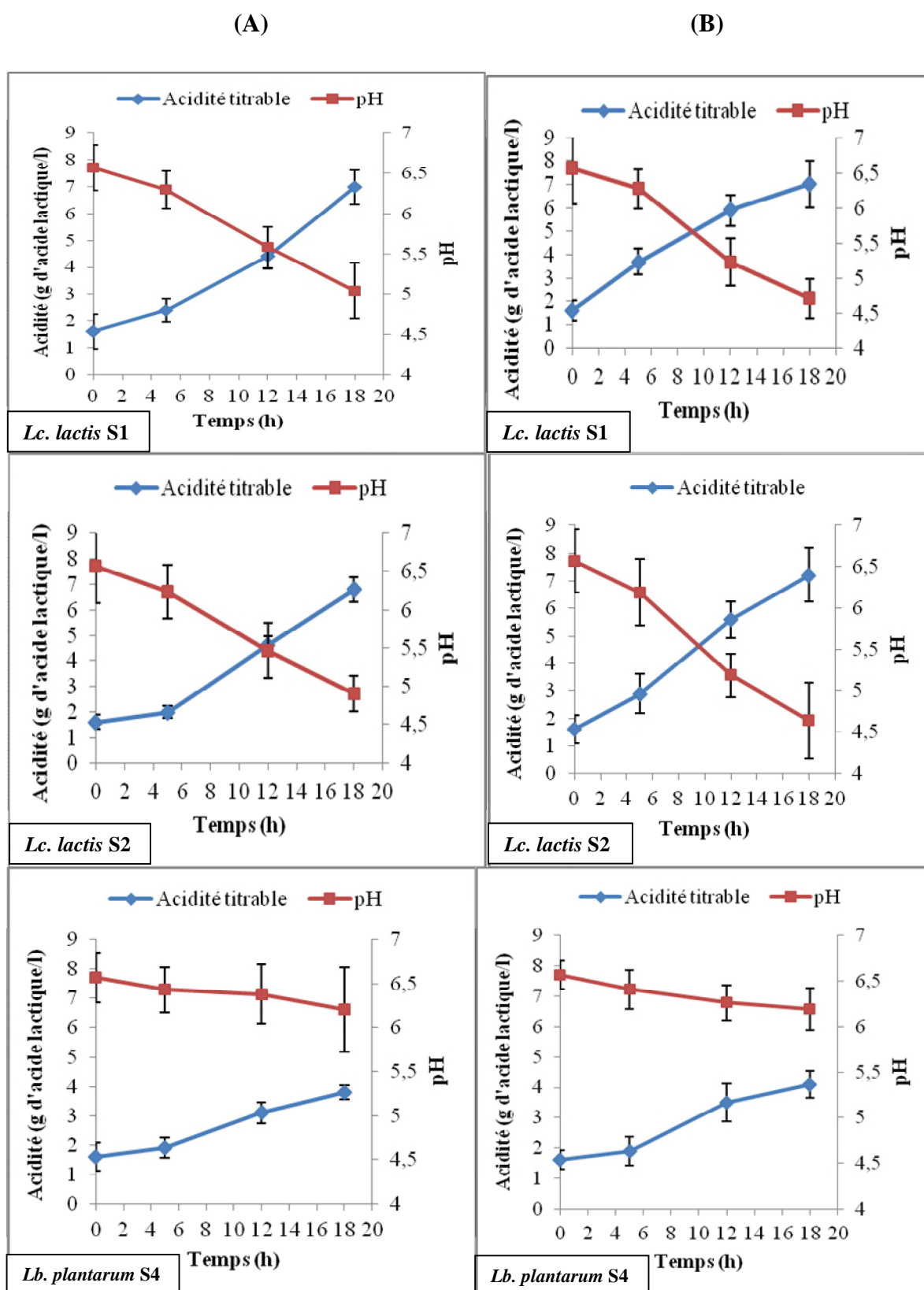
## Annexe 6 : Résultats du suivi de la croissance et de l'évolution de l'acidification des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé

**Tableau I** : Pouvoir acidifiant des cultures mixtes testées dans le lait de chèvre pasteurisé (pH et acidité exprimée en g d'acide lactique /l)

