

République Algérienne Démocratique & Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Hassiba Ben-Bouali-Chlef-
Faculté des Sciences Agronomiques et Sciences Biologiques

MEMOIRE

Présenté à l'Université Hassiba Ben-Bouali- Chlef- En vue de
l'obtention du Diplôme de Magister en Biologie

Option: Sciences Alimentaires

QUALITE D'UN FROMAGE LOCAL A BASE DE LAIT DE CHEVRE

Présenté par : *Ahlem DAOUDI*

Soutenu le : 12 – 11 - 06

Devant le jury d'examen :

Mr ACHOUR D.	Président	Pr. U.H.B. Chlef
Mr DILMI-BOURAS A.	Promoteur	M de C. U.H.B. Chlef
Mr RIAZI A.	Examineur	M de C. U. Mostaganem
Mr BENSAID A.	Examineur	C de C. U.H.B. Chlef

Année Universitaire : 2005/2006

Louanges à Dieu, Le tout puissant, qui m'a
donné la force et le courage d'avoir
accompli ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

Aux êtres les plus chers à mon cœur, mes parents, qui ont toujours cru en moi et encouragée.

A mes sœurs Ibtissem et Nesrine qui m'ont soutenue durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future.

A toute ma famille, en particulier, Ami Abdelkader, Tata Nacéra et leurs filles Nawal, Lamia, Sihem et Dalal que je considère comme des sœurs.

A mes cousins adorés Kamel et Habib

A ma grand-mère à qui je souhaite une longue et heureuse vie.

A toutes mes amies, en particulier : Fouzia, Fadhéla, Hassina, Naïma, Zohra, Fatima, Rafika, Nadja, Hayet et Houria

A tous mes professeurs, en particulier : mon prof. de sciences Mr Hamidi A .

Ahlem

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser ma profonde gratitude et mes vifs remerciements à toutes les personnes pour leur aide, en particulier :

* Mr. Dr A. DILMI-BOURAS, mon promoteur, maître de conférences et doyen de la faculté des Sciences de la terre et Biologie à l'U.H.B Chlef, pour son soutien, son aide et ses conseils qu'il m'a apportés dans la réalisation de ce travail.

* Mr. Dr D. ACHOUR, professeur à l'U.H.B Chlef, que je remercie pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

* Mr. Dr A. RIAZI, maître de conférences à l'Université de Mostaganem, que je tiens à remercier d'avoir accepté d'examiner ce travail.

* Mr. Dr. A. BENSALID, chargé de cours à l'U.H.B Chlef, que je tiens aussi à remercier d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à :

* L'ensemble des membres du département de biologie surtout Mr M. KOUIDRI, Melle M. KOICHE, Melle M. THABTI, Melle MERZOUK et Mr MAHMOUD pour tout leur aide.

* L'ensemble des membres de l'ORLAC des ARIBBS.

* Mr BOUROUIS (chef de service au laboratoire de contrôle de qualité d'El-Harrach, Alger) pour tout son aide.

Je remercie de façon particulière mes parents pour leurs aides et leurs encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La production du lait de chèvre dans le monde en 1998.....	3
Tableau 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre.....	4
Tableau 3 : Composition moyenne du lait de chèvre.....	5
Tableau 4 : Composition moyenne en g/l et distribution des protéines dans le lait de chèvre.	7
Tableau 5 : Teneur en minéraux et en oligo-éléments du lait de chèvre (mg/l).....	8
Tableau 6 : Teneur en vitamines du lait de chèvre (mg/l).....	9
Tableau 7 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait de chèvre.....	10
Tableau 8 : Flore originelle du lait cru.....	12
Tableau 9 : Les différents genres des bactéries lactiques.....	16
Tableau 10 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des lactocoques.....	17
Tableau 11 : Besoins nutritionnels des lactocoques.....	19
Tableau 12 : Production de diacétyl et d'acétaldéhyde par les lactocoques.....	21
Tableau 13 : Caractéristiques des lactobacilles mésophiles.....	24
Tableau 14 : Production Européenne des fromages de chèvre.....	32
Tableau 15 : Classification des fromages de chèvre (Europe).....	36
Tableau 16 : Les différentes formes des fromages de chèvre.....	37
Tableau 17 : Les fromages définis.....	38
Tableau 18 : Rôle et utilisation industrielle de quelques cultures lactiques mésophiles.....	44
Tableau 19 : Composition en substances énergétiques.....	45
Tableau 20 : Composition minérale des fromages de chèvre.....	47
Tableau 21 : Composition en vitamines de groupe B des fromages de chèvre.....	48
Tableau 22 : Lieux, origine animale et nombre de prélèvements du lait cru.....	49
Tableau 23 : Classement des laits en fonction du test de réduction.....	70
Tableau 24 : Contrôle de la fabrication.....	75
Tableau 25 : Caractères cultureux et morphologiques des souches isolées.....	93
Tableau 26 : Résultats des tests d'identification des lactocoques.....	94
Tableau 27 : Résultats de fermentation des sucres par les lactocoques.....	96
Tableau 28 : Résultats des tests d'identification des lactobacilles.....	98
Tableau 29 : Résultats de fermentation des sucres par les lactobacilles.....	99
Tableau 30 : Evolution de la croissance (D.O) à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.....	115

Tableau 31 : Evolution de la croissance (D.O) à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.....	116
Tableau 32 : Evolution de la croissance (D.O) à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.....	117
Tableau 33 : Résultats de l'activité protéolytique.....	118
Tableau 34 : Résultats de l'activité lipasique.....	120
Tableau 35 : Résultats de l'analyse sensorielle des caillés des cultures pures.....	121
Tableau 36 : Résultats de l'antibiogramme.....	123
Tableau 37 : Résultats de la production d'histamine.....	125
Tableau 38 : Résultats (acidité, densité).....	127
Tableau 39 : Valeurs du pH durant la fabrication du fromage de chèvre.....	128
Tableau 40 : Composition chimique de notre fromage de chèvre.....	138
Tableau 41 : Composition des acides gras du beurre et du fromage de chèvre fabriqué.....	146

Tableaux en annexes :

Tableau 1 : Composition du milieu MRS bouillon (g/l).

Tableau 2 : Composition du milieu M17 bouillon (g/l).

Tableau 3 : Composition du lait tournesolé (g/l).

Tableau 4 : Composition du milieu de base pour fermentation (spéciale pour lactobacilles).

Tableau 5 : Composition du milieu de base pour fermentation (spéciale pour lactocoques).

Tableau 6 : Composition du milieu LTSG (g/l).

Tableau 7 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.

Tableau 8 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.

Tableau 9 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles.

Tableau 10 : Evolution de la croissance des ferments lactiques du fromage pendant le caillage, l'égouttage (*) et le salage (**).

Tableau 11 : Evolution de la croissance des ferments lactiques du fromage en cours d'affinage.

Tableau 12 : Viabilité des ferments lactiques du fromage pendant le stockage.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Triglycérides et acides gras	6
Figure 2 : Morphologie cellulaire de 3 espèces de <i>Lactobacillus</i> observées au microscope électronique (× 6000)	23
Figure 3 : Isolement et purification des lactocoques.....	54
Figure 4 : Isolement et purification des lactobacilles.....	55
Figure 5 : Chèvres de race locale.....	67
Figure 6 : Préparation du levain.....	71
Figure 7 : Fabrication du fromage de chèvre.....	72
Figure 8 : Isolement des lactocoques sur milieu M17.....	91
Figure 9 : Isolement des lactobacilles sur milieu MRS.....	91
Figure 10 : Purification des colonies de lactocoques sur milieu M17.....	92
Figure 11 : Purification des colonies de lactobacilles sur milieu MRS.....	92
Figure 12 : Résultat du test de la croissance à pH 3,9.....	100
Figure 13 : Résultat du test de la croissance à 45°C.....	100
Figure 14 : Résultat du test de lait de Sherman.....	101
Figure 15 : Résultat du test de lait tournesolé.....	101
Figure 16 : Résultat du test d'acétoïne (VP).....	102
Figure 17 : Résultat du test de la croissance sur milieu complexe (TSI).....	102
Figure 18 : Résultat de la fermentation du maltose par les lactobacilles.....	103
Figure 19 : Résultat de la fermentation du cellubiose par les lactocoques.....	103
Figure 20 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l1</i> , <i>Lc. l2</i> , <i>Lc. l3</i> , <i>Lc. l4</i> et <i>Lc. l*</i>	106
Figure 21 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l5</i> , <i>Lc. l6</i> , <i>Lc. l7</i> et <i>Lc. l*</i>	106
Figure 22 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. c1</i> , <i>Lc.c12</i> , <i>Lc. c3</i> et <i>Lc. c*</i>	107
Figure 23 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. dl1</i> , <i>Lc. dl2</i> et <i>Lc. dl*</i>	107
Figure 24 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lb. c1</i> , <i>Lb. c2</i> , <i>Lb. c3</i> , <i>Lb. c4</i> et <i>Lb. c*</i>	108
Figure 25 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l1</i> , <i>Lc. l2</i> , <i>Lc. l3</i> , <i>Lc. l4</i> et <i>Lc. l*</i>	108

Figure 26 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l5</i> , <i>Lc. l6</i> , <i>Lc. l7</i> et <i>Lc. l*</i>	110
Figure 27 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. c1</i> , <i>Lc.c12</i> , <i>Lc. c3</i> et <i>Lc. c*</i>	110
Figure 28 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. dl1</i> , <i>Lc. dl2</i> et <i>Lc. dl*</i>	111
Figure 29 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lb. c1</i> , <i>Lb. c2</i> , <i>Lb. c3</i> , <i>Lb. c4</i> et <i>Lb. c*</i>	111
Figure 30 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l1</i> , <i>Lc. l2</i> , <i>Lc. l3</i> , <i>Lc. l4</i> et <i>Lc. l*</i>	112
Figure 31 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. l5</i> , <i>Lc. l6</i> , <i>Lc. l7</i> et <i>Lc. l*</i>	112
Figure 32 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. c1</i> , <i>Lc.c12</i> , <i>Lc. c3</i> et <i>Lc. c*</i>	113
Figure 33 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lc. dl1</i> , <i>Lc. dl2</i> et <i>Lc. dl*</i>	113
Figure 34 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de <i>Lb. c1</i> , <i>Lb. c2</i> , <i>Lb. c3</i> , <i>Lb. c4</i> et <i>Lb. c*</i>	114
Figure 35 : Résultat de l'activité protéolytique.....	119
Figure 36 : Résultat de la décarboxylation de la lysine (Activité LDC).....	126
Figure 37 : Résultat de la décarboxylation de l'ornithine (Activité ODC).....	126
Figure 38 : Numération des ferments du fromage pendant le caillage, l'égouttage (*) et le salage (**), à 25°C.....	130
Figure 39 : Numération des ferments du fromage en cours d'affinage à 14°C.....	130
Figure 40 : Viabilité des ferments du fromage pendant le stockage à 6°C.....	131
Figure 41 : Valeurs moyennes des notes de chaque descripteur du fromage de chèvre.....	133
Figure 42 : Propriétés organoleptiques de notre fromage de chèvre.....	135
Figure 43 : Les résultats de l'analyse qualitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse.....	141
Figure 44 : Les résultats de l'analyse qualitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse.....	142
Figure 45 : Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse.....	143
Figure 46 : Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse.....	144

Figures en annexes :

Figure 1 : Courbe d'absorption du complexe phosphovanadomolybdique pour une concentration en phosphates égale à 0,025 g / l.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION	1
<u>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
<u>Chapitre I: LE LAIT DE CHEVRE</u>	3
<i>1/ GENERALITES</i>	3
1.1/ Production mondiale du lait de chèvre.....	3
1.2/ Définition et caractères généraux.....	3
1.3/ Caractéristiques physico-chimiques.....	4
<i>2/ COMPOSITION DU LAIT DE CHEVRE</i>	5
2.1/ Eau.....	5
2.2/ Matières grasses.....	6
2.3/ Lactose.....	7
2.4/ Protéines.....	7
2.5/ Minéraux.....	8
2.6/ Vitamines.....	9
2.7/ Système enzymatique.....	10
2.8/ Substances antibactériennes.....	11
2.8.1/ Lactoperoxydase-thiocynate.....	11
2.8.2/ Les agglutinines.....	11
2.8.3/ Lysozyme.....	11
<i>3/ MICROBIOLOGIE DU LAIT DE CHEVRE</i>	11
3.1/ Flore originelle.....	12
3.2/ Flore contaminante.....	13
3.2.1/ Flore d'altération.....	13
3.2.2/ Flore pathogène.....	13

4/ INTERET NUTRITIONNEL ET DIETETIQUE DU LAIT DE CHEVRE	14
<u>Chapitre II</u> : LES BACTERIES LACTIQUES MESOPHILES	15
1/ GENERALITES SUR LES BACTERIES LACTIQUES	15
1.1/ Définition et caractéristiques des bactéries lactiques	15
1.2/ Classification des bactéries lactiques	15
2/ LES LACTOCOQUES	16
2.1/ Définition et caractéristiques	16
2.2/ Classification	18
2.3/ Habitat	18
2.4/ Besoins nutritionnels	18
2.5/ Rôles des lactocoques	20
3/ LES LACTOBACILLES MESOPHILES (Groupe Streptobactérium)	22
3.1/ Définition et caractéristiques	22
3.2/ Habitat	22
3.3/ Biochimie des lactobacilles mésophiles	25
3.3.1/ Métabolisme des sucres	25
3.3.2/ Métabolisme des protéines	25
3.3.3/ Lipolyse et estérolyse	25
3.3.4/ Métabolisme des citrates	25
3.4/ Rôles des lactobacilles mésophiles	26
3.4.1/ Rôles technologiques	26
3.4.2/ Rôles diététique et thérapeutique	27
<u>Chapitre III</u> : FROMAGE	28
1/ HISTORIQUE	28
2/ DEFINITION	28
3/ APTITUDE DU LAIT DE CHEVRE A LA TRANSFORMATION FROMAGERE	29
3.1/ Rôle des constituants majeurs	29
3.1.1/ Eau	29

3.1.2/ Matière grasse.....	30
3.1.3/ Protéines.....	30
3.1.4/ Lactose.....	31
3.1.5/ Minéraux.....	31
3.2/ Incidence du pouvoir tampon.....	31
3.3/ Incidence de refroidissement.....	31
3.4/ Incidence de la pasteurisation.....	32
4/ LES FROMAGES A PARTIR DU LAIT DE CHEVRE.....	32
4.1/ Production des fromages de chèvre.....	32
4.2/ Fabrication.....	33
4.2.1/ Préparation du lait.....	33
4.2.2/ Coagulation.....	34
4.2.3/ Egouttage.....	34
4.2.4/ Salage.....	34
4.2.5/ Affinage.....	35
4.3/ Classification des fromages de chèvre.....	35
4.3.1/ Classification.....	35
4.3.2/ Législation des fromages de chèvre.....	37
5/ PRINCIPAUX PROBLEMES DE FROMAGERIE.....	39
6/ CONTROLE DE LA FABRICATION FROMAGERE.....	40
<u>Chapitre IV</u> : QUALITE DU FROMAGE DE CHEVRE.....	41
1/ QUALITE HYGIENIQUE ET SANITAIRE.....	41
2/ QUALITE SENSORIELLE.....	41
2.1/ Définition et caractéristiques.....	41
2.2/ Propriétés organoleptiques.....	42
2.2.1/ L'apparence.....	42
2.2.2/ La saveur.....	42
2.2.3/ La texture.....	43
2.3/ Evaluation et mesures sensorielles.....	43
2.4/ Rôles des ferments dans l'élaboration de la qualité organoleptique du fromage.....	43

2.5/ Facteurs influençant les qualités organoleptiques du fromage.....	44
3/ QUALITE NUTRIONELLE	45
3.1/ Valeur énergétique.....	45
3.2/ Valeur nutritive des protéines.....	46
3.3/ Eléments minéraux.....	46
3.4/ Vitamines.....	47

PARTIE EXPERIMENTALE

<u>Chapitre I : MATERIELS ET METHODES</u>	49
--	----

<u>Partie 1 : Isolement, purification et caractérisation phénotypique et technologique</u>	49
---	----

1/ MATERIELS	49
---------------------------	----

1.1/ Source d'isolement	49
1.2/ Souches de référence.....	50
1.3/ Milieux de cultures	50
1.3.1/ Milieux d'isolement et de purification.....	50
1.3.2/ Milieux de conservation.....	50
1.3.3/ Milieux de caractérisation phénotypique et technologique.....	50
1.4/ Réactifs chimiques.....	51
1.5/ Solution physiologique de NaCl.....	51

2/ METHODES	52
--------------------------	----

2.1/ Prélèvement du lait.....	52
2.2/ Préparation des échantillons.....	52
2.3/ Isolement.....	52
2.4/ Purification.....	53
2.5/ Conservation des souches.....	53
2.5.1/ Repiquages successifs.....	53
2.5.2/ Congélation.....	53
2.6/ Identification des souches isolées.....	56
2.6.1/ Etude des caractères culturaux.....	56
2.6.2/ Etude des caractères morphologiques.....	56

2.6.3/ Etude des caractères biochimiques et physiologiques.....	57
2.7/ Caractérisation technologique.....	64
2.7.1/ Pouvoir acidifiant.....	64
2.7.2/ Evolution de la biomasse.....	64
2.7.3/ Activité protéolytique.....	64
2.7.4/ Activité lipasique.....	65
2.7.5/ Activité aromatisante et acceptabilité organoleptique.....	65
2.7.6/ L'antibiorésistance.....	65
2.7.7/ La non production d'amines biogènes.....	66
<u>Partie 2 : Fabrication du fromage de chèvre</u>	67
<i>1/ MATERIELS</i>	67
1.1/ Lait de chèvre.....	67
1.2/ Ferments lactiques.....	67
1.3/ Lait écrémé stérile.....	68
1.4/ Présure.....	68
1.5/ Milieux de cultures.....	68
1.6/ Réactifs chimiques.....	68
<i>2/ METHODES</i>	68
2.1/ Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait de chèvre utilisé.....	68
2.1.1/ Analyses physico-chimiques.....	69
2.1.2/ Analyses microbiologiques.....	69
2.2/ Fabrication du fromage de chèvre.....	71
2.2.1/ Préparation du levain.....	71
2.2.2/ Fabrication du fromage de chèvre.....	71
2.2.3/ Contrôle de la fabrication.....	75
<u>Partie 3 : Evaluation de la qualité du fromage de chèvre</u>	75
<i>1/ MATERIELS</i>	75
1.1/ Fromage de chèvre.....	75
1.2/ Solution physiologique de NaCl.....	75
1.3/ Milieux de cultures.....	75

1.4/ Réactifs et produits chimiques pour analyses nutritionnelles.....	76
2/ METHODES	77
2.1/ Détermination de la qualité microbiologique.....	77
2.1.1/ Prélèvement et traitement des échantillons.....	77
2.1.2/ Méthodes d'analyses.....	78
2.2/ Détermination de la qualité organoleptique.....	82
2.2.1/ Choix de l'épreuve.....	82
2.2.2/ Elaboration d'une fiche de dégustation.....	83
2.2.3/ Groupe d'évaluation.....	83
2.3/ Détermination de la qualité nutritionnelle.....	83
2.3.1/ Détermination de la teneur en eau.....	83
2.3.2/ Dosage des protéines.....	83
2.3.3/ Dosage de la matière grasse.....	85
2.3.4/ Eléments minéraux.....	85
2.3.5/ Analyses particulières.....	87
 <u>Chapitre II</u> : RESULTATS ET DISCUSSION	90
 <u>Partie 1</u> : Isolement, purification et caractérisation phénotypique et technologique	90
 1/ ISOLEMENT ET PURIFICATION DES SOUCHES	90
 2/ IDENTIFICATION DES SOUCHES ISOLEES	93
2.1/ Etude des caractères cultureux et morphologiques.....	93
2.2/ Etude des caractères biochimiques et physiologiques.....	93
 3/ CARACTERISATION TECHNOLOGIQUE	104
3.1/ Pouvoir acidifiant.....	105
3.2/ Evolution de la biomasse.....	114
3.3/ Activité protéolytique.....	118
3.4/ Activité lipasique.....	120
3.5/ Activité aromatisante et acceptabilité organoleptique.....	121
3.6/ L'antibiorésistance.....	122
3.7/ La non production d'amines biogènes.....	124

<u>Partie 2</u> : Fabrication du fromage de chèvre	127
<i>1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DU LAIT DE CHEVRE UTILISE</i>	<i>127</i>
1.1/ Analyses physico-chimiques.....	127
1.1.1/ Matière sèche et matière grasse.....	127
1.1.2/ L'acidité titrable et la densité.....	127
1.2/ Analyses microbiologiques.....	128
2/ FABRICATION DU FROMAGE DE CHEVRE	128
2.1/ Ferments (levain).....	128
2.2/ Contrôle de la fabrication.....	128
2.2.1/ Evaluation du pH.....	128
2.2.2/ Evolution des ferments.....	129
<u>Partie 3</u> : Evaluation de la qualité du fromage de chèvre	132
<i>1/ QUALITE MICROBIOLOGIQUE</i>	<i>132</i>
<i>2/ QUALITE ORGANOLEPTIQUE</i>	<i>133</i>
2.1/ Texture (pâte).....	134
2.1.1/ Homogénéité.....	134
2.1.2/ Couleur.....	134
2.1.3/ Fermeté et souplesse.....	134
2.2/ Odeur.....	135
2.3/ Goût.....	136
2.3.1/ Goût acide.....	136
2.3.2/ Goût amer.....	136
2.3.3/ Goût salé.....	136
2.3.4/ Goût typique.....	137
2.4/ Croûte.....	137
<i>3/ QUALITE NUTRITIONNELLE</i>	<i>137</i>
3.1/ Matière sèche.....	138
3.2/ Protéines.....	138
3.3/ Matière grasse.....	139

3.4/ Eléments minéraux.....	139
3.5/ Analyses particulières.....	140
3.5.1/ Acide lactique.....	140
3.5.2/ Azote sous forme aminée.....	140
3.5.3/ Acides gras.....	140
CONCLUSION.....	147
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	148
ANNEXES	
RESUME	

INTRODUCTION

Il est probable que le lait de chèvre en Algérie, comme le lait de vache, soit utilisé traditionnellement par les éleveurs depuis fort longtemps mais sa valorisation industrielle est souvent très restreinte, voir inexistante.

Il ne manque pourtant pas d'atouts ; les recherches en cours commencent à mettre en évidence ses propriétés diététiques (forte teneur en caséine β , hypoallergénicité..) (El Marrakchi et Hamama, 2000).

Le goût chèvre est souvent peu apprécié, jugé trop fort par les consommateurs habitués aux produits de vache. Par contre, dans les pays industrialisés, le lait de chèvre fait d'excellents fromages. Pourquoi pas en Algérie ?

La fabrication fromagère dépend essentiellement du lait mais aussi des ferments nécessaires à sa transformation (Mahaut *et al.*, 2000).

Notre pays, comme la plupart des pays du tiers monde, ne satisfait pas ses besoins en ferments lactiques ; l'industrie laitière a toujours recours à leur importation. Cependant, l'accroissement de la demande rend cette solution trop onéreuse pour un pays en plein développement. La valorisation des souches locales par leur utilisation comme levain industriel, pouvant remplacer ceux utilisées actuellement, est d'un grand intérêt.

La recherche dans ce domaine vise à élaborer un fromage qui présente des caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles identiques ou nouvelles, voir même typiques caractérisant un territoire qui nous est spécifique.

Dans ce contexte, notre étude est répartie en trois parties :

* Isolement, identification et sélection technologique des souches de bactéries lactiques mésophiles locales (lactocoques et lactobacilles), donnant un bon fromage de chèvre.

* Fabrication du fromage de chèvre.

* Evaluation de la qualité du fromage de chèvre que nous avons fabriqué :

- Qualité hygiénique ;
- Qualité organoleptique ;
- Qualité nutritionnelle.

Chapitre I : LE LAIT DE CHEVRE

1/ GENERALITES

1.1/ Production mondiale du lait de chèvre

Le cheptel caprin représente 705 millions de têtes dans le monde. Il est très fortement concentré dans les pays en voie de développement (95 % du cheptel total), notamment en Asie et en Afrique qui possèdent relativement 62 et 29 % du cheptel mondial.

La production du lait de chèvre a suivi une évolution parallèle à celle de la production laitière bovine, cela dans le sens d'un accroissement, puisque dans l'espace de quelques années, sa progression en volume a été voisine de 22 % (FAO, 2002). Le tableau 1 représente la production du lait de chèvre dans le monde en 1998.

Tableau 1 : La production du lait de chèvre dans le monde en 1998.

	En 1000 M.T	% Prod. mondiale	Variation 1990/98
Europe	1841	16	+ 5 %
Afrique	2511	22	- 24 %
Amerique du nord et centrale	144	1	- 1 %
Amerique du sud	184	2	- 1 %
Asie	5942	53	+ 25 %
Monde	11199	100	+ 22 %

Source : FAO, (2002).

1.2/ Définition et caractères généraux

Le lait a été défini lors du premier Congrès international pour la répression des fraudes à Genève, en 1908, comme le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et être exempt de colostrum. (Debry, 2001).

Le lait de chèvre se présente comme un liquide opaque de couleur blanchâtre mate, dû à l'absence de β -carotène. Il est légèrement sucré, d'une saveur particulière et une odeur assez neutre (Alais, 1984).

Le lait de chèvre frais a un léger goût de chèvre dû à la présence d'acide gras caprique, caprylique et caproïque qui donnent au fromage de chèvre son goût si agréable (Jaubert, 1997).

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 (Boyaval *et al.*, 1999).

Le goût dépend aussi de la race caprine. L'une donne un lait au goût plus prononcé que d'autres (Juillard *et al.*, 1996).

1.3/ Caractéristiques physico-chimiques

Le tableau 2 présente les principales caractéristiques physicochimiques du lait de chèvre.

Tableau 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre

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	6.45-6,60
Acidité titrable (°Dornic)	14-18
Tension superficielle du lait entier à 15 °C (dynes cm)	52
Conductivité électrique à 25 °C (siemens)	43-56 x 10 ⁻⁴
Viscosité du lait entier à 20 °C (centipoises)	1,8-1,9
Indice de refraction	1,35-1,46

Source : FAO, (1990).

2/ COMPOSITION DU LAIT DE CHEVRE

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants; ceux-ci sont particulièrement adaptés aux besoins nutritionnels et aux possibilités digestives du jeune animal qui y trouve tous les éléments nécessaires à sa croissance (Piveteau, 1999).

Tout comme le lait de vache, le lait de chèvre est composé de lipides en émulsion sous forme de globules, de caséines en suspension colloïdale, de protéines du sérum en solution colloïdale, de lactose et de minéraux en solution. Le tableau 3 décrit sa composition.

Tableau 3 : Composition moyenne du lait de chèvre.

Constituants	%
Eau	87,1
Matière sèche totale	12,9
Matières grasses	4,1
Matières azotées	3,5
Lactose	4,5
Minéraux	0,8

Source : St-Gelais *et al.*, (1999).

Les principaux constituant de lait de chèvre montrent certaines caractéristiques différentes des constituants du lait de vache (St-Gelais *et al.*, 1999).

2.1/ Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion (FAO, 2002). Il se trouve sous deux formes: l'eau libre (96 % de la totalité) et l'eau liée à la matière sèche (4 %).

L'eau libre par sa mobilité est très réactive, elle autorise l'état de solution du lactose et d'une partie des minéraux et rend le milieu très favorable au développement des microorganismes. L'eau liée est fortement associée aux protéines, à la membrane des globules gras et à certains sels minéraux; elle n'est pas affectée par les procédés classiques de transformation et n'intervient pas dans les réactions chimiques, physiques et enzymatiques (Vignola *et al.*, 2002).

2.2/ Matières grasses

Les matières grasses du lait de chèvre sont constituées de triglycérides et d'acides gras (figure 1) et sont sous une forme globulaire dont le diamètre moyen est d'environ 3 µm tandis que dans le lait de vache, le diamètre moyen est d'environ 6 µm (Wolff et Fabien, 1998).

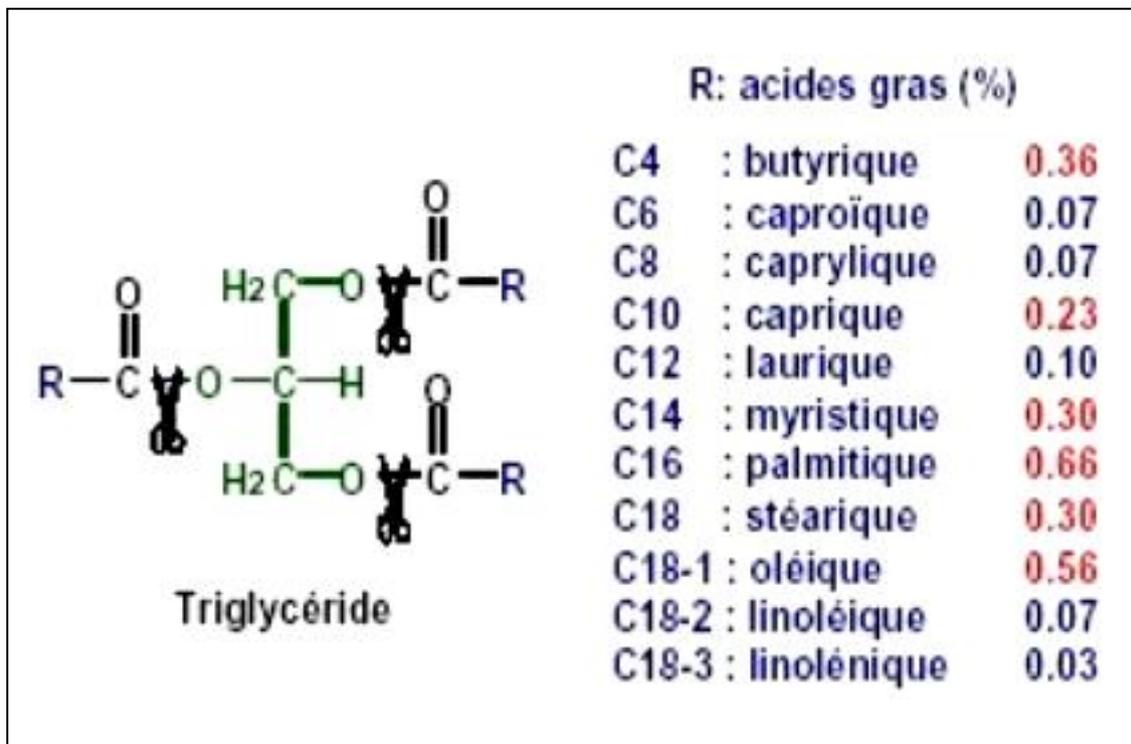


Figure 1 : Triglycérides et acides gras.

Source : Wolff et Fabien, (1998).

En technologie, il est plus facile d'homogénéiser un lait quand les globules gras qu'il contient sont plus petites (FAO, 1990).

Plus le lait de chèvre est riche en gras, plus il contient d'acides gras.

Le lait de chèvre est surtout riche en acide palmitique, oléique, butyrique, myristique, stéarique et caprique. Comparativement au lait de vache, le lait de chèvre contient plus d'acide caproïque, caprylique et caprique. En présence de lipases, ces acides gras peuvent être libérés. Des traitements technologiques, comme par exemple un brassage mécanique, peut briser les globules gras et rendre facilement accessible les triglycérides aux lipases (Vignola *et al.*, 2002).

2.3/ Lactose

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40 % des solides totaux. C'est un diholoside ($C_{12}H_{22}O_{11}$), constitué d'un galactose et d'un glucose. En présence d'une enzyme, la β -galactosidase, la molécule de lactose est coupée en deux pour libérer le galactose et le glucose. (St-Gelais *et al.*, 1999).

D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose, de l'hydrolyse, ainsi que certains glucides combinés aux protéines (Raynal et Remeuf, 2000).

2.4/ Protéines

Le profil en acides aminés totaux du lait de chèvre est proche de celui du lait humain. Par comparaison avec le lait de vache, les protéines du lait de chèvre contiennent proportionnellement moins de caséines (tableau 4) et davantage d'azote non protéique (Brûlé *et al.*, 1997).

Tableau 4 : Composition moyenne en g/l et distribution des protéines dans le lait de chèvre.

Protéines	Concentration g/l
Total des protéines solubles (22%)	7,5
α lactalbumine	2,0
β lactoglobuline	4,4
Albumine sérique	0,6
Immunoglobulines	0,5
Total des caséines (71%)	24,3
Caséine α -S ₁	3,5
Caséine α -S ₂	4,8
Caséine κ	3,4
Caséine β	12,6
Azote non protéique (7%)	2,3
Protides totaux	34,1

Source : Jouan, (2002).

Comme chez la vache, la bêta-lactoglobuline constitue la protéine majeure du lactosérum du lait de chèvre (tableau 4).

La fraction d'azote non protéique (en particulier l'urée) dans le lait de chèvre, représente, comme dans le lait de femme, une proportion bien plus élevée que chez la vache (Daviau *et al.*, 2000).

Les caséines (α , β et κ) en présence de phosphates de calcium forment des micelles de caséines stables (phase colloïdale) qui sont en équilibre avec la phase soluble du lait (Laporte et Paquin, 1999).

2.5/ Minéraux

Le lait de chèvre renferme globalement plus de calcium, magnésium, potassium et phosphore que le lait de vache (Patel et Reuter, 1996). Toutes les matières minérales (tableau 5) ne sont pas en solution, une partie d'entre elles est associée aux protéines. Ces deux formes sont dans un état d'équilibre (Daviau *et al.*, 2000).

Tableau 5 : Teneur en minéraux et en oligo-élément du lait de chèvre (g/l).

Minéraux et oligo-éléments	Concentration g/l
Sodium	0.37
Potassium	1,55
Calcium	1,35
Magnésium	0,14
Phosphore	0,92
Chlore	2.20
Acide citrique	1,10
Fer	0,55
Cuivre	0,40
Zinc	3.20
Manganèse	0,06

Source : St-Gelais *et al.*, (1999).

2.6/ Vitamines

Les deux laits (de chèvre et de vache) comportent la même quantité de vitamine D.

Le lait de chèvre comporte près de deux fois plus de vitamine A que le lait de vache. Elle se retrouve exclusivement sous forme de rétinol. Le rétinol s'avère être la forme la plus active et la plus rapidement utilisable par le corps (Debry, 2001). Le lait de chèvre ne contient que des traces de carotène. Ce déficit en carotène du lait et des fromages de chèvre est à l'origine de leur blancheur caractéristique.

La niacine joue un rôle important dans l'utilisation des protéines, des glucides et des lipides. Le lait de chèvre en contient trois fois plus que le lait de vache et autant que le lait maternel (Adrian *et al.*, 1995).

Le tableau 6 regroupe les données concernant les vitamines hydro et liposolubles.

Tableau 6 : Teneur en vitamines du lait de chèvre (g/l).

Vitamines	Concentration g/l
Vitamine A	0,24
β -carotenes	<0,10
Vitamine E	2,3
Vitamine C	4,20
Vitamine B ₁	0,41
Vitamine B ₂	1,38
Vitamine B ₆	0,60
Vitamine B ₁₂	0,0008
Acide nicotinique	3,28
Acide folique	0,006

Source : FAO, (2002).

2.7/ Système enzymatique

Les enzymes sont des protéines globulaires spécifiques produites par des cellules vivantes (Jouan, 2002). Dans les conditions normales, le lait contient une grande variété d'enzymes. Il y a plus de 100 ans, la première enzyme fut découverte dans le lait de vache : la lactoperoxydase. Par ailleurs, le lait contient de nombreuses cellules étrangères (Leucocytes, microorganismes) élaborant aussi des enzymes, ce qui rend difficile la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs (Debry, 2001).

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température. En effet, chaque enzyme possède un pH et une température d'activité maximale (Vignola *et al.*, 2002). Le tableau 7 résume les principales classes d'enzymes du lait ainsi que leur pH et leur température d'activité maximale.

Tableau 7 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait de chèvre.

Groupes d'enzymes	Classes d'enzymes	pH	Température (C°)	Substrats
Hydrolases	<u>Estérases</u> :			
	lipases	8,5	37	Triglycérides
	phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	phosphatase acide	4-5,2	37	Esters phosphoriques
	<u>Protéases</u> :			
	lysosyme	7,5	37	Parois cellulaires microbiennes
	plasmide	8	37	Caséines.
Oxydases	Sulfhydryle oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8,3	37	Bases puriques.
Oxygénases	Lactoperoxydase	6,8	20	Composés réducteurs + H ₂ O ₂
	catalase	7	20	H ₂ O ₂

Source : Vignola *et al.*, (2002).

Ces enzymes sont donc des facteurs de dégradation des constituants originaux du lait. Elles induisent des modifications sur le plan technologique (Visser, 1993), et certaines jouent un rôle antibactérien et assurent une protection limitée au lait (Alais, 1984).

2.8/ Substances antibactériennes

Le lait possède des propriétés bactéricides vis-à-vis de nombreux microorganismes de contamination (Bourgeois *et al.*, 1996).

2.8.1/ Lactoperoxydase-thiocynase

C'est une enzyme qui est présente dans tous les laits à une teneur de 30 mg/l (Gautier *et al.*, 1999). Elle catalyse, en présence d'eau oxygénée, l'oxydation du thionate en donnant un système lactoperoxydase H₂O₂-thiocynase qui inhibe temporairement quelques streptocoques et tue d'autres (Le Graet et Brule, 1993).

2.8.2/ Les agglutinines

Ces immunoglobulines qui représentent 18,3 % des protéines du lait de chèvre, sont douées de propriétés antigéniques et sont capables d'agglutiner certaines souches de bactéries lactiques : streptocoques du groupe N (Debry, 2001).

2.8.3/ Lysozyme

Sa teneur dans le lait de chèvre est très faible. C'est une protéine basique stable à pH acide même à température relativement élevée (Bergere, 1984). Le lysozyme est important grâce à son rôle immunologique dans la conservation de la qualité du lait (St-Gelais et Savoie, 1993).