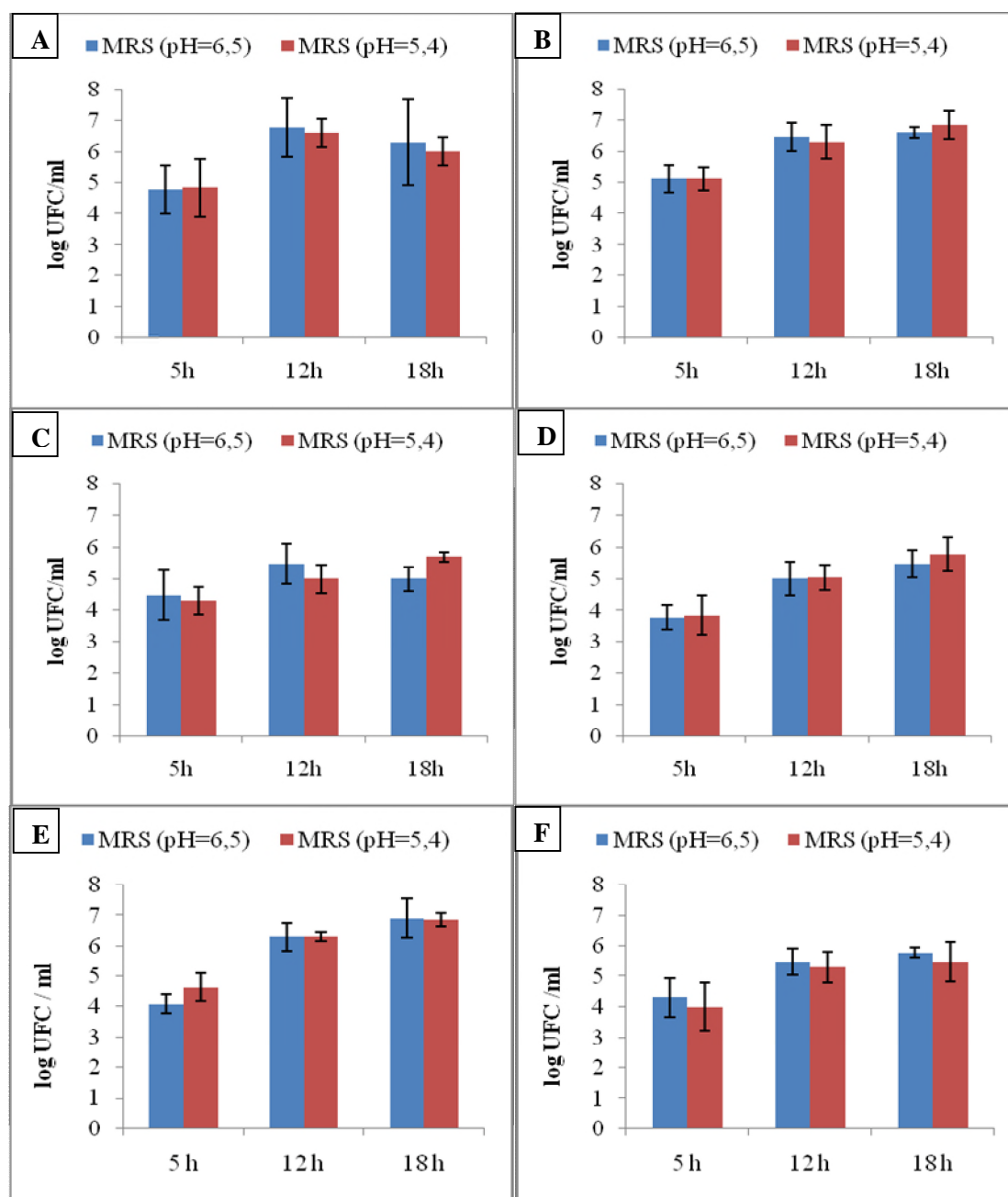
Durée d'incubation combinaison	5 h		12 h		18 h	
	pH	acidité	pH	acidité	pH	acidité
(A)	6,15	2,29	5,07	5,00	4,50	7,62
(B)	6,13	2,26	5,01	5,26	4,51	7,56
(C)	6,01	2,41	4,75	5,41	4,47	7,81
(D)	6,07	2,90	4,67	5,56	4,42	8,00
(E)	5,43	3,80	4,47	5,60	4,35	8,81
(F)	5,08	4,00	4,40	6,20	4,30	9,20



**Figure 01.** Evolution de la croissance des trois souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et de  $10^5$  UFC/ml (B), à intervalles de temps bien définis.



**Figure 02.** Réduction du pH et production d'acide lactique par les trois souches lactiques en cultures pures dans le lait de chèvre pasteurisé inoculées à raison de  $10^3$  UFC/ml (A) et  $10^5$  UFC/ml (B) à intervalles de temps bien définis.