3/ MICROBIOLOGIE DU LAIT DE CHEVRE

Une grande majorité des articles médicaux sur le lait de chèvre est consacré à des infections, parfois graves, provoquées par l'utilisation du lait contaminé (Bernnan *et al.*, 2001). Les infections peuvent être parasitaires ou plus souvent microbiennes. La raison la plus fréquente de cette contamination est liée à l'usage de lait cru (Champagne et Moineau, 2003).

On répartit les microorganismes du lait de chèvre, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore originelle et la flore contaminante.

3.1/ Flore originelle

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptique, il devrait contenir moins de 5000 UFC / ml. La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait 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).

Le lait qui sort du pis est pratiquement stérile. Les genres dominant de la flore originelle sont principalement des microorganismes utiles pour la transformation ultérieure du lait frais tel que *Lactobacillus* et *Streptococcus* (flore dite acidifiante ou lactique) (Vignola *et al.*, 2002).

Le tableau 8 présente la liste des microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau 8 : Flore originelle du lait cru.

Microorganismes	%
<i>Micrococcus</i>	20-60
<i>Lactobacillus</i>	20-40
<i>Streptococcus</i> et <i>Lactococcus</i>	< 20
Gram négatif	< 5

Source : Vignola *et al.*, (2002).

3.2/ Flore contaminante

La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte 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).

3.2.1/ Flore d'altération

Les germes de l'environnement trouvent dans le lait un excellent milieu de culture (Novel, 1993).

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

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

Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre (Vignola *et al.*, 2002).

3.2.2/ 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 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 pathogènes majeurs qui sont : *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* sp. .Ces bactéries, si elles sont présentes dans le lait peuvent rendre les fromages insalubres en raison de leur pouvoir pathogène (Guiraud, 1998).

Le conditionnement du lait et la fabrication des produits laitiers nécessitent une bonne maîtrise des sources microbiennes à l'origine des dégradations et des défauts (Vignola *et al.*, 2002).

4/ INTERET NUTRITIONNEL ET DIETETIQUE DU LAIT DE CHEVRE

Depuis des millénaires, on vantait les valeurs thérapeutiques du lait de chèvre. De nombreuses sources mentionnent en effet le traitement de troubles de nutrition des bébés, d'ulcères d'estomac, d'arthrite, d'eczéma et d'allergie (Amiot, 2001).

Le lait de chèvre est une source importante d'énergie, apportant près de 700 kcal / l. Une équipe de pédiatres (Roy, 2003) a montré qu'il était possible de réalimenter à l'aide de lait de chèvre, avec succès, des enfants manifestant une intolérance aux protéines bovines. D'autres travaux ont aboutis aux mêmes résultats (Freud, 1996 ; Corthier, 2004). Le lait de chèvre apparaît souvent comme substitut au lait de vache, notamment chez les enfants atteints de dermatite atopique (Debry, 2001).

La digestibilité des lipides du lait de chèvre est élevée (90 à 95 %), même chez l'enfant ayant une diminution de fonction pancréatique (St-Gelais *et al.*, 1999).

Le lait de chèvre contient de nombreux constituants à des concentrations satisfaisantes pour couvrir certains besoins journaliers (acides gras, vitamines, minéraux.....). Sa richesse en calcium et en phosphore contribue au maintien d'une bonne masse osseuse (Desjeux, 1993).

Chapitre II : LES BACTERIES LACTIQUES MESOPHILES

1/ GENERALITES SUR LES BACTERIES LACTIQUES

1.1/ Définition et caractéristiques des bactéries lactiques

Le terme "bactéries lactiques" désigne des bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des hydrates de carbonés (Desmazeaud, 1983). Elles sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes, ne se développant qu'en présence de substances hydrocarbonées telles que les sucres, les alcools et les acides organiques.

Les bactéries lactiques sont : Gram +, en général immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, catalase – (certaines bactéries possèdent des pseudo-catalases), nitrate (-), se présentent sous forme sphérique, allongée ou en bâtonnet. En outre, elles ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole, ni d'hydrogène sulfureux et seulement quelques espèces hydrolysent faiblement la caséine. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Deroissart et Luquet, 1994).

Selon Dellaglio, (1988) toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique qui en utilisant les glucides peuvent produire :

- L'acide lactique (bactéries homofermentaires)
- L'acide lactique et acétique, l'éthanol, le mannitol et CO₂ (bactéries hétérofermentaires).

1.2/ Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques impliquées dans la production des laits fermentés sont distribuées en plusieurs groupes phénotypiques et génotypiques. Ces groupes sont caractérisés par des différents besoins nutritionnels, métaboliques et propriétés technologiques (Loones, 1994).

Parmi les nombreuses classifications proposées, la plus généralement adoptée avec quelques modifications est celle d'Orla-Jensen (1919), faisant appel, pour différencier ces bactéries, à plusieurs critères comme l'indique le tableau 9.

Tableau 9 : Les différents genres des bactéries lactiques.

Genres	Cellules		Fermentation	ADN GC (%)
	Formes	Arrangement		
Streptococcus	Coque	Chaînes	Homolactique	34-46
Leuconostoc	Coque	Tétrades	Hétérolactique	36-43
Pediococcus	Coque	Tétrades	Homolactique	34-42
Lactobacillus	Bacille	Chaînes	Homolactique Hétérolactique	32-53
Bifidobacterium	Variée	variée	Acétique et lactique	55-67

Source : Novel, (1993).

2/ LES LACTOCOQUES

2.1/ Définition et caractéristiques

Les lactocoques sont des bactéries lactiques mésophiles appartenant à la famille des *Streptococaceae*. Ils se trouvent principalement dans les laits et crèmes fermentés ainsi que dans les fromages où ils sont en quantité dominante.

Les lactocoques se présentent sous forme de coque (habituellement de 1 µm de diamètre) qu'on trouve isolément, en paire ou en chaînes de longueur variable (Desmazeaud, 1996). Ce sont des organismes homo fermentaires ne produisant que de l'acide lactique L (+), anaérobies facultatifs à micro aérophiles (Dellaglio, 1994). Ils se distinguent par la présence, dans leur enveloppe, d'antigène du groupe N, par leur caractère faiblement α-hémolytique et non β-hémolytique, par leur température de croissance minimale inférieur ou égale à 10°C et optimale voisine de 30°C, par leur thermo sensibilité et leur inaptitude à croître en présence de 6,5% de NaCl et à pH 9.6 (Deroissart, 1986).

Les distinctions entre les espèces et les sous-espèces de *Lactococcus* sont données par le tableau 10.

Tableau 10 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des lactocoques.

	Mobilité	VP	Croissance à				Croissance dans NaCl		
			10°C	40°C	45°C	pH 9,6	2%	4%	6,5%
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Lc. raffinolactis</i>	-	v	+	+	-	-	+	+	-

	Résistance 30mn/63°C	Bile	P° de gaz	Esc	Arg	LS	LT	Cit	gélatinase
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	v	+	-	+	-	v	arc	-	-
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	v	+	-/+	v	+	+	arc	+	-
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	v	-	-	v	+	+	arc	+	-
<i>Lc. raffinolactis</i>	v	-	-	v	+	v	/	-	-

	Profils fermentaires								
	Lactose	Maltose	Mannitol	Melibiose	Gala	Sac	Ara	ribose	
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	+	+	-	-	+	v	-	+	
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	+	-	-	-	+	v	-	-	
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	
<i>Lc. raffinolactis</i>	+	v	+	-	+	-	v	+	

Source : Guiraud, (1998).

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; v : variable ; a : acidification ; r : réduction ; c : coagulation.

VP : acétoïne ; LT : lait tournesolé ; LS : lait de Sherman ; Esc : esculine ; Cit : citrate ; Arg : arginine ; P° : production. Gala : galactose ; Sac : saccharose ; Ara : arabinose.

2.2/ Classification

Traditionnellement, les streptocoques lactiques mésophiles ont été rattachés au genre *Streptococcus*. En se fondant sur des critères moléculaires, Schleifier *et al.*, (1987) ont montré qu'il est justifié de créer le genre *Lactococcus*, formé d'espèces nettement distinctes des autres coques à Gram + et à catalase (-). Ces travaux ont d'ailleurs été confirmés par le séquençage de l'ARNr 16 S (Deroissart et Luquet, 1994).

Actuellement, ce genre comporte plusieurs espèces et sous-espèces dont les plus importantes en industrie laitière sont (Guiraud, 1998) :

- *Lc.Lactis subsp .lactis* ;
- *Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis* ;
- *Lc. Lactis subsp. Cremoris*.

2.3/ Habitat

Les lactocoques peuvent être isolés du lait ou des végétaux qui sont probablement leur réservoir naturel. Ces bactéries ne se trouvent pas dans les selles ni dans le sol (Novel, 1993).

Lc.Lactis subsp .lactis qui fut isolée pour la première fois du lait fermenté, est facilement isolée du lait cru (Sandine, 1988) ; on la trouve aussi dans la flore minoritaire du rumen (10^4 cellules / g).

Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis est plus liée aux végétaux (Collins et Gibson, 1999).

Lc. Lactis subsp. Cremoris est plus exclusivement adaptée au lait, mais son isolement est plus difficile (concentration faible) (Sandine, 1985).

2.4/ Besoins nutritionnels

Comme toutes les bactéries lactiques, les lactocoques ont une faible aptitude biosynthétique, ce qui explique leurs exigences du point de vue nutritionnel (tableau 11). Ils utilisent pour leur croissance des éléments complexes carbonés, azotés et phosphatés, ainsi que des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments (Konings, 1994).

Tableau 11 : Besoins nutritionnels des lactocoques.

Substances de croissance	<i>Lc.Lactis subsp.lactis</i>	<i>Lc. Lactis subsp.cremoris</i>	<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>
<u>Acides aminés</u>			
Lysine	-	-	-
Leucine	+	+	+
Histidine	+	+	+
Valine	+	+	+
Cystéine	S	+	S
Aspartate	nd	nd	nd
Glutamate	+	+	+
Isoleucine	+	+	+
Tyrosine	nd	nd	nd
Méthionine	+	+	+
<u>Vitamines</u>			
Vit. B12	+	+	+
Biotine	+	+	+
Niacine	+	+	+
Pantothécate	+	+	+
Riboflavine	+	+	+
Thiamine	+	+	+
Pyridaxol	+	+	+
Acide folique	+	+	+
<u>Acides organiques</u>			
Acide acétique	+	+	+
Acide oléique	+	+	+
Acide orotique	nd	nd	nd
Acide formique	nd	nd	nd
<u>Acides nucléiques</u>			
Hypoxanthines	S	-	-
Adénine	S	S	-
Guanine	S	-	-
Thymine	S	-	-
Thymidine	S	-	-
Uracil	S	-	-

Source : Konnings, (1994).

Symboles :

+ : Essentiel à la croissance, - : Non requise pour la croissance, **S** : Stimulant, **nd** : non déterminé.

2.5/ Rôles des lactocoques

Les lactocoques ont une grande importance dans l'industrie agro-alimentaire et en particulier dans l'industrie de transformation laitière. Ils sont classés en souches acidifiantes : *Lc.Lactis subsp lactis* et *cremoris* et en souches aromatisantes : *Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis* (Novel, 1993).

Ces souches sont utilisées, comme ferments mésophiles, en particulier pour le fabrication de fromages frais : Quarg, Féta, Cottage cheese ; de fromages à pâte molle : Camembert, Brie, Pont Evêque, Coulommiers ; de fromages à pâtes pressées : Cheddar, Gouda, Edam ou des fromages à pâte persillée : Roquefort, Gorgonzola et autres bleus (Fox *et al.*, 1993 ; Loones, 1994). Elles sont utilisées encore pour la préparation du kéfir, du beurre et de certains laits fermentés tel que le viili finlandais (Hermier *et al.*, 1992).

Parmi leurs rôles utiles nous pouvons citer :

* Production d'acide lactique :

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Schmidt *et al.*, 1994).

En pratique, il convient de prendre en considération deux aspects de la production d'acide lactique : la vitesse d'acidification (dépend de la composition du milieu et de la température d'incubation) et le niveau maximale de production. Avec les lactocoques, l'acidité maximale correspond à un pH de 4,5 (Antoine *et al.*, 1993).

* Production d'arômes

Aktypis *et al.*, (1998) admettent que parmi les différents produits de la fermentation lactique, l'acétaldéhyde et le diacétyl jouent un rôle prédominant sur la saveur et l'arôme des produits laitiers. *Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis* est, à cet égard, particulièrement intéressante car elle est apte à produire des quantités importantes de diacétyl et d'acétaldéhyde à partir des citrates (tableau 12).

Tableau 12 : Production de diacétyl et d'acétaldéhyde par les lactocoques

Souches	Diacétyl (µg/ml)	Acétaldéhyde (µg/ml)
<i>Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis</i>	0,60 – 55,0	2,2 – 11,3
<i>Lc.Lactis subsp .lactis</i>	0,05 – 0,10	0,7 – 2,3
<i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i>	0,05 – 2,3	0,3 – 3,7

Source : Schmidt *et al.*, (1994).

* *Production d'agents épaississants*

Le pouvoir épaississant ou filant dans les produits fermentés est exercé par les bactéries lactiques indépendamment du pouvoir acidifiant de ces souches, cette production d'agents épaississants leur confère des caractéristiques rhéologiques particuliers (Girrafa et Bergere, 1987).

Certaines souches de *Lc. Lactis subsp. Cremoris* peuvent produire un exo polysaccharide qui assure l'augmentation de la viscosité (Harteley *et al.*, 1989).

* *Activité protéolytique*

En plus de son action sur la coagulation du lait lors de la croissance des bactéries lactiques, la protéolyse d'origine bactérienne est essentielle à l'affinage des fromages par le développement des saveurs et de la texture (Law, 1984).

Contrairement à *Lc. Lactis subsp. Cremoris* qui dégrade toutes les protéines du lait, la majorité des souches de l'espèce *Lc.Lactis subsp .lactis* assimilent essentiellement la caséine β et pas les caséines α et κ (Aubert, 1998).

* *Activité lipolytique*

L'activité lipolytique des lactocoques dans le lait est faible mais peut contribuer à la saveur des fromages affinés. Cependant ces bactéries hydrolysent, grâce aux lipases, plus facilement les mono et les diglycérides que les triglycérides du lait (FAO, 2002).

Chez *Lc.Lactis subsp .lactis* et son biovar *diacetylactis*, l'activité lipolytique et l'activité estérasique sont à la fois cytoplasmiques et membranaires. Ces activités augmentent en phase exponentielle de la croissance (Novel, 1993).

3/ LES LACTOBACILLES MESOPHILES (Groupe *Streptobactérium*)

3.1/ Définition et caractéristiques

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries (très utilisées en laiterie, fromagerie, dans la fabrication de choucroute.....) (Joffin, 2000).

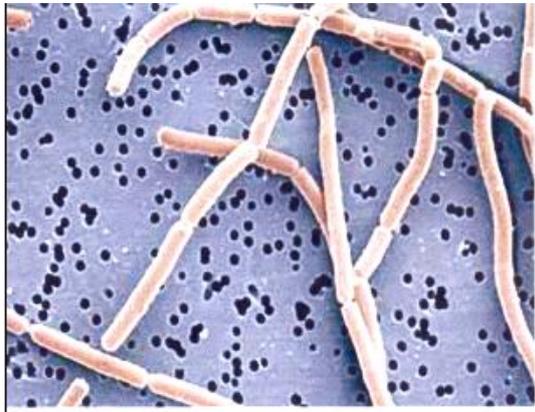
Il s'agit de bacilles souvent allongés, Gram +, asporulés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles. Ils sont catalase (-), benzidine (-), micro-aérophiles ou anaérobies. Ils ont un métabolisme fermentaire produisant de l'acide lactique. Certaines espèces sont homolactique, d'autres hétérolactiques produisant des acides volatils, de l'éthanol et du CO₂ à côté de l'acide lactique. (La figure 2 présente la morphologie cellulaire de 3 espèces de *Lactobacillus* observées au microscope électronique).

Le groupe "Streptobactérium" regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles qui se développent à 15°C (ils peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat). Il comporte les espèces : *Lb. casei* qui est le lactobacille prédominant du lait, *Lb. plantarum* rencontré dans la choucroute, *Lb. curvatus*, *Lb. sake*, *Lb. acetotolerans*, *Lb. graminis*, *Lb.rhamnosus*, etc. (Guiraud, 1998).

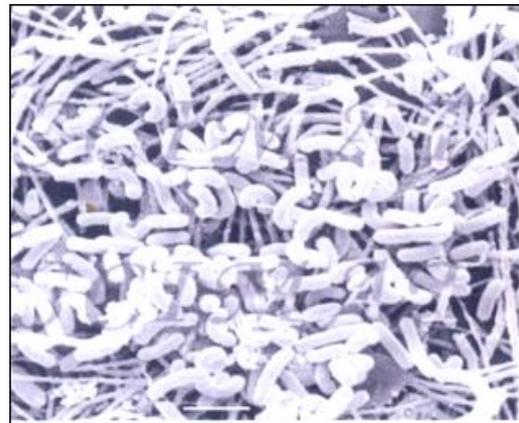
Les distinctions entre espèces du groupe "Streptobactérium" sont données par le tableau 13.

3.2/ Habitat

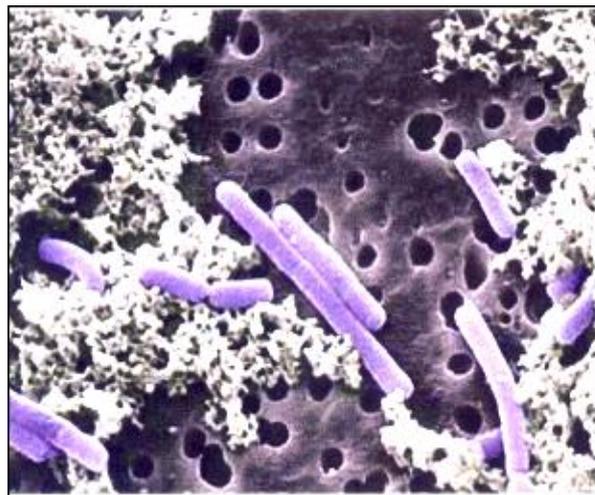
Les lactobacilles mésophiles sont des bactéries classiques du lait et produits laitiers. On les rencontre aussi dans les végétaux, la flore intestinale et la flore vaginale, etc. (l'habitat spécifique de chaque espèce est présenté dans le tableau 13) (Saxelin *et al.*, 1998).



Lactobacillus plantarum



Lactobacillus paracasei



Lactobacillus casei

Figure 2 : Morphologie cellulaire de 3 espèces de *Lactobacillus* observées au microscope électronique ($\times 6000$).

Source : Kostrznka et Klein, (1998)

Tableau 13 : Caractéristiques des lactobacilles mésophiles.

	Habitat	CO ₂ sur glucose	Arginine (NH ₃)	Esc	Culture à		
					15°C	45°C	T 0,4%
<i>Lb. casei</i>	Rumen	-	-	+	+	-	-
<i>Lb. pseudoplatantarum</i>	Fromage, fourrage	-	-	+	+	-	-
<i>Lb. rhamnosus</i>	Bouche, vagin	-	-	+	+	+	-
<i>Lb. tolerans</i>	Tractus intestinal	-	-	-	+	-	-
<i>Lb. curvatus</i>	Rumen, bouche	-	-	+	+	-	nd
<i>Lb. plantarum</i>	Vgx, fro, P carnés	-	-	+	+	v	+
<i>Lb. sake</i>	Végétaux	-	nd	+	+	nd	nd

	Profils fermentaires												
	Ara	Cel	Glu	Lac	Man	Mél	Raf	Rha	Rib	Sac	Tré	Sor	Xyl
<i>Lb. casei</i>	-	+	+	v	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Lb. pseudoplatantarum</i>	-	+	v	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Lb. rhamnosus</i>	v	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. tolerans</i>	-	-	v	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lb. curvatus</i>	-	+	+	v	-	-	-	-	+	v	-	-	-
<i>Lb. plantarum</i>	v	+	+	+	v	+	+	-	+	+	+	+	v
<i>Lb. sake</i>	+	+	+	-	+	+	-	v	+	+	nd	-	+

Source : Guiraud, (1998).

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; v : variable ; nd : non déterminé.

Esc : esculine, **Vgx** : végétaux ; **Fro** : fromage ; **P carnés** : produits carnés. **T** : teepol.

Sac : saccharose ; **Ara** : arabinose ; **Cel** : cellobiose ; **Glu** : gluconate ; **Lac** : lactose ; **Man** : mannitol ; **Mél** : mélibiose ; **Raf** : raffinose ; **Rha** : rhamnose ; **Rib** : ribose ; **Tré** : tréhalose ; **Sor** : sorbitol ; **Xyl** : xylose.

3.3/ Biochimie des lactobacilles mésophiles

3.3.1/ Métabolisme des sucres

Selon Novel, (1993) les sucres utilisés par *Lactobacillus* comme toutes les bactéries lactiques sont fermentés essentiellement en acide lactique.

- Lorsque la fermentation est homolactique, la production de lactate passe par la voie d'emben-Meyerhof-Parnos (EMP).

- Lorsque la fermentation est hétérolactique, la voie employée est celle du pentose phosphate et aboutit à la production de lactate, d'éthanol et éventuellement d'acétate.

3.3.2/ Métabolisme des protéines

Les protéases des lactobacilles mésophiles, en particulier de *Lb. casei* et *Lb. plantarum* sont liées à la paroi, elles assurent la dégradation préférentielle de la caséine β mais toutes les caséines sont touchées (Guiraud, 1998).

3.3.3/ Lipolyse et estérolyse

Les activités lipasiques et estérasiques ont été démontrées chez certain *Lactobacillus* homofermentaires mésophiles comme *Lb. casei* et *Lb. plantarum*.

Les triglycérides contenant des acides gras à chaîne courte sont les plus facilement hydrolysés (Desmazeaud, 1996).

3.3.4/ Métabolisme des citrates

Le citrate seul ne peut être utilisé comme substrat de croissance par les bactéries lactiques, par contre en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote, *Lb. plantarum* et *Lb. casei* utilisent le citrate du lait (Collins et Gibson, 1999).

3.4/ Rôles des lactobacilles mésophiles

3.4.1/ Rôles technologiques

Les lactobacilles mésophiles jouent un rôle fondamental dans plusieurs productions agro-alimentaires :

*** Fabrication de fromages et des laits fermentés**

- *Lb. casei* est le ferment du yukult japonais (type de laits fermentés).

- Des fromages de type Italien (Parmesan, Romano, Grana) contiennent *Lb. casei*, *Lb. acidophilus* et *Lb. plantarum* associées à d'autres ferments (Joffin, 2000).

*** Fabrication de produits carnés**

- La flore prédominante de la fermentation des produits carnés est constituée de *Lactobacillus*.

- *Lb. plantarum* permet d'acidifier la charcuterie et d'empêcher un développement des microorganismes non désirés (Montel et Beuvier, 2003).

*** Fermentation des végétaux**

Les lactobacilles utilisés pour la fermentation des produits végétaux : concombre, choux, olives, etc. sont : *Lb. plantarum*, *Lb. casei* et *Lb. fermentum* (Ferreira et Delf, 1999).

*** L'industrie de la panification**

- Une culture de *Lb. plantarum* et de *Candida tropicalis* à été mis au point en France pour la fabrication de pain au levain.

- Un ferment mixte composé de culture séparée de *Lb. plantarum*, *Lb. delbruekii* et *Lb. leichmanii* est aussi commercialisé pour la fabrication des "soda crackers".

- D'autres espèces de *Lactobacillus* peuvent être isolés des fermentations de panification, *Lb. brevis*, *Lb. casei* associées à d'autres souches bactériennes pourraient servir à la fabrication du ferment industriel (Antoine *et al.*, 1993).

3.4.2/ Rôles diététique et thérapeutique

C'est vraisemblablement Eli Metchnikoff qui, le premier vers 1908, a suggéré d'utiliser les laits fermentés contenant une souche de lactobacille, capable de vivre dans le tractus intestinal, comme composants d'une alimentation utile à la santé humaine (Desmazeaud, 1996). Aussi de nombreux auteurs (Sekin *et al.*, 1994 ; Dilmi-Bouras, 2002 ; Dilmi-Bouras et Sadoun, 2002a) se sont intéressés, d'une part, à l'influence d'une alimentation à base de produits riches en cultures de microorganismes sur l'écologie du tube digestif et, d'autre part, à l'influence sur la santé humaine d'une alimentation avec des produits laitiers contenant des cultures de microorganismes. Actuellement, le yaourt avec ses ferments vivants et les laits fermentés contenant des bifidobactéries et *Lb. acidophilus* ou *Lb. casei* font l'objet de recherches les plus approfondies (Gronlund *et al.*, 1997 ; Jin *et al.*, 1998).

Chapitre III : FROMAGE

1/ HISTORIQUE

Non seulement le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage, de l'ancien français « fromage » (du latin *formaticus*, c'est-à-dire fait dans une forme) (Vignola *et al.*, 2002).

La première occurrence de l'utilisation d'un fromage comme aliment est inconnue. Les technologues tiennent la preuve que l'homme connaît depuis longtemps le phénomène de coagulation du lait depuis la découverte, sur les rives de lac Neuchâtel, de moules à cailler datant de plus de 7000 ans. Cependant, l'origine exacte de la transformation du lait en fromage est incertaine. On s'entend pour dire que le fromage serait originaire du Sud-ouest asiatique et daterait d'environ 8000 ans. Les Romains auraient stimulé le développement de nouvelles variétés durant leur invasion de l'Europe entre 60 av. J-C et 300 apr. J-C (Eck et Gillis, 1997).

2/ DEFINITION

Au plan technologique, le fromage est de la caséine plus ou moins débarrassée des autres constituants du lait et plus ou moins transformée. La norme FAO/OMS n° A-6 (1978, modifiée en 1990) donne la définition suivante : le fromage est le produit frais ou affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu :

- 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;
- 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.

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 caractéristiques du fromage (biochimiques et physiques).
- Le fromage «affiné aux moisissures» est celui dont l'affinage est provoqué essentiellement par la prolifération de moisissures caractéristiques dans la masse et/ou sur la surface du fromage.
- Le fromage «frais ou non affiné» est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après la fabrication.

3/ APTITUDE DU LAIT DE CHEVRE A LA TRANSFORMATION FROMAGERE

Depuis toujours, la transformation du lait en fromage a permis de conserver des éléments nutritifs du lait sur des périodes plus ou moins longues. Elle résulte de la déshydratation partielle du lait, qui concentre de 6 à 12 fois les caséines, la matière grasse et les minéraux (Le Jaouen, 1999).

3.1/ Rôle des constituants majeurs

3.1.1/ Eau

Selon la quantité retenue dans le caillé, l'eau a une incidence directe sur la fermeté du fromage, donc sur la texture. La teneur en humidité des fromages peut être un moyen de classer les fromages (Mahaut *et al.*, 2000). Cette eau est essentielle aux microorganismes et influence leur croissance et, par le fait même, la vitesse de fermentation et d'affinage. Plus la teneur en eau dans les fromages est grande, plus rapide sera l'hydrolyse des caséines, de la matière grasse et du lactose par les enzymes microbiens, ce qui aura également un effet direct sur la saveur du fromage.

Un fromage donné doit avoir, entre autres, une teneur en humidité précise pour qu'il acquière, à un moment précis, les caractéristiques sensorielles recherchées (St-Gelais *et al.*, 1999).

De plus, l'eau est un facteur déterminant de la durée de conservation du fromage (Mietton *et al.*, 1994).

3.1.2/ Matière grasse

Dans les produits laitiers, la matière grasse joue un rôle important. Elle contribue à la saveur et joue un rôle important dans la formation de la microstructure d'un fromage (fermeté). Moins il y a de gras, plus la structure du fromage est ferme.

La matière grasse sert également de véhicule de transport à des composés aromatiques et des vitamines liposolubles (Millet, 2000).

Dans le fromage, les acides gras libérés par l'hydrolyse des triglycérides contribuent au développement de l'arôme et de la saveur en cours d'affinage (Le Jaouen, 1990).

3.1.3/ Protéines

Parmi les protéines, les caséines sont la pièce maîtresse de la fabrication fromagère (Brulé *et al.*, 1997).

En jouant sur la température, le pH et l'ajout de sel, il est possible de modifier l'équilibre micelles-phase soluble. Ainsi, lorsque des bactéries lactiques transforment le lactose en acide lactique, le pH du lait diminue, ce qui décalcifie les micelles de caséines, les déstabilisent et les fait précipiter (fromages de type caillé lactique) (Fox et Mcsweeney, 1996). Il existe une autre manière de déstabiliser les micelles de caséines, c'est en utilisant une enzyme, telle que la chymosine, que l'on retrouve dans la présure de veau. Cette dernière attaque la caséine- κ qui stabilise, sous forme micellaire, toutes les autres caséines.

Dès lors, les micelles deviennent instables puis forment en présence de minéraux un réseau protéique qui gélifie de plus en plus pour former un caillé plus ou moins ferme (fromages de type présure) (Choisy *et al.*, 1997).

La caséine, en formant un caillé lactique ou présure, retient selon le cas plus ou moins de matière grasse, de minéraux, d'eau et d'éléments solubles, ce qui a une incidence directe sur les rendements fromagers.

Les caséines participent également au développement de la saveur du fromage (Caron *et al.*, 1997).

3.1.4/ Lactose

Le glucose et le galactose (provenant de l'hydrolyse du lactose) servent de source de carbones pour les bactéries lactiques. Pendant la fabrication fromagère, la transformation graduelle du lactose en acide lactique fait abaisser le pH du lait, favorise sa coagulation, force la déminéralisation des micelles de caséines, provoque la synérèse du caillé, et inhibe en même temps la croissance de certains microorganismes indésirables (St-Gelais *et al.*, 1999 ; Millet, 2000).

3.1.5/ Minéraux

Outre leur intérêt nutritionnel, les matières minérales jouent un rôle essentiel dans la transformation du lait (Eck et Gillis, 1997).

L'état d'équilibre des formes calciques influe sur les caractères physicochimiques du lait, les dimensions des micelles de caséine, la stabilité et d'une façon plus générale sur le comportement technologique du lait. C'est surtout l'aptitude à la coagulation par la présure qui dépend des teneurs en ions libres et en phosphates de calcium colloïdal (Debry, 2001).

3.2/ Incidence du pouvoir tampon

Le pouvoir tampon d'un lait c'est sa capacité de résister à une diminution de pH en présence d'acide produit par des bactéries lactiques (Lomholt et Qvist, 1999).

Ainsi, plus un lait de fromagerie est riche (caséines, protéines sériques et minéraux), plus son pouvoir tampon est élevé et plus les bactéries lactiques doivent produire de l'acide lactique à partir du lactose pour réussir à abaisser le pH (Fox *et al.*, 1993).

3.3/ Incidence de refroidissement

La durée d'entreposage d'un lait à basse température est tributaire de sa qualité microbiologique.

A basse température, la croissance des microorganismes mésophiles est fortement réduite. Par contre, celle des psychrotrophes n'est que très légèrement ralentie. La synthèse des enzymes continue et ces derniers hydrolysent les caséines et la matière grasse, ce qui a une incidence directe sur les rendements fromagers et peut modifier la saveur du produit fini. Plus on conserve longtemps le lait, plus les dommages risquent d'être importants (Raynal et Remeuf, 2000).

3.4/ Incidence de la pasteurisation

Les traitements thermiques provoquent une baisse significative du pH initial du lait, qui pourrait résulter d'un transfert partiellement irréversible du calcium et du phosphore de la phase soluble vers la phase colloïdale (Scharma *et al.*, 1990).

Plus l'intensité du chauffage est importante, plus la production d'acide lactique est rapide, mais cette influence semble s'atténuer après 24 h d'acidification. Le chauffage peut conduire à la destruction d'inhibiteurs (agglutinines, lactoperoxydase) et à la libération de certains facteurs de croissance, ce qui favorise l'activité des ferments (Desmazeaud, 1996).

4/ LES FROMAGES A PARTIR DU LAIT DE CHEVRE

4.1/ Production des fromages de chèvre

La production des fromages de chèvre augmente d'année en année en respectant la répartition entre la production industrielle et la production fermière (tableau 14).

Tableau 14 : Production Européenne des fromages de chèvre.

Année	Transformation industrielle	% Total	Transformation fermière	% Total	Production totale	Evolution en %
1990	36000	68	17000	32	53000	+ 8 %
1991	39000	69	17000	31	56000	+ 5 %
1992	39000	69	17000	31	56000	0
1993	39000	69	17000	31	56000	0
1994	41000	71	17000	29	58000	0
1996	45000	72	17000	28	62000	+ 6.5 %
1998	51500	75	17000	25	68500	+ 9 %

Source : FAO, (2002).

4.2/ Fabrication

La transformation du lait en fromage comporte, pour la plus grande partie des fromages, trois étapes principales (Kim *et al.*, 1994) :

- coagulation ou formation du gel ou coagulum;
- égouttage ou déshydratation du gel aboutissant à un caillé;
- affinage ou digestion enzymatique du caillé.

4.2.1/ Préparation du lait

Dans de nombreuses fabrications de fromages fermiers, le lait, encore tiède, est mis en coagulation dès la traite, après une simple filtration. Dans certains cas, on laisse le lait reposer quelques heures dans un local frais afin de permettre le démarrage de la flore lactique intervenant dans la coagulation et l'égouttage (Corcy et Lepage, 1991).

A l'usine, la valorisation de ces laits ainsi que la nécessité de produire des fromages de composition régulière et de qualité hygiénique et organoleptique bonne et constante imposent la mise en œuvre d'une matière première dont le comportement est chaque jour identique.

La préparation du lait comprend plusieurs opérations (certaines pouvant être facultatives ou obligatoires selon la technologie, la réglementation, les produits voulus, etc.) :

- * Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge.
- * Standardisation du lait en matières grasses et en matières protéiques.
- * Assainissement du lait qui se fait généralement à l'aide d'un traitement thermique.
- * Maturation qui a pour but d'améliorer le lait en tant que milieu de culture pour les bactéries lactiques et d'amener le lait à son pH optimum d'emprésurage.
- * Analyse et contrôle. (Rouel et Chilliard, 2003).

4.2.2/ Coagulation

La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel de la caséine. En fromagerie, la déstabilisation est réaliée soit par voie fermentaire à l'aide de bactéries lactiques, soit par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure (Caron *et al.*, 1997).

4.2.3/ Egouttage

L'égouttage est le résultat de deux phénomènes physiques différents:

- un phénomène actif, la synérèse, qui est dû à la contraction du gel; il est particulièrement important dans les coagulums présure;
- un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum occlus; cette exsudation spontanée du sérum, est une des caractéristiques des gels lactiques.

La séparation du lactosérum s'accompagne d'une ségrégation des différents composants originels du lait: la plus grande partie de l'eau et du lactose ainsi qu'une fraction de la matière grasse et des protéines sont éliminées par le sérum; la plus grande partie des protéines et de la matière grasse est retenue par le coagulum, dont l'extrait sec croît progressivement à mesure de l'élimination du sérum (Weber, 1997).

4.2.4/ Salage

Il a un triple rôle:

- * il complète l'égouttage et contribue à la formation de la croûte;
- * il règle l'activité de l'eau (A_w) du fromage et par là, favorise, freine ou oriente le développement des micro-organismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage;
- * il révèle la saveur du fromage et masque ou exalte le goût de certaines substances formées au cours de l'affinage (Visser, 1993).

Deux procédés de salage sont utilisés : le salage à sec des fromages par soupoudrage à la main ou à la machine, par frottage ou par incorporation dans le caillé; le salage en saumure généralement saturée (318 g/litre à 20 °C) (Le jaouen, 1999).

4.2.5/ Affinage

A la fin de l'égouttage, le coagulum se trouve sous forme d'un gâteau de volume, de forme et de composition déterminés. Sauf dans le cas où ce coagulum est consommé à l'état frais, il subit alors un affinage (ou maturation) qui va modifier sa composition, sa valeur nutritive, sa digestibilité et ses caractères organoleptiques (aspect, consistance, saveur, odeur) (Eck et Gillis, 1997).

L'affinage correspond à un ensemble de dégradations enzymatiques, simultanées ou successives du caillé. Il est dominé par plusieurs phénomènes biochimiques dont les plus importants sont la fermentation du lactose, la dégradation enzymatique des protéines et l'hydrolyse de la matière grasse. Ces transformations ne s'arrêtent pas au stade primaire, car le ou les produits formés peuvent être à leur tour transformés et donner naissance à de nouveaux composés, eux-mêmes susceptibles d'être repris par d'autres systèmes enzymatiques.

Toutes ces transformations que subit le substrat font évoluer sa texture et sa saveur, qui atteindront un degré optimal après une certaine période d'affinage plus ou moins longue selon le type de fromage (Famelart *et al.*, 2002 ; Buchin et Noël, 2002).

4.3/ Classification des fromages de chèvre

La valorisation du lait de chèvre est presque exclusivement fromagère. La majorité des fromages (91 %) sont « pur chèvre », le reste (9 %) étant « mi-chèvre ». Les fromages fabriqués sont surtout de type lactique (90 %), le reste étant des pâtes molles et des pâtes pressées (Le jaouen, 1999).

4.3.1/ Classification

La diversité des fromages de chèvre et des méthodes de fabrication traditionnelle et industrielle rend la classification difficile. Les fromages de chèvre peuvent être classés en fonction des critères suivants (Kosikowski, 1997) :

- Nature de la matière première ;
- Composition des fromages ;
- Technologie de fabrication ;
- Type de pâte obtenue (minéralisation, EST, pH, etc.....) ;
- Couverture du produit à la consommation (cendré, fleuri, moisi, morgé) ;
- Lieu de fabrication.

Le tableau 15 dresse la classification des fromages de chèvre basée sur leurs caractéristiques de fabrication et d'affinage ainsi que leur aspect extérieur selon les critères habituellement utilisés.