**Figure 03.** Evolution du nombre de cellules de *Lb. plantarum* S4 ( $10^3$  UFC/ml) dans le lait de chèvre pasteurisé, inoculée avec *Lc. lactis* (S1 et S2), à intervalles de temps bien définis (A) combinaison : *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml), (B) *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^3/10^3$  UFC/ml), (C): *Lc. lactis* S1/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml), (D): *Lc. lactis* S2/*Lb. plantarum* S4 ( $10^5/10^3$  UFC/ml), (E): S1/S2/S4 ( $10^3/10^3/10^3$  UFC/ml), (F): S1/S2/S4 ( $10^5/10^5/10^3$  UFC/ml).

## الملخص

استعملت في هذه الدراسة ثلاث سلالات من نوع البكتيريا أحمضية سلالاتان من نوع *Lc. lactis* كمخثرات لبنية و سلالة واحدة من نوع *Lb. plantarum* كبكتيريا غير مخثرة لصنع جبن الماعز الناضج و المحفوظ في زيت الزيتون.

لقد اظهرت دراسة الخصائص التكنولوجية لهذه السلالات الثلاث تأثيرا فعالا ضد البكتيريا الخبيثة و قدرة عالية في تحليل بروتينات الحليب و لكن عدم قدرتها على تحليل الدسم. سمح مزج السلالات الثلاث في الحليب بالحصول على حموضة جيدة بوجود *Lb. plantarum* عليه تخثر جيد للحليب.

التحليل الفيزيوكيميائي و الميكروبي للأجبان المصنوعة بوجود *Lb. plantarum*، المحفوظة في زيت الزيتون لم يظهر أي فوارق هامة بين هذه الأجبان و تلك المصنوعة بدون وجوده. كما أن الحفظ في زيت الزيتون لم يكن له أي تأثير على الخصائص الفزيوكيميائية وتطور المجموعات البكتيرية في الأجبان.

بينت تجربة التذوق إعجاب المتذوقين بالأجبان المصنوعة بوجود *Lb. plantarum* الموضوعة تحت درجة  $12^{\circ}\text{C}$  لمدة 7 ايام و المحفوظة في زيت الزيتون.

**الكلمات المفتاحية :** جبن الماعز، حفظ الأجبان، زيت الزيتون، *Lb. plantarum*.

## Résumé

Trois souches de bactéries lactiques ont été utilisées en tant que levains (*Lactococcus lactis* S1 et S2) et comme non levain (*Lactobacillus plantarum* S4) pour la fabrication d'un fromage de chèvre affiné et conservé dans l'huile d'olive. L'étude du pouvoir antibactérien et des aptitudes technologiques de ces trois souches lactiques a révélé une forte activité antibactérienne vis-à-vis de souches pathogènes et un fort pouvoir protéolytique et acidifiant mais aucune activité lipolytique. L'association des trois souches dans le lait a permis une meilleure acidification du lait en présence de *Lb. plantarum* et par conséquent une bonne coagulation. L'analyse physico-chimique et microbiologique des fromages fabriqués en présence de la souche *Lb. plantarum* S4 conservés dans l'huile d'olive n'a révélée aucune différence significative comparée à ceux fabriqués en son absence. De même, la conservation dans l'huile d'olive n'a pas eu d'influence sur l'évolution des paramètres physico-chimiques des fromages ainsi que sur le développement des différentes flores microbiennes. Des résultats de l'analyse hédonique, il en ressort que les dégustateurs ont bien apprécié les fromages entreposés à 12°C/7 jours contenant *Lb. plantarum* et conservés dans l'huile d'olive.

**Mots clés :** Fromages de chèvre, optimisation, *Lactobacillus plantarum*, conservation, huile d'olive.

## Abstract

Three strains of lactic acid bacteria (LAB) were used as starters (*Lactococcus lactis* S1 and S2) and as non starter (*Lactobacillus plantarum* S4) in the manufacturing of a ripened goat cheese preserved in olive oil. Studies of the antibacterial potential and the technological properties of the three LAB strains showed a strong antibacterial activity against pathogens and a strong proteolytic and acidifying power but none lipolytic activity. The combination of the three strains allowed a better milk acidification in the presence of *Lb. plantarum* and therefore a good coagulation. The physicochemical and microbiological analysis of cheeses produced in the presence of the *Lb. plantarum* S4, preserved in olive oil, has revealed no significant differences compared to those made in its absence. Similarly, the conservation in olive oil had no influence on the evolution of the physicochemical parameters of cheeses as well as the development of different microbial flora. From the hedonic analysis results, it appears that the tasters enjoyed the cheeses maintained à 12°C/7 jours containing *Lb. plantarum* S4 and preserved in olive oil.

**Keywords:** Goat cheese, optimization, *Lactobacillus plantarum*, preservation, olive oil.