Tableau 15 : Classification des fromages de chèvre (Europe).

	Fromages frais	Fromages à croûte		Fromages à moisissures	
		séchée	Cendrée	Externes	Internes
A coagulation rapide (30 mn à 1 h 30)	- Bourse au lait	- Saint félicien - Tomme de montagne - Sartenais		- Niolo - Chèvre en boîte (type Camembert) - Chevrotton - Mont d'Or - Chevrotin des Aravis - Chevrotin des Bauges - Tomme de chèvre	- Bleus de chèvre - Persillé des Aravis - Persillé du mont Cenis
A coagulation lente (15 à 24 h)	- Tous fromages frais (aux herbes, ail, etc.) à la pièce ou à la coupe ; - Jonchée niortaise - Trois-Cornes.	- Banon - Crottin de chavignol - Maconnais - Briques de forez - Cabecou - Cabrion du Beaujolais - Cachat - Pigouille - Rigotte - Saint Marcellin	- Selles sur Cher - Valençay ; - Croûte lavée-frottée - Calenzana	- Chabichou - Charollais - Couché – Vêrac - Gien - Levroux - Lusignan - Pavé de Touraine - Pouligny Saint Pierre - Rogeret - Saint-Maixent - Sainte-Maure - Valençay - Vezelay - Tournon Saint Martin - Pcodon	

Source : Le Jaouen, (1999)

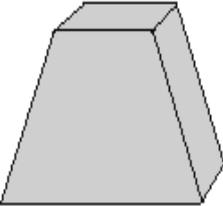
4.3.2/ Législation des fromages de chèvre*** Dispositions particulières**

Les fromages de chèvre doivent présenter un rapport matière grasse / matière sèche (G/S) minimum de 45 % sauf pour ceux qui par dérogation font partie de la catégorie des allégés.

D'autres part, la dénomination mi-chèvre est réservée au fromage dont la matière sèche de la pâte provient à au moins 50 % du lait de chèvre (Mietton, 1995).

Les formes (tableau 16) sont réservées uniquement aux fromages de chèvre.

Tableau 16 : Les différentes formes des fromages de chèvre.

Caractéristiques	Forme
Cylindre de 60 mm de Ø maximum et dont la longueur est comprise entre 100 et 200 mm	
Cylindre de 85 mm de Ø maximum et dont la longueur est comprise entre 50 et 75 mm	
Pyramide ou tronc de pyramide quelque soit la forme de la base ainsi que les dimensions base et hauteur.	

Source : FAO, (2002).

*** Les fromages définis**

Le tableau 17 regroupe les principaux fromages définis en Europe.

Tableau 17 : Les fromages définis.

Appellation	Définition du fromage	G/S mini	M.S mini
Chabis ou Chabichou	Pâte molle obtenue par coagulation lactique non cuite légèrement salée avec moisissures superficielles	45 %	45 %
Chevrotin	Pâte légèrement pressée obtenue par coagulation présure. Couleur jaune orangée à gris avec moisissures superficielles. Forme cylindrique 250 g au moins.	45 %	40 %
Crottin	Pâte molle obtenue par coagulation lactique avec moisissures superficielles. Cylindre de 40 à 60 mm de Ø hauteur 30 à 50 mm.	45 %	40 %
Pelardon	Pâte molle obtenue par coagulation lactique et par égouttage spontané, légèrement salée, avec ou sans moisissures superficielles. Cylindre à bords arrondis.	45 %	40 %
Picodon	Pâte molle obtenue par coagulation lactique et par égouttage spontané, légèrement salée, avec ou sans moisissures superficielles. Cylindre à bords arrondis de 70 mm de Ø hauteur 20 à 30 mm, poids de 70 g.	45 %	40 %
St Maure	Pâte molle obtenue par coagulation lactique et apport d'une faible quantité d'enzymes autorisées, non cuite, légèrement salée, avec moisissures superficielles. Forme cylindre, diamètre 65 mm.	45 %	90 g/ pièce
Valençay ou Levroux	Pâte molle obtenue par coagulation lactique non cuite, légèrement salée, avec moisissures superficielles. Forme en tronc de pyramide à base carrée de 65 mm de coté.	45 %	90 g/ pièce

Source : FAO, (2002).

* Les fromages à appellation d'origine

Depuis des temps très anciens, la qualité et l'origine d'un produit sont intimement liées, pour la réputation des fromages. La responsabilité de cette qualité incombe collectivement à tous ceux qui participent à son élaboration (Le Jaouen, 1990).

L'appellation d'origine des fromages rend obligatoire les quatre idées suivantes :

- Le mot utilisé doit définir sans ambiguïté le produit : nom patronymique ;
- Ce mot doit être emprunté à un nom géographique du lieu de sa naissance : commune, département, région..... ;
- Il doit être caractéristique de certains facteurs liés au terroir (base essentielle de l'originalité du produit) ;
- Enfin le fromage doit être synonyme de haute et régulière qualité.

A partir du moment où un fromage est déclassé, il doit perdre son appellation d'origine. Les fromages de chèvre à appellation d'origine sont actuellement au nombre de huit (FAO, 2002).

5/ PRINCIPAUX PROBLEMES DE FROMAGERIE

La fabrication fromagère repose sur l'utilisation de deux ingrédients complexes et variables : le lait et les ferments. Quant à la présure, son efficacité diminue avec le temps ou dépend des paramètres du milieu. Ces trois facteurs sont à la base même des problèmes de fromagerie auxquels il faut ajouter la complexité, le nombre et la durée des étapes de fabrication. Les défauts les plus généralement rencontrés en fromagerie sont de trois ordres (Vignola *et al.*, 2002) :

- des défauts liés à la qualité et à la préparation de la matière première (facteurs d'inhibition, entreposage....) ;
- des défauts liés à la préparation du caillé, c'est-à-dire de caillage et d'égouttage (coagulation lente, caillé gélatineux, caillé spongieux, caillé trop acide...) ;
- des défauts liés à l'affinage (problèmes des croûtes, problèmes de saveur, problèmes de texture...).

De façon générale, pour éviter les déviations dans le procédé, il faut (Raynal et Remeuf, 2000) :

- soit standardiser rigoureusement les ingrédients pour uniformiser la fabrication ;
- soit contrôler précisément les étapes de la production et les ajuster au besoin.

6/ CONTROLE DE LA FABRICATION FROMAGERE

Il est primordial de noter systématiquement et avec minute sur un registre les données de chaque production en particulier :

- des indications sur la qualité du lait, son pH, sa composition chimique, sa qualité microbiologique et l'absence d'antibiotiques ;
- des indications sur les autres ingrédients, en particulier le type de ferments, son numéro de lot, son mode de préparation, son pH et sa température au moment de son ajout ;
- le pH, la température à chacune des étapes clés de fabrication ;
- des indications sur les textures et toutes observations pouvant entraîner une modification dans la qualité finale du fromage.

Par ailleurs, le respect des normes d'hygiène et de salubrité est, comme pour l'ensemble des produits laitiers, un gage de succès, surtout que l'essentiel de la coagulation et de l'égouttage se déroule dans une zone de températures très propices au développement bactérien (Scharma *et al.*, 1993 ; Eck et Gillis, 1997 et Mahaut *et al.*, 2000).

Chapitre IV : QUALITE DU FROMAGE DE CHEVRE

1/ QUALITE HYGIENIQUE ET SANITAIRE

Le développement des flores de contamination pendant la transformation fromagère, et par conséquent la qualité hygiénique des fromages, est non seulement liée au niveau de contamination du lait mis en œuvre, mais également aux paramètres technologiques utilisés. L'effet déterminant de l'acidification et de la température sur le développement des bactéries indésirables lors de la fabrication de fromages de chèvres a été démontré (Bourgeois *et al.*, 1996).

La directive CE (92/46) précise les règles et les contrôles sanitaires applicables aux fromages. Des critères microbiologiques sont fixés pour la sortie de l'établissement de transformation (Guiraud, 1998) :

- Absence de *Salmonella* et de *Listeria monocytogenes* dans 25 g ;
- Absence d'*Escherichia coli* dans 1 g ;
- *Staphylococcus aureus* < 10/g ;
- Coliformes < 10/g ;
- Coliformes fécaux < 1/g ;
- Streptocoques fécaux < 30/g ;
- Nombre de germes indologènes et putrides < 10²/g.

2/ QUALITE SENSORIELLE

2.1/ Définition et caractéristiques

Le terme "sensoriel" implique en lui-même la mise en œuvre de tout les sens. Pour apprécier un aliment, tout spécialiste commencera par le regarder, le toucher, le sentir puis en fin finira par le goûter.

C'est la même acception qui est attribuée au mot "organoleptique" ce qualificatif n'a semble-t-il que l'honneur d'être plus ancien que le premier (Jaubert, 1997).

Les sens nous permettant d'identifier le produit au moment de l'achat et au moment de l'ingestion. Dans un comportement habituel, nous cherchons une conformité entre l'image sensorielle stockée dans notre mémoire et les perceptions du présent.

Les perceptions sensorielles d'un aliment sont pour celui qui le consomme la signature de l'aliment.

Une caractéristique sensorielle est une caractéristique perceptible par un sujet (avec ses sens). Elle dépend du produit (du stimulus) et du sujet qui la perçoit (le jury) (Hossenlopp, 1994).

2.2/ Propriétés organoleptiques

2.2.1/ L'apparence

La couleur joue un rôle important dans l'évaluation de la qualité d'un aliment. En effet, elle est souvent liée à la présence d'impuretés, à la mise en œuvre appropriée ou défectueuse d'un traitement technologique (Cheftel *et al.*, 1983).

2.2.2/ La flaveur

L'arôme et la saveur des aliments résultent de stimulation simultanée, par un très grand nombre de constituants des aliments, de récepteurs situés dans la bouche et dans la cavité nasale.

La saveur est une sensation produite par certains corps sur l'organe du goût. Le goût siège sur les papilles gustatives de la langue chez l'homme, qui perçoit quatre grandes saveurs de bases : salée, sucrée, amère et acide (Larousse, 1991).

L'odeur de certaines substances volatiles est le mieux perçue lors d'inspirations nasales profondes forçant l'air à passer sur la muqueuse olfactive.

2.2.3/ La texture

Comme les autres propriétés organoleptiques, la texture d'un aliment dépend en partie de l'observateur. Elle détermine souvent l'acceptation, ou le refus, d'un aliment par le consommateur (Budin, 2000).

2.3/ Evaluation et mesures sensorielles

L'évaluation sensorielle est la technique de choix pour étudier les propriétés organoleptiques des denrées alimentaires ou propriétés qui impressionnent les organes sensoriels (Sauvageot, 1994).

Il faut établir un outil d'évaluation pratique, modèle significatif de la réalité, présentant une bonne fiabilité, suffisamment vulgarisée pour pouvoir être utilisable rapidement et à volonté, face aux besoins des situations industrielles courantes (Moriceau et Pikrtty, 1994).

Les propriétés sensorielles se mesure avec les sens, en général avec un groupe de sujets (un jury) pour tenir compte de la viabilité interindividuelle et pour éviter la dépense de la mesure d'un seul sujet aussi expert soit-il (fiabilité) (Hossenlopp, 1994).

2.4/ Rôles des ferments dans l'élaboration de la qualité organoleptique du fromage

Les propriétés fermentaires des bactéries lactiques mésophiles confèrent au produit final ses caractéristiques organoleptiques, telles que la production d'acides, la production de composés volatiles, etc. (FAO, 2002).

Les ferments mésophiles synthétisent divers composés volatils et aromatiques qui interviennent dans la saveur et l'appétence du fromage. Le diacétyl et l'acétaldéhyde étant considérés comme les plus importants. La production de diacétyl est généralement associée à la fermentation du citrate, d'autres composés (acétate, acétoine...) contribuent à l'équilibre et la finesse de la saveur (Visser, 1993).

Les acides gras volatiles (C2, C4, C6 et C8), produits par lipolyse entamée par les lipases des ferments au cours de l'affinage, donnent au fromage son odeur.

Certains acides gras branchés ou à nombre impair de carbones (produits par la dégradation de certains acides aminés) ou l'acide acétique (obtenu de la transformation du lactose) sont aussi responsables de l'odeur, et donc de l'acceptabilité du fromage (Fox et Mcsweeney, 1996 ; Morgan, 2001). Le tableau 18 dresse une liste des rôles des cultures lactiques mésophiles.

Tableau 18 : Rôle et utilisation industrielle de quelques cultures lactiques mésophiles.

Espèce	Emploi en industrie	Rôle
<i>Lc. lactis</i> <i>Lc. cremoris</i>	La plupart des fromages (cheddar, camembert, gouda, mozzarella, parmesan, certains types suisse, cottage, fromages frais, bleu, feta, quarg.), crème sure, beurre et babeurre de culture	Acidification au cours de la production (contribue à la synérèse, décalcification des caséines et influence conséquente sur la texture, inhibition des pathogènes). Protéolyse en cours de maturation ; amertume si cette protéolyse n'est pas contrôlée.
<i>Lc. diacetylactis</i>	Fromages (gouda, bleu, camembert), crème sure, beurre et babeurre de culture	Comme pour <i>Lc. lactis</i> mais, en plus, fermentation du citrate avec production d'arômes. Production de gaz (peut même générer des ouvertures).
<i>Lb. casei</i>	Yaourt, cheddar, yakult	Un peu d'acidification au cours de la production. Inhibe le développement de lactobacilles hétéro fermentaires (cheddar). Accélération de la maturation (cheddar). Prévention de l'amertume. Contribue au caractère probiotique.

Source : Mahaut *et al.*, (2000).

2.5/ Facteurs influençant les qualités organoleptiques du fromage

La qualité sensorielle des fromages dépend d'un grand nombre de facteurs liés à la fois à la technologie de fabrication et aux caractéristiques chimique et microbiologique de la matière première mise en œuvre. Ces dernières dépendent elles même de nombreux facteurs d'amont (origine génétique, physiologique, alimentaire.....) (Gaborit *et al.*, 2001).

Il s'avère que les différents traitements technologiques du lait sont plutôt favorables à la texture du produit fini, à son arôme et à la croissance des bactéries lactiques responsables de son élaboration (Desmazeaud, 1996).

3/ QUALITE NUTRITIONELLE

3.1/ Valeur énergétique

La valeur énergétique d'un fromage est donnée par sa teneur en : lipides, protides, glucides et aussi en acide lactique. Ces substances représentent la majeure partie de la matière sèche. Les teneurs en eau et en matière grasse conditionnent la valeur énergétique, elle est de 79 à 206 kcal/100g pour les fromages frais, à 465 kcal/100g pour les fromages à pâte ferme (moins de 35% d'eau), ces résultats sont donnés dans le tableau 19 (Eck et Gillis, 1997).

Tableau 19 : Composition en substances énergétiques (quelques types de fromages de chèvre).
(Pour 100g de partie comestible).

	Valeur Énergétique (kcal)	Matière Sèche (g)	Protides (g)	Lipides (g)	Glucides (g)
Crottin	351	30-76	14-18	16-43	0.01-0.2
Pouligny stpie rre	345	39-63	19-25	20-36	Traces
Selles sur-cher	325	39-67	15-19	20-40	0,3-0,5
Sainte – Maure	347	59	18-24	28-29	Traces
Chabichou		40-68		21-36	Traces
Randoin	280-380	38-63	16-33	15-37	0,01-0,5
Faisselle	79	15-16	4,7	0,6	1,5

Source : Eck et Gillis, (1997).

Ainsi dans une certaine mesure, un verre de lait peut être remplacé par 15g de fromage de chèvre. Avec une teneur faible en lactose, l'essentiel des calories provient des lipides (Labelee, 1985).

3.2/ Valeur nutritive des protéines

La valeur alimentaire du fromage vient essentiellement des protéines et des minéraux qu'il apporte à l'organisme. Le fromage de chèvre constitue une source d'excellents protides, sous forme de caséine (35 g de fromage vaut environ 50 g de viande) (Jouan, 2002).

La digestibilité des protéines du fromage est de 95%, très voisine de celle de l'œuf et du même ordre que celles des protéines de la viande. Elles sont presque intégralement absorbées au niveau de l'intestin (Labelee, 1985).

La composition en acides aminés des fromages par rapport à la protéine de référence est idéale, à l'exception de la méthionine et la cystéine qui sont des acides aminés limitants de certains fromages à pâtes molles. Ce léger déficit en acides aminés soufrés se trouve très facilement compensé en alimentation par les céréales (Visser, 1993).

3.3/ Eléments minéraux

Les fromages de chèvre ont une forte teneur en éléments minéraux (Jouan, 2002). Les différents teneurs en ces éléments sont donnés dans le tableau 20.

Ils sont des aliments recalifiants, à cause de leur teneur appréciable en calcium et en phosphore ; respectivement : 100 à 800 mg de Ca/ 100g et de 90 à 650 mg de P/ 100g de fromage. Cette teneur varie considérablement selon le pH du lait, la matière première et les procédés technologiques (Mahaut *et al.*, 2000).

Le rapport calcium/phosphore de 1,4 dans le lait reste à peu près équivalent dans la plupart des fromages, sauf dans les fromages à caillage lactique, à égouttage lent où il est de 1,2, le phosphore restant plus lié aux matières organiques.

Il a été constaté que, pour la plupart des fromages, la croûte et la partie périphérique sont plus riches en éléments minéraux que la zone centrale (Vignola *et al.*, 2002).

Tableau 20 : Composition minérale des fromages de chèvre.

(Mg/ Pour 100g de partie comestible).

	Sodium	Potassium	Calcium	Magnésium	Phosphore	Chlore
Crottin	443	300	206	16	140	2020
Pouigny st pierre	340		138	19		
Selles sur-cher	633		99	13		
Sainte – Maure	1440		180	18		
Chabichou	660	240	300	36	180	
Fromage de chèvre frais (> de 80% d'eau)	64		108	13		
Fromage de chèvre frais (60 à 80% d'eau)	326		91-208	13-15		
Fromage de chèvre moyen (35 à 60% d'eau)	340- 1440		240-750	12-25	190-500	1596- 3812
Fromage de chèvre sec (moins de 35% d'eau)	790		800	26	620	

Source : Eck et Gillis, (1997).

3.4/ Vitamines

Les vitamines liposolubles A, D, E des fromages sont fonction de la teneur en matière grasse du lait utilisé comme matière première, de l'adjonction de la crème et de la concentration en matière sèche réalisée lors de l'égouttage (Bugaud *et al.*, 2002). La saison à laquelle le lait a été produit joue également un rôle : les fromages fabriqués avec des laits de printemps ou d'été ont une activité vitaminique meilleure que ceux issus de lait d'hiver.

Quant à la teneur en vitamines hydrosolubles, elle varie considérablement suivant les fromages, comme le montre le tableau 21. Cette teneur est le résultat de deux facteurs opposés : la perte qui survient au moment de l'égouttage et l'enrichissement en cours d'affinage (Eck et Gillis, 1997).

D'après les valeurs données en littérature, les fromages de chèvre comme tous les autres fromages, peuvent être considérés, comme de bonnes sources de vitamines du groupe B (Vignola *et al*, 2002).

Tableau 21 : Composition en vitamines du groupe B des fromages de chèvre.

(Mg/ Pour 100g de partie comestible).

	Thiamine	Riboflavine	Niacine	Inositol
Crottin	0,09	0,82	1,24	
Poulligny st pierre	0,09	1,03	2,05	5,1
Selles sur-cher	0,047-0,057			7,5
Sainte – Maure	0,08	0,53	1,00	2,2
Fromage de chèvre frais (> de 80% d'eau)	0,04	0,24	0,26	14,5
Fromage de chèvre frais (60 à 80% d'eau)	0,06-0,08	0,31-0,52	0,05-0,72	10-11
Fromage de chèvre moyen (35 à 60% d'eau)	0,05-0,14	0,42-1,22	0,43-2,8	2,2-11
Fromage de chèvre sec (moins de 35% d'eau)	0,14	1,19	2,4	

Source : Eck et Gillis, (1997).

Chapitre I : MATERIELS ET METHODES

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de microbiologie du lait du département de biologie, de l'Université Hassiba Ben Bouali Chlef et à l'ORLAC des ARIBBS (Arib, W- Ain Defla).

Partie 1 : Isolement, purification et caractérisation phénotypique et technologique

1/ MATERIELS

1.1/ Source d'isolement

Les souches de bactéries lactiques mésophiles (lactocoques et lactobacilles) ont été isolées à partir du lait de vache, de chèvre et de brebis provenant de différentes fermes de Ain-Defla et Chlef.

Le tableau 22 présente le nombre de prélèvements effectués en fonction de chaque région et selon l'origine animale.

Tableau 22 : Lieux, origine animale et nombre de prélèvements du lait cru.

Région	Lieu	Origine animale	Nombre de prélèvements
AIN-DEFLA	Khemis-Miliana	Vache	2
		Chèvre	3
	Arib	Vache	1
		Chèvre	2
		Brebis	2
	El-Amra	Vache	2
		Chèvre	2
	El-Attaf	Vache	3
Chèvre		3	
CHLEF	Oued Fodda	Vache	2
	Chlef (centre ville)	Vache	2
		Brebis	2
	El-Firme	Vache	1
		Chèvre	3
		Brebis	2
Tènes	Chèvre	3	

1.2/ Souches de référence

- *Lc. l**, *Lc. c**, *Lc. dl** sont des souches industrielles (référence : CHR – AMD - France) fournies par la laiterie des ARIBBS.

- *Lb. c** est une souche isolée et identifiée au laboratoire de lactologie de l'Université de Pamplona - Navarra Espagne.

1.3/ Milieux de cultures

1.3.1/ Milieux d'isolement et de purification

* **Milieu M17** (gélose et bouillon)

Le milieu M17 (ou milieu de Terzagli, référence : DIFCO 218561), est préconisé pour la recherche des lactocoques (composition en annexes).

* **Milieu MRS** (gélose et bouillon)

Le milieu MRS (De Man Rogosa et Charp, référence : AEB 140652), est le plus connu pour la recherche et l'isolement des lactobacilles (composition en annexes).

1.3.2/ Milieux de conservation

Les milieux utilisés sont :

- *Gélose M17 et MRS (selon la souche), pour une conservation à courte durée (10 à 15 j).
- *Milieu LTSG pour une conservation à longue durée (plusieurs mois).

1.3.3/ Milieux de caractérisation phénotypique et technologique

- * Gélose au sang pour l'étude du caractère hémolytique.
- * Lait écrémé.
- * Milieux de la galerie biochimique.
- * Milieux de caractérisation technologique.

1.4/ Réactifs chimiques

- * Acide chlorhydrique (HCl).
- * Alcool.
- * Amidon.
- * Antibiotiques (penicilline V, oxacilline, ampicilline, érythromycine, dextrothymocycline).
- * Citrate de sodium.
- * Disques OX.
- * Disques d'ONPG.
- * Eau oxygénée.
- * Fuschine de Ziehl.
- * Indicateurs de pH.
- * Lugol.
- * NaCl.
- * NaOH.
- * Quelques acides aminés (L-histidine, arginine).
- * Réactif de Nessler.
- * Sang de cheval.
- * Sels biliaires en poudre (référence : 4054, Merck).
- * Sucres.
- * Teinte de tournesol.
- * Tellurite de potassium.
- * Violet de Gentiane.
- * VP I et II.

1.5/ Solution physiologique de NaCl

Cette solution physiologique est utilisée comme diluant dans la préparation des différentes dilutions décimales (9g de NaCl / 1 d'eau distillée).

2/ METHODES

2.1/ Prélèvement du lait

Le lait cru doit être traité avec un grand soin, afin d'éviter toute contamination qui peut influencer la flore lactique. Pour cette raison, les mains du fermier et les mamelons sont désinfectés avec de l'eau javellisée.

Le lait est recueilli dans des flacons de 250 ml stériles placés tout près du mamelon, ensuite les échantillons sont soigneusement étiquetés (espèce, lieu, date..) et soumis à une réfrigération immédiate à 4°C.

2.2/ Préparation des échantillons (Dilutions décimales)

- Agiter pendant 10 secondes le flacon contenant le lait à diluer ;
- Prélever 1 ml de lait à l'aide d'une pipette graduée stérile ;
- Introduire aseptiquement le volume prélevé dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique ;
- Agiter puis transférer 1 ml de ce premier tube dans le deuxième ;
- De la même façon, des dilutions décimales successives sont effectuées (jusqu'à 10^{-5}).

2.3/ Isolement

Les techniques d'isolement sont basées sur l'obtention d'un clone, c'est-à-dire d'une culture issue d'une seule cellule.

Les méthodes utilisées pour la numération des micro-organismes en milieu solide peuvent être employées. Elles sont basées sur les dilutions et les étalements. Elles ont l'avantage de coupler isolement et comptage de la flore et de permettre la réalisation de prélèvement de colonies qui soient statistiquement significatifs (Guiraud, 1998).

L'isolement est effectué le jour même de la réception des échantillons. Les boîtes de Pétri sont inoculées (ensemencement en masse) à partir des trois dernières dilutions (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) puis incubées à 30°C pendant 48 heures.

2.4/ Purification

La purification consiste à effectuer des repiquages successifs sur bouillon spécifique (selon la souche) jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes.

La purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode de stries.

La pureté des souches est contrôlée par microscopie après coloration de Gram avec une recherche de la catalase après chaque repiquage.

Les bactéries Gram positif et catalase négative sont retenues.

Les figures (3 et 4) illustrent la démarche de l'isolement et la purification des lactocoques et lactobacilles.

2.5/ Conservation des souches

2.5.1/ Repiquages successifs

Cette méthode est utilisée pour une conservation des souches à courte durée. Les souches pures sont cultivées sur gélose appropriée et conservées à 4°C. La vitalité des souches se maintient pendant des durées variables (selon la souche). Au bout de ce délai, un nouveau repiquage est réalisé.

2.5.2/ Congélation

Elle est employée pour une conservation des souches de un à plusieurs mois. Elle s'effectue en congelant des cultures jeunes, non incubées ensemencées massivement sur milieu LTSG (dont le glycérol joue le rôle d'un cryoprotecteur, composition en annexes) (Champagne *et al.*, 2000).

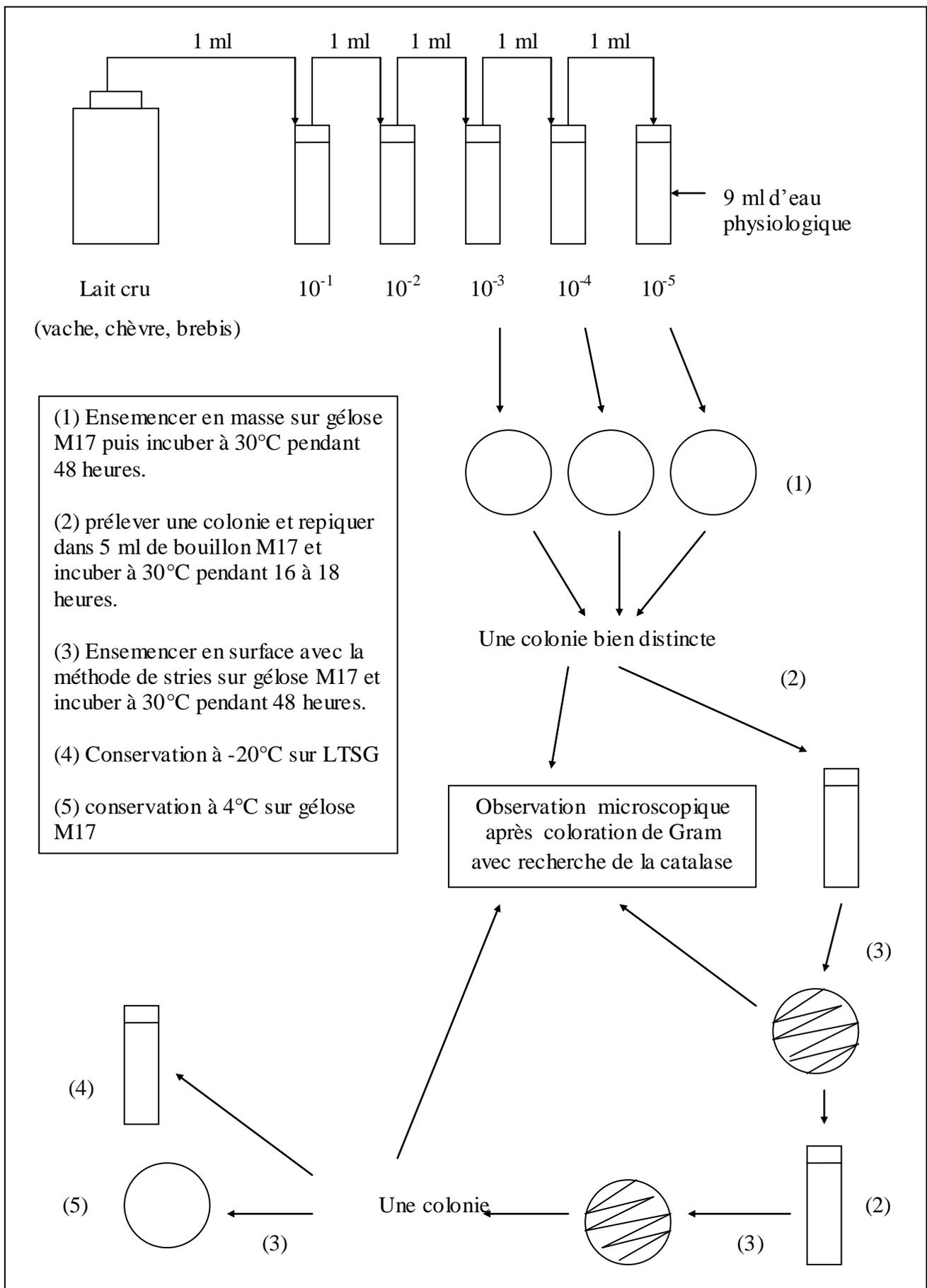


Figure 3 : Isolement et purification des lactocoques.

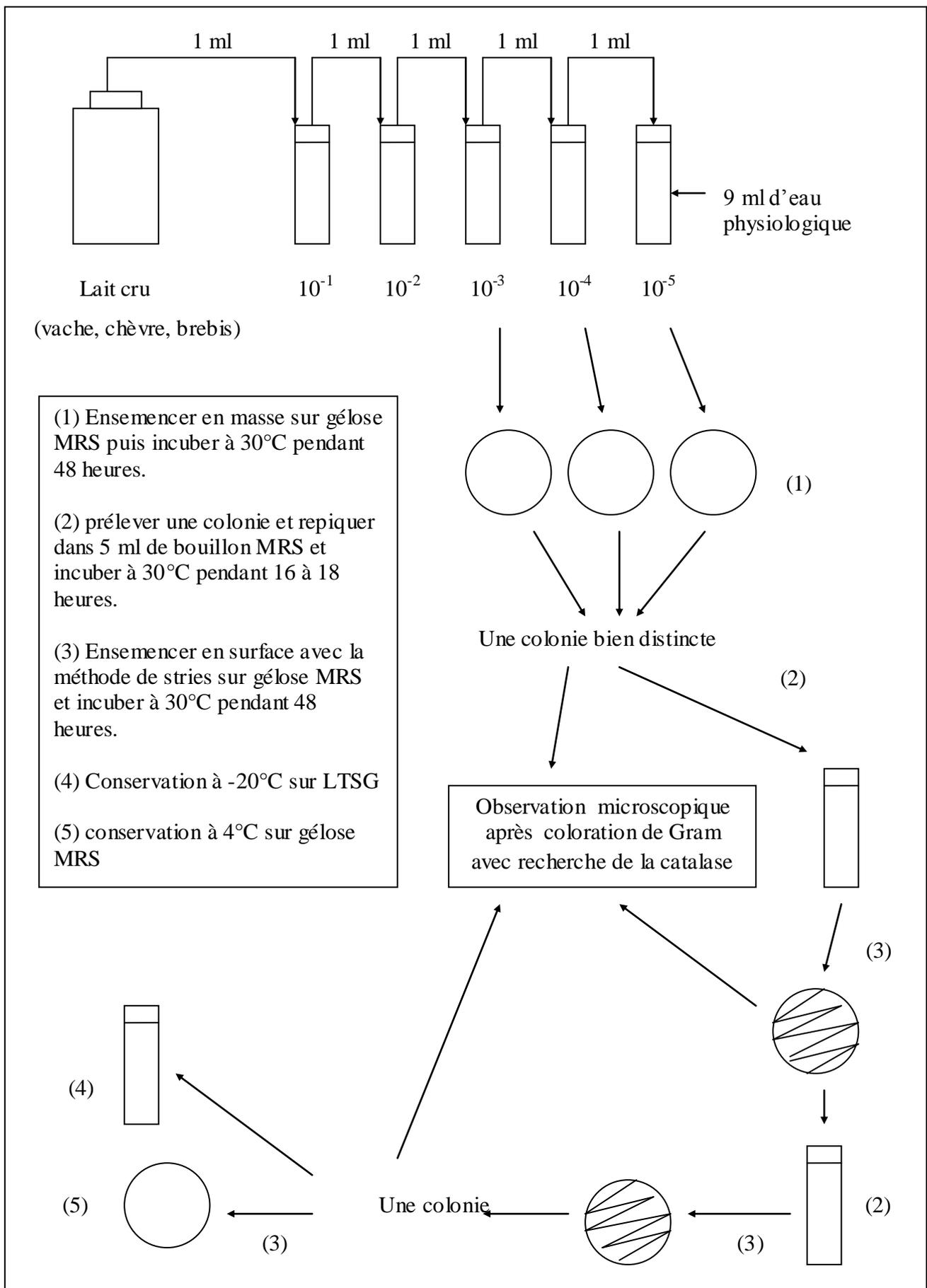


Figure 4 : Isolement et purification des lactobacilles.

2.6/ Identification des souches isolées

Depuis la découverte des bactéries, les microbiologistes ont surtout disposé de techniques d'identification limitées à l'expression de plus en plus précise de leurs propriétés phénotypiques.

Les caractéristiques générales qui permettent de différencier les souches de bactéries lactiques sont ceux préconisés par : Leveau et Bouix, (1980) ; Deroissart, (1986) ; Novel, (1993) ; Desmazeaud, (1996) ; Guiraud, (1998) et Bernnan *et al.*, (2001).

2.6.1/ Etude des caractères culturaux

Ce test consiste à une observation directe (à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire) des colonies obtenues sur milieux gélosé MRS et M17.

Il permet de renseigner sur la forme, la taille, l'aspect, la consistance, l'odeur, le contour et la couleur des colonies étudiées.

2.6.2/ Etude des caractères morphologiques

Cette étude s'effectue par examen microscopique. Elle permet d'observer la morphologie des cellules : leur taille, leur mode de regroupement et leur caractères structuraux.

L'étude morphologique des bactéries nécessite la préparation d'un frottis coloré.

*** Frottis**

Le frottis consiste en un étalement de la substance à étudier sur une lame propre, suivi d'un séchage, d'une fixation et éventuellement d'une coloration.

*** Coloration**

La coloration différentielle la plus connue est celle de Gram, qui permet de diviser les bactéries en deux grands groupes Gram + et Gram -.

La méthodologie est la suivante :

- Quelques gouttes de solution aqueuse de violet de gentiane sont répandues sur le frottis puis l'excès de violet est jeté après une minute d'action.
- Le frottis est ensuite recouvert de lugol de Gram ; cette liqueur prend une teinte mordorée ; on la jette au bout de quelques secondes et on répète l'opération 1 ou 2 fois jusqu'à ce que la pellicule mordorée n'apparaisse plus.
- La lame est ensuite décolorée à l'alcool absolu goutte à goutte en l'inclinant au-dessus de l'évier, jusqu'à ce que l'alcool ajouté n'ait plus d'action décolorante.
- Après lavage à l'eau de robinet, le frottis est recoloré à la fuschine de Ziehl au 1/10^e pendant une minute, puis lavé à l'eau, séché au buvard et examiné à l'immersion. Les Gram + apparaissent en bleu noir et les Gram – en rouge.

2.6.3/ Etude des caractères biochimiques et physiologiques

* **Mobilité**

Elle est recherchée par ensemencement d'un milieu de culture semi-solide en culot : gélose Mannitol-Mobilité (Institut Pasteur), ce milieu permet de vérifier simultanément la mobilité et la fermentation du mannitol. L'ensemencement est réalisé par piqûre centrale.

Après incubation, la mobilité du germe se traduit par l'envahissement plus ou moins grand de la totalité du milieu à partir de la piqûre d'inoculation. La fermentation du mannitol se traduit par changement de couleur du milieu.

* **Type respiratoire**

On utilise une gélose profonde de type VL (Institut Pasteur) répartie en tubes. Ce milieu est ensemencé après régénération à l'aide d'une pipette Pasteur que l'on prolonge au fond du tube puis que l'on remonte en décrivant une spirale de façon à ensemercer uniformément le milieu sur toute la hauteur. Après solidification, les tubes sont incubés à 30°C pendant 48 heures.

◇ *Lecture*

- Les bactéries aérobies strictes se développent seulement en surface.
- Les bactéries anaérobies strictes se développent au fond du tube.
- Les bactéries aéro-anaérobies se développent sur toute la hauteur du tube.
- Les bactéries micro aérophiles se développent dans une zone intermédiaire.

*** Mise en évidence des enzymes respiratoires**

■ *Oxydases*

Les oxydases interviennent à la fin des étapes de déshydrogénation des chaînes de cytochromes. Il existe plusieurs types. Elles sont mises en évidence par leur propriété de catalyser la réaction d'oxydation d'un substrat organique par l'oxygène de l'air.

Le test peut être réalisé par la technique de Kovacs. Un disque « OX » est placé sur une lame et imbibé d'une goutte d'eau puis une parcelle de la culture est déposée à la surface. Une coloration rose se manifeste en quelques minutes en cas de réaction positive.

■ *Catalase*

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée qui résulte de l'oxydation, par l'oxygène de l'air, des protons issus des voies d'oxydation directes.

Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase :



*** Température de croissance**

■ *Lactocoques*

L'aptitude à la culture est testée à 10 et 45°C en ensemençant des tubes de bouillon M17 avec une culture pure de l'organisme à tester. Les tubes à 45°C sont examinés au bout 48 heures et ceux à 10°C après 7 à 10 jours.

Ce test permet de différencier les streptocoques thermophiles, qui poussent à 45°C et même au dessus de 50°C, des lactocoques incapables de pousser à cette température élevée et qui par contre poussent encore à 10°C.

■ *Lactobacilles*

Après ensemencement du bouillon MRS avec une culture pure de l'organisme à tester, les tubes sont incubés 1 à 2 semaines à 15°C et 48 heures à 45°C.

Ce test permet de différencier les *Thermobacterium*, qui peuvent se développer à 45°C, des *Streptobacterium* qui poussent à 15°C.

*** Croissance dans les conditions hostiles**

Différents milieux hostiles peuvent être testés. Pour les tests suivants : croissance en présence de NaCl, celle en présence de sels biliaires, la culture à différents pH et la thermorésistance, les milieux utilisés sont :

- MRS bouillon pour les lactobacilles ;
- M17 bouillon pour les lactocoques.

■ *Croissance en présence de NaCl*

Les milieux additionnés de 2%, 4% et 6,5% de NaCl sont ensemençés, puis incubés à 30°C pendant 2 à 3 jours. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

■ *Croissance en présence de sels biliaires*

Les milieux additionnés de 0,1%, 0,2% et 0,3% de sels biliaires sont ensemencés, puis incubés à 30°C pendant 24 à 48 heures. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

■ *Croissance à différents pH*

Elle est testée à 30°C sur des milieux ajustés à pH 3,9 et à pH 9,6. Les tubes sont incubés pendant 24 à 48 heures. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

■ *Thermorésistance*

La thermorésistance est mise en évidence par chauffage du milieu au bain marie. Deux tests sont réalisés : l'un à 60°C pendant 90 minutes, l'autre à 65°C pendant 30 minutes.

Il faut prendre garde de ne pas souiller les bords des tubes en inoculant et de refroidir rapidement les tubes après chauffage.

Après refroidissement, les tubes sont incubés à 30°C pendant 48 heures. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

■ *Tolérance au tellurite*

Elle est recherchée par ensemencement d'un milieu gélosé (MRS ou M17 selon la souche) contenant 0,4% de tellurite de potassium. Un noircissement des colonies traduit une réaction positive après une période de 24 à 48 heures à 30°C.

■ *Croissance sur lait bleu de Sherman*

Le bleu de méthylène est décoloré par les germes possédant une activité réductasique : cette propriété est utilisée pour estimer la charge microbienne du lait, mais également pour caractériser les espèces.

Du lait à 1% de bleu de méthylène est ensemencé et incubé durant une période de 24 à 48 heures à 30°C.

*** Culture sur lait tournesolé**

Le tournesol est un indicateur de potentiel redox et de pH.

Le lait tournesolé (composition en annexes) est ensemencé avec une culture pure de l'organisme à tester. L'action sur le milieu est suivie en fonction du temps (6h, 12h, 24h, 48h) :

- Un virage du mauve au rose indique une acidification due à l'attaque du lactose ;
- Une décoloration de l'indicateur traduit une réduction ;
- Une coagulation du lait (activité protéolytique).

*** Recherche de la citratase**

Elle est mise en évidence par culture sur gélose semi-solide au lait citraté (composition en annexes). La gélose est ensemencée dans la masse et incubée à 30°C pendant 2 à 7 jours. La fermentation se traduit par la production de gaz.

*** Production d'acétoïne**

L'acétoïne est mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer après une culture de 3 à 7 jours à 30°C sur bouillon lactosé citraté (Institut Pasteur).

*** Production d'acides et d'H₂S à partir de milieux complexes**

Le milieu utilisé est la gélose TSI répartie en tube sous forme inclinée avec un culot (Institut Pasteur). L'ensemencement se fait par piqûre centrale dans le culot et en stries sur la pente. Le milieu est incubé à 30°C pendant 24 heures.

◇ *Lecture*

- La production d' H₂S se traduit par un noircissement du milieu ;
- La production de gaz se traduit par une fragmentation du milieu ;
- La fermentation des 3 sucres (glucose, saccharose et lactose) se traduit par un virage au jaune du milieu.

*** Hydrolyse de l'esculine**

L'hydrolyse de cet hétéroside est mise en évidence sur le milieu gélosé à l'esculine (Institut Pasteur). Après une incubation à 30°C pendant 2 à 3 jours, elle se traduit par un noircissement du milieu.

*** Hydrolyse de l'amidon**

Elle est testée par une culture sur milieu GNO (Institut Pasteur), additionné de 0,3% d'amidon soluble, en boîte de Pétri. Après 3 jours d'incubation à 30°C, l'hydrolyse est caractérisée au lugol.

*** Hydrolyse de la gélatine**

Elle est testée par une culture sur milieu à la gélatine en culot (ensemencée par piqûre centrale). Le tube est observé après un délai de 48 heures à 2 semaines à température ambiante, la liquéfaction de la gélatine traduit son hydrolyse.

*** Désamination de l'arginine**

Elle est recherchée sur bouillon (MRS ou M17 selon la souche) à 0,3% d'arginine. Après 2 à 6 jours d'incubation à 30°C, la formation d'ammoniac est mise en évidence par adjonction d'une goutte de réactif de Nessler à une goutte de culture sur une lame : il se développe une coloration rouge orange.

* **Type fermentaire**

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est catabolisé. Il est homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents : acide formique, acétique, éthanol, CO₂ ...

Le caractère homo ou hétérofermentaire est défini de façon simple par le test de Gibson et Abd El Malek (Institut Pasteur) qui traduit un dégagement de CO₂ caractéristique des espèces hétérofermentaires.

Après l'ensemencement du milieu, les tubes sont incubés à 30°C pendant une période de 2 à 7 jours. Un dégagement gazeux est observé en tube à essai par l'expulsion du bouchon de gélose blanche.

* **Fermentation des sucres**

Elle est recherchée par ensemencement de tubes de milieu de base pour fermentation (spécial pour lactobacilles ou pour streptocoques, composition en annexes) dans lesquels on rajoute du sucre à la concentration finale de 0,5%.

Les sucres à étudier sont : lactose, maltose, mélibiose, tréhalose, raffinose, sorbitol, arabinose, xylose, inositol, cellulose, rhamnose, ribose, galactose et saccharose.

Après 3 à 7 jours d'incubation, le développement de la culture et le virage de l'indicateur coloré dû à l'acidification du milieu traduit la fermentation du sucre. Il est recommandé d'effectuer un témoin sans sucre qui ne doit pas présenter de virage de l'indicateur.

* **Hémolysines** (Test spécifique aux lactocoques)

Il s'agit d'enzymes responsables de la lyse des hématies. Elles sont mises en évidence par culture sur gélose au sang (Institut Pasteur). Une base gélosée est fondue, ramenée à 45°C, additionnée de 5% de sang défibriné de cheval et coulée en boîtes de Pétri. Le milieu est ensemencé par stries longitudinales.

Après incubation pendant une période de 24 à 48 heures à 37°C puis pendant 24 heures à 4°C, l'aspect de la gélose autour des colonies est examiné :

- zone verdâtre due à la méthémoglobuline : hémolyse α ;
- auréole claire due à la libération de l'hémoglobuline : hémolyse β ;
- pas de modification : pas d'hémolyse ou γ .

2.7/ Caractérisation technologique

L'étude des aptitudes technologiques constitue un bon critère de sélection des différentes souches identifiées. Selon Desmazeaud, (1996) ; Guiraud, (1998) ; Champagne *et al.*, (2000) et Champagne et Moineau, (2003) plusieurs tests peuvent être réalisés.

2.7.1/ Pouvoir acidifiant

Trois flacons contenant 100 ml de lait écrémé stérile sontensemencés avec une culture pure de l'organisme à tester, puis incubés à différentes températures 27°C, 14°C et 6°C. Juste après l'ensemencement, toutes les 2 heures, puis toutes les 24 heures, 5 ml de lait (de chaque flacon) sont prélevés et titrés par la soude Dornic. La courbe d'acidification en fonction du temps peut alors être tracée.

2.7.2/ Evolution de la biomasse

L'évolution de la biomasse à 27°C, 14°C et 6°C est déterminée par mesure de la densité optique (**D.O**) au spectrophotomètre à 660 nanomètres, à différents intervalles de temps (0h, 3h, 24h, 48h, 72h, 96h).

2.7.3/ Activité protéolytique

L'activité protéolytique est déterminée de façon rapide par l'examen du lait tournesolé.

Après incubation à 30°C pendant 3 à 5 jours, ce milieu permet d'observer plusieurs types de réactions : attaque de lactose avec acidification (coagulation de la caséine et virage au rouge), attaque de la caséine avec alcalinisation (virage au bleu), peptonisation de la caséine après ou en dehors de toute coagulation (éclaircissement du milieu ou dégradation du coagulas).

2.7.4/ Activité lipasique

L'activité lipasique peut être recherchée sur un milieu gélosé au Tween 80 (Institut Pasteur). Ce milieu est coulé en boîte de Pétri et ensemencé par touches. Après incubation, l'activité lipasique se traduit par un halo opaque autour des colonies, halo dû à la précipitation d'oléate de calcium.

2.7.5/ Activité aromatisante et acceptabilité organoleptique

Pour les souches destinées à l'industrie laitière, les tests ont lieu à partir de culture sur lait. L'analyse sensorielle, par dégustation de caillé modèle, permet d'obtenir une information globale de l'arôme produit par la souche. Des défauts de texture et de goût peuvent aussi être évalués.

2.7.6/ L'antibiorésistance

Le lait pouvant contenir des traces non négligeables d'antibiotiques, il peut être intéressant de tester la résistance des souches destinées à l'industrie laitière ou fromagère. Pour évaluer la résistance à un antibiotique, la pénicilline par exemple, il faut préparer des solutions de pénicilline à 10, 1 et 0,1 unités par ml et rajouter, à des tubes à essai contenant 9 ml de lait tournesolé, la quantité nécessaire pour obtenir une gamme de 1 à 0,01 unités/ml. La série de tubes est ensemencée et incubée à 30°C. Un témoin sans antibiotiques est réalisé. Lorsque le témoin sans antibiotiques indique un développement positif très net, tous les tubes sont examinés. La dose de pénicilline inhibitrice peut alors être déterminée en fonction des cultures obtenues.

Les antibiotiques étudiés sont les plus prescrits dans les soins vétérinaires :

- La pénicilline V ;
- L'oxacilline ;
- L'ampicilline ;
- L'érythromycine ;
- La doxycycline.

2.7.7/ La non production d'amines biogènes

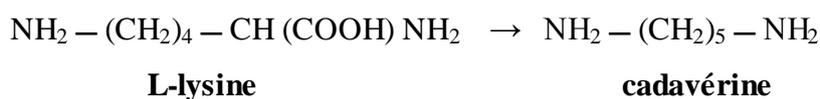
*** Histamine**

La décarboxylation de l'histidine en histamine est étudiée selon la méthode décrite par Petransxienne et Lapied, (1981) cité par Guiraud, (1998). Elle consiste à comparer le pH de deux échantillons : un tube de bouillon M17 ou MRS contenant la souche à tester en présence de L-histidine, l'autre tube ne contenant que la souche. Après 24 heures d'incubation, on mesure le pH.

La décarboxylation de l'histidine se traduit par une augmentation du pH (l'histamine étant plus basique).

*** Cadavérine**

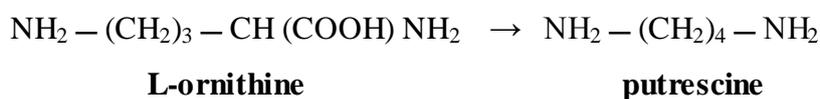
La réaction est :



L'activité LDC (lysine décarboxylase) est recherchée par la méthode classique sur bouillon de Möller à la lysine (Institut Pasteur). Chaque tube estensemencé avec 3 à 4 gouttes de la dilution 10^{-1} de l'organisme à tester et éventuellement recouvert d'une couche de paraffine stérile. Après 24 heures d'incubation à 30°C, l'activité enzymatique se traduit par le virage de l'indicateur vers l'alcalinité.

*** Putrescine**

La réaction est :



L'activité ODC (ornithine décarboxylase) est recherchée par la méthode classique sur bouillon de Möller à l'ornithine (Institut Pasteur). Chaque tube estensemencé avec 3 à 4 gouttes de la dilution 10^{-1} de l'organisme à tester et éventuellement recouvert d'une couche de paraffine stérile. Après 24 heures d'incubation à 30°C, l'activité enzymatique se traduit par le virage de l'indicateur vers l'alcalinité.

Partie 2 : Fabrication du fromage de chèvre

1/ *MATERIELS*

1.1/ Lait de chèvre

Le lait de chèvre utilisé est récolté dans la région de Ain-Defla durant la période Octobre – Mai, de chèvres de race locale (figure 5) alimentées naturellement.



Figure 5 : Chèvres de race locale.

1.2/ Ferments lactiques

Après avoir étudié les caractères technologiques des souches isolées et identifiées, nous avons sélectionné :

- *Lactococcus lactis* subsp *lactis* 2 (*Lc.l* 2) ;
- *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* 1 (*Lc.c* 1) ;
- *Lactococcus lactis* subsp *diacetylactis* 1 (*Lc.dl* 1) ;
- *Lactobacillus casei* 3 (*Lb.c* 3) ;

1.3/ Lait écrémé stérile

Le lait écrémé reconstitué à 12% de matière sèche est utilisé pour le repiquage et la préparation des levains.

1.4/ Présure

Fournie par la laiterie des ARIBBS (référence : 53033, Prolabo).

1.5/ Milieux de cultures

- * Gélose au lait.
- * Gélose DL.
- * Gélose Palcam.
- * Gélose S-S.
- * Milieu SFB.
- * Milieu MEB.

1.6/ Réactifs chimiques

- * Alcool amylique.
- * Bleu de méthylène.
- * H₂SO₄ (d = 1,84).
- * Phénol-phtaléine.
- * Soude Dornic.

2/ *METHODES*

2.1/ Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait de chèvre utilisé

Les différentes techniques d'analyses physico-chimiques et microbiologiques utilisées sont ceux recommandées par : Pearse et Mackinlay, (1989) ; Multon *et al.*, (1991) ; Audijé *et al.*, (1992) ; Guiraud, (1998) et Vignola *et al.*, (2002).

2.1.1/ Analyses physico-chimiques

*** Détermination de la matière sèche**

L'extrait sec total (EST) est déterminé par séchage d'un échantillon de 10 ml de lait dans un Micro-onde (Ref : SAM 155) à une fréquence de 2450 MHZ (température $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) pendant 5mn. La teneur en eau de l'échantillon résulte de la différence entre le poids avant et après le séchage.

*** Détermination de la matière grasse**

La teneur en matière grasse du lait est déterminée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber.

Après dissolution des protéines du lait par l'acide sulfurique, la matière grasse est séparée par centrifugation (en présence de l'alcool amylique). La lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre.

*** Détermination de l'acidité titrable**

La méthode de dosage de l'acidité titrable permet de quantifier la teneur total 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 (phénol-phtaléine).

*** Détermination de la densité**

La densité du lait est déterminée à 20°C par un lactodensimètre.

2.1.2/ Analyses microbiologiques

*** Méthodes d'appréciation de la qualité du lait**

■ *Réduction des colorants*

Elle est recherchée par introduction de 1 ml de bleu de méthylène (à 5 mg / 100 ml) stérile dans un tube à essai contenant 10 ml de lait.

Après agitation, le tube est placé dans un bain-marie à 37°C. Une observation est effectuée au bout de 1 heure 30 et de 3 heures (tableau 23).

Tableau 23 : Classement des laits en fonction du test de réduction

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

■ *Microflore aérobie mésophile*

Le dénombrement des germes totaux est réalisé par culture à 30°C sur gélose glucosée au lait écrémé (dilution jusqu'à 10^{-3}).

■ *Coliformes*

Le dénombrement des coliformes dans le lait permet la mise en évidence d'une pollution fécale et donc la possibilité d'une contamination par des Entérobactéries pathogènes.

La colimétrie est réalisée par culture à 37°C sur gélose au désoxycholate-lactose (dilution jusqu'à 10^{-2}).

*** Méthodes de détection des microorganismes pathogènes**

Recherche de *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*.

■ *Salmonella*

Sa recherche s'effectue par enrichissement sur milieu au sélénite (SFB), puis isolement sur milieu SS et identification par les méthodes classiques.

■ *Listeria*

L'enrichissement est réalisé durant une période de 24 à 48 heures à une température de 37°C sur bouillon MEB et l'isolement sur gélose PALCAM.

2.2/ Fabrication du fromage de chèvre

2.2.1/ Préparation du levain

Le levain est préparé dans un flacon contenant 100 ml de lait écrémé stérile,ensemencé avec des cultures jeunes de souches pures à un taux de 2% (à des volumes égaux), ensuite incubé à 30°C pendant 16 heures (figure 6).



Figure 6 : Préparation du levain.

2.2.2/ Fabrication du fromage de chèvre

Les différentes étapes de la fabrication du fromage durant l'expérimentation sont représentées par la figure (7).

Opérations

1- Pasteurisation du lait au bain Marie (15 mn / 75°C)



2- Refroidissement du lait.



3- Le lait est maintenu à 30°C et mis dans un récipient pour êtreensemencé.

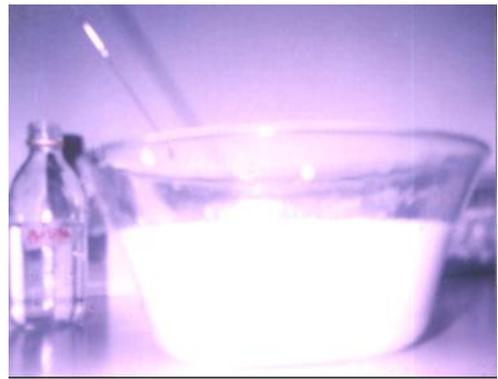


4- Ensemencement du lait :
addition de 3 % du levain (ferments lactiques
mésophiles).



5- Emprésurage :

addition de 1 ml d'une solution de présure
(à 520 mg / l) pour 10 l de lait.



6- Caillage :

maturation du lait pendant 16 à 18 h à 27°C.



7- Découpage et moulage du caillé.



8- Egouttage.



9- 1^{er} retournement (après 24 h d'égouttage)



10- 2^{ème} retournement (12 h après).



11- Salage (saumure 10 à 20 mn), suivi d'un égouttage final (24 h à 18°C).



12- Affinage (10 jours à 14°C).

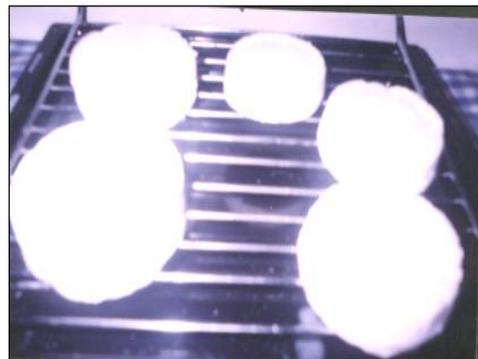


Figure 7 : Fabrication du fromage de chèvre

2.2.3/ Contrôle de la fabrication

Le tableau 24 résume les principaux tests effectués tout au long de la fabrication du fromage.

Tableau 24 : Contrôle de la fabrication.

Étapes du procédé	Principaux tests
Pasteurisation du lait	pH, température.
Ensemencement	pH, température du lait, dénombrement de la flore lactique
Emprésurage	pH, température du lait, dénombrement de la flore lactique
Décaillage	pH, fermeté du gel, dénombrement de la flore lactique
Mise en moule et égouttage	pH, température, dénombrement de la flore lactique
Salage	pH, dose du sel, température, dénombrement de la flore lactique
Affinage	pH, température, test organoleptique réguliers, dénombrement de la flore lactique

Partie 3 : Evaluation de la qualité du fromage de chèvre

1/ MATÉRIELS

1.1/ Fromage de chèvre

Echantillons du fromage de chèvre que nous avons fabriqué.

1.2/ Solution physiologique de NaCl

Cette solution physiologique est utilisée comme diluant dans la préparation des différentes dilutions décimales (9g de NaCl / 1d'eau distillé).

1.3/ Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés pour l'analyse microbiologique sont fournis par l'Institut Pasteur.

- * BLBVB.
- * Bouillon de Faser et gélose Palcam.
- * Eau peptonée.
- * Gélose au bleu de Victoria.
- * Gélose au lait.
- * Gélose de Baird-Parker.
- * Gélose DL.
- * Milieu PCA.
- * Milieu de Frazier et Rupp.
- * Milieu OGA.
- * Milieu de Muller-Kauffmann.
- * Milieu Hektoen.
- * Milieu Wilson-Blair.
- * Milieu VF.
- * Milieu Roth.
- * Milieu Eva-Litsky.

1.4/ Réactifs et produits chimiques pour analyses nutritionnelles.

- * Acide borique.
- * Acide chlorhydrique (HCl).
- * Acide nitrique.
- * Acide sulfurique concentré (densité= 1,82).
- * Acide sulfurique (densité= 1,52).
- * Alcool amylique.
- * Chloroforme.
- * Cystéine.
- * Hydroxynaphtol (indicateur).
- * Hydroxyde de sodium (NaOH).
- * Méthanol.
- * Papier à l'acétate de plomb.
- * Paraffine.
- * Phénolphtaléine.
- * Réactif nitrovanadomolybdique.

- * Solution de formol.
- * Solution de thiocyanate de potassium.
- * Solution titrée 0,04 M d'EDTA.
- * Sulfate de potassium (K_2SO_4).
- * Sulfate de cuivre.
- * Sulfate double d'ammonium et de fer (solution ferrico-ammoniaque).

2/ METHODES

2.1/ Détermination de la qualité microbiologique

Le contrôle sanitaire appliqué au fromage de chèvre, pour déterminer sa qualité microbiologique, est celui préconisé par : Guiraud, (1998) ; Le Jaouen, (1999) et Vignola *et al.*, (2002).

2.1.1/ Prélèvement et traitement des échantillons

*** Echantillonnage**

Les contrôles de fabrication doivent faire intervenir de nombreux prélèvements. Pour une très bonne étude de l'évolution de la flore microbienne au cours de l'élaboration du fromage, il faut prévoir des prélèvements :

- avant et pendant l'emprésurage (plusieurs prélèvements sur 24 heures) ;
- avant et après les opérations : égouttage et salage ;
- pendant l'affinage et la conservation (prélèvement tous les 3 ou 5 jours).

*** Technique de prélèvement**

Le prélèvement est effectué à l'aide d'un couteau stérile. Il est réalisé par découpage d'un secteur d'environ 5 à 10 g.

■ *Prélèvements particuliers pour la recherche de germes pathogènes (Salmonella, Listeria)*

Ces prélèvements nécessitent souvent 25g de fromage. L'échantillon est obtenu par le mélange de 5 prises d'essais de 5 g, ces prises d'essais sont effectuées en des points différents du fromage.

*** Traitement des échantillons**

Les échantillons sont broyés manuellement dans un mortier contenant des billes de verre. Ce broyage est couplé à une dilution.

Il est recommandé d'utiliser le citrate de sodium à 2% (comme diluant) en raison de ses propriétés anticoagulantes et émulsifiantes. L'échantillon broyé est généralement de 10 g, il est additionné en plusieurs fois de 90 ml de diluant stérile afin d'obtenir une suspension mère de dilution 1/10^e.

2.1.2/ Méthodes d'analyse

*** Dilutions**

Les dilutions destinées à l'analyse sont réalisées à partir de la suspension mère de broyage. Elles sont effectuées de façon classique (jusqu'à 10⁻⁵).

*** Dénombrements**

■ *Flore totale « FAMT »*

Cette flore est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité du produit. Son dénombrement est réalisé en boîte de Pétri à l'aide du milieu PCA additionné de 10% de lait écrémé. Ce milieu estensemencé en surface et incubé durant 72 heures à 30°C.

■ Flore anaérobie

La flore anaérobie est dénombrée par culture sur lait cystéiné paraffiné. Les ensemencements sont réalisés à partir des dilutions normales, ce qui permet de mettre en évidence toute la flore anaérobie. Le milieu est incubé pendant 3 jours à 30°C.

■ Flore indologène

Cette flore est responsable de dégradations et de modifications du goût et de l'odeur. Le dénombrement est réalisé à partir des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} sur le milieu eau peptonée. Après 48 heures d'incubation à 37°C, la production d'indole est recherchée par le réactif de Kovacs. Le nombre approximatif d'indogènes est déterminé en examinant la plus grande dilution positive, soit :

- 10^{-3} : plus de 10^3 germes indogènes /ml ;
- 10^{-2} : entre 10^2 et 10^3 germes indogènes /ml ;
- 10^{-1} : entre 10 et 10^2 germes indogènes /ml.

■ Flore putride

Ces bactéries dégradent la caséine en produisant des substances malodorantes. Leur dénombrement est effectué sur eau peptonée à partir des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} (1 ml d'inoculum pour 9 ml de milieu).

Après ensemencement, on place un papier à l'acétate de plomb dans la partie supérieure du tube et on incube 48 heures à 37°C. Le noircissement dû à l' H_2S traduit la présence des bactéries putrides. Le nombre approximatif de bactéries putrides est déterminé comme précédemment (cas d'indogènes).

■ Flore thermophile

Il s'agit de micro-organismes ayant une haute température optimale de développement (55-63°C) : on trouve parmi eux des germes intéressants l'industrie fromagère mais aussi des contaminants néfastes. Leur dénombrement est réalisé en boîte de Pétri à l'aide du milieu PCA additionné de 10% de lait écrémé. Ce milieu est ensemencé dans la masse et incubé pendant 24 à 48 heures à 55°C.

■ *Flore psychrophile*

Certains micro-organismes sont capables de se développer à des températures inférieures à 5°C. Ils peuvent poser des problèmes au niveau de la conservation du fromage à basse température. Les opérations de dénombrement classique sont utilisées. Les boîtes de Pétriensemencées sont placées pendant 7 à 10 jours au réfrigérateur à 5°C.

■ *Flore lipolytique*

Cette flore peut entraîner des dégradations au niveau des qualités organoleptiques du fromage durant sa conservation au froid. Elle est mise en évidence sur gélose au bleu de Victoria par étalement de 0,1 ml de la suspension mère ou de ses dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). L'incubation dure 3 jours à une température de 30°C.

■ *Flore protéolytique*

Cette flore peut se développer dans les mêmes conditions que la précédente. On utilise pour la dénombrer le milieu de Frazier et Rupp. L'incubation dure 3 à 5 jours à une température de 30°C.

■ *Levures et moisissures*

Les levures et moisissures peuvent affecter la conservation du fromage. Leur dénombrement est réalisé en surface sur milieu OGA. Les boîtes sont incubées pendant 5 jours à 22°C. Elles sont aussi examinées au bout de 3 jours et le nombre de colonies est noté.

■ *Colimétrie*

Dans le cas des fromages, la colimétrie peut être utile comme indicateur d'hygiène (facteur d'accidents de fabrication ou de mauvaise conservation).

Les coliformes sont dénombrés en milieu solide sur gélose au désoxycholate-lactose (DL). Les boîtes sontensemencées par 1 ml de la suspension mère ou de ses dilutions. Le milieu en surfusion est ajouté et mélangé (12 ml). Après solidification, une deuxième couche (4 ml) de milieu est rajoutée.

L'incubation a lieu pendant 24 heures à 30 °C pour les coliformes « totaux » et à 44°C pour les coliformes « fécaux » (numération présomptive avec confirmation par subculture sur BLBVB à partir des colonies isolées).

* Recherche des germes pathogènes

Outre *Escherichia coli* que l'on peut considérer comme un germe pathogène, on recherche fréquemment les staphylocoques coagulase +, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*. Ces recherches sont pratiquées directement sur la suspension mère ou après enrichissement sur milieux spécifiques.

■ *Staphylocoques*

Les staphylocoques sont recherchés et dénombrés par culture sur milieu gélosé de Baird-Parker pendant 24 à 48 heures à 37°C. Le test coagulase est effectué sur les colonies présomptives. Le risque lié aux staphylocoques n'est important que pour des teneurs de l'ordre 10⁶/g.

■ *Entérobactéries pathogènes*

Les Entérobactéries pathogènes (*Shigella*, *Yersinia enterocolitica*) sont caractérisées par les méthodes classiques. *Salmonella* est recherchée après préenrichissement sur eau peptonnée et enrichissement sur les milieux Muller-Kauffmann et sélénite-cystéine. L'isolement est réalisé sur les milieux Hektoen et Wilson-Blair. Une identification morphologique et biochimique est nécessaire. Le risque est souvent faible dans les fromages, mais la gravité des conséquences sanitaires possibles impose le contrôle.

■ *Listeria*

Les *Listeria* peuvent provenir du lait cru ou de l'environnement. Elles sont recherchées après enrichissement sur bouillon de Faser par isolement sur gélose Palcam. Une identification morphologique et biochimique est nécessaire.

■ *Recherche des spores de Clostridium sulfito-reducteurs (Clostridium perfringens)*

Les tubes contenant les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} seront (dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées) soumis :

- d'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 mn.
- puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet.

Après refroidissement des tubes, porter 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis, puis ajouter 15 ml de milieu VF (fondu et additionné d'Alun de fer et de sulfite de sodium). Laisser solidifier 30 mn sur paille, ensuite incuber à 37°C pendant 16, 24 ou 48 heures.

Il faut repérer toute colonie noire d'un diamètre supérieur à 0,5 mm ayant poussé en masse, puis procéder à son identification biochimique.

■ *Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux*

Les streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable. Deux tests sont réalisés :

- test de présomption sur milieu Roth S/C ;
- test de confirmation sur milieu Eva Lytski.

2.2/ Détermination de la qualité organoleptique

2.2.1/ Choix de l'épreuve

L'épreuve choisie est une épreuve de notation effectuée dans une perspective pseudo hédonique, les sujets évaluent un certain nombre de caractéristiques de fromage (texture, odeur, goût...) sur une échelle d'intervalle structurée à 7 niveaux comportant, à l'une des extrémités, l'appréciation : mauvais, à l'autre extrémité, l'appréciation : excellent. La note de qualité est donnée par la moyenne des notes.

2.2.2/ Elaboration d'une fiche de dégustation

La fiche de dégustation (en annexes, source : Budin, 2000) est élaborée selon les propriétés sensorielles du fromage. Elle permet aux dégustateurs de donner des valeurs aux différentes grandeurs sensorielles étudiées.

2.2.3/ Groupe d'évaluation

Le groupe d'évaluation est constitué de 17 personnes. Ce nombre est suffisant d'après Budin (2000), qui suggère un nombre compris entre 10 et 20 personnes.

2.3/ Détermination de la qualité nutritionnelle

Les méthodes d'analyses utilisées pour la détermination de la qualité nutritionnelle du fromage de chèvre que nous avons fabriqué sont ceux préconisées par : Audigié *et al.*, (1986) ; Multon *et al.*, (1991) ; Audigié *et al.*, (1992) ; Adrian *et al.*, (1995) ; Adrian *et al.*, (1998) ; Lynch *et al.*, (1999) et Vignola *et al.*, (2002).

2.3.1/ Détermination de la teneur en eau

La détermination de la teneur en eau obéit à plusieurs nécessités : commerciale, réglementaire, technologique et analytique. On procède à une dessiccation du fromage à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, dans une étuve isotherme ventilée, à la pression atmosphérique, jusqu'à masse pratiquement constante (5 à 6 heures).

La teneur en eau est définie comme la perte de masse subie dans les conditions de la mesure (exprimée en pourcentage massique « g/100g »). La masse restante représente la teneur en matière sèche du fromage.

2.3.2 / Dosage des protéines

La méthode de référence officielle pour déterminer la quantité de protéines dans les produits laitiers est la méthode de Kjeldahl. Cette analyse est réalisée au laboratoire de Contrôle de Qualité et Répression de Fraudes de Chlef.

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 de l'échantillon vise à convertir la totalité de l'azote organique en ions ammonium (NH_4^+). Les molécules organiques mises en présence d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) / sulfate de potassium (K_2SO_4), catalysées par du sulfate de cuivre, sont décomposées par oxydation pour donner principalement du CO_2 et de l'eau. L'azote organique, quant à lui, est converti en sulfate d'ammonium ($\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. On ajoute un excès d'hydroxyde de sodium (NaOH) au digestat refroidi pour permettre la transformation de l'azote, sous forme de sulfate d'ammonium, en ammoniac (NH_3).

L'ammoniac est distillé dans un excédent d'acide borique et déterminé par titrage avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl).

*** Calcul**

La teneur en azote, exprimée en pourcentage par unité de masse, et déterminée de la façon suivante :

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

Où :

V_s = 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 en grammes de l'échantillon.

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

Un facteur de conversion moyen de 6,38, multiplié par le pourcentage d'azote, permet d'obtenir le résultat en pourcentage de protéines.

2.3.3 / Dosage de la matière grasse

Le taux de la matière grasse est déterminé par la méthode butyrométrique de Van-Gulik.

Les protéines du fromage sont dissoutes par l'acide sulfurique (densité : 1,52). On procède à un chauffage dans un bain d'eau (65°C / 5mn) puis on agite durant 10s. L'opération est répétée jusqu'à dissolution totale des protéines.

La matière grasse, résistante à l'action de l'acide sulfurique, est séparée par centrifugation à chaud, la séparation étant favorisée par l'addition d'alcool amylique. La matière grasse, moins dense, se rassemble en une couche claire et transparente. On en détermine ensuite le volume à 65-70°C.

*** Lecture du butyromètre**

La lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre. La teneur en matière grasse est exprimée en g pour 100 g du fromage.

2.3.4 / Eléments minéraux

*** Traitement des échantillons**

Pour la quasi-totalité des produits, un broyage est nécessaire pour obtenir une homogénéité compatible avec les manipulations ultérieures.

*** Minéralisation (destruction de la matière organique)**

Après avoir déterminé le poids sec de l'échantillon, celui-ci est placé dans un creuset de platine taré et introduit dans un four à moufle froid que l'on porte à environ 250°C pendant quelques heures. L'atmosphère du four est confinée avec un apport d'air extérieur restreint pour éviter une combustion vive au sein de la masse de l'échantillon. La température est montée à 450°C puis à 550°C pendant 3 à 4 heures jusqu'à obtention d'un résidu blanc et non fondu.

* Détermination de la teneur en cendres

Le poids des cendres totales correspond à la masse des composants minéraux du fromage. Le résidu de cendres est soigneusement resolubilisé à l'aide d'acide nitrique, filtré puis pesé pour obtenir la masse des cendres totales.

Après détermination de la teneur en cendres, le résidu est repris avec le minimum d'acide, dilué avec de l'eau bi distillée et ajusté à un volume connu. Ainsi, la solution est prête pour l'analyse des éléments minéraux.

* Dosage des chlorures

La détermination de la teneur en chlorures est réalisée par titrage argentimétrique (par une solution de thiocyanate de potassium) dans une solution d'acide nitrique, en présence de sulfate double d'ammonium et de fer comme indicateur (solution ferrico-ammoniaque).

■ *Calcul* : La teneur en chlorure de sodium est donnée par la formule :

$$\text{Teneur en chlorure} = 0,585 \times V / E$$

Où:

V : représente le nombre de ml de solution de thiocyanate de potassium 0,1N utilisés pour le titrage.

E : le volume de la prise d'essai en ml.

Les résultats sont exprimés en mg de chlorure de sodium par litre de solution.

* Dosage du calcium

La détermination de la teneur en calcium est réalisée par titrage complexométrique à l'aide d'une solution titrée 0,04 M d'EDTA (sel disodique de l'Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique), en présence de l'hydroxynaphtol comme indicateur.

- *Calcul* : La teneur en calcium est donnée par la formule :

$$\text{Teneur en calcium} = 100 \times V.$$

Où :

V : représente le nombre de ml de solution d'EDAT utilisés pour le titrage.

Les résultats sont exprimés en mg de calcium par litre de solution.

* **Dosage du phosphore**

La teneur en phosphore est déterminée par dosage colorimétrique (courbe d'absorption du complexe phosphovanadomolybdique en annexes) dans une solution d'acide chlorhydrique par le réactif nitrovanadomolybdique.

- *Calcul* : La teneur en phosphore est donnée par la formule :

$$\text{Teneur en phosphore} = 20 \times \text{\% P}.$$

Où :

\% P : représente La concentration massique g/l de phosphore du tube de dosage (courbe en annexes).

Les résultats sont exprimés en g de phosphore par litre de solution.

2.3.5 / Analyses particulières

* **Dégradation du lactose " dosage d'acide lactique "**

L'industrie laitière exprime l'acidité globale provoquée par fermentation du lactose en degrés Dornic. Ceux-ci correspondent à la quantité de soude Dornic utilisée pour neutraliser 0,1 g d'acide lactique par kg de produit laitier.

L'acidité titrable est une méthode officielle de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 947.05), qui mesure la quantité totale d'acide lactique présente dans un échantillon.

Un échantillon de 2 g de fromage solubilisé dans 20 ml d'eau distillée est titré avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,1 N) au point de virage de la phénolphthaléine.

■ *Calcul*

L'acidité est égale à : $V / 2$. Où V : volume de la soude nécessaire au titrage.

* **Mesure de la protéolyse**

La mesure de la protéolyse peut porter spécifiquement sur la quantité de fonctions aminées libres dans l'échantillon. La technique consiste à faire réagir du formaldéhyde sur ces molécules amphotères ce qui bloque les fonctions aminées. Il ne reste plus qu'à mesurer l'acidité manifestée alors par les fonctions acides.

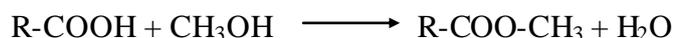
Une solubilisation de l'échantillon est réalisée, pour faire passer l'ensemble des petites molécules azotées dans la phase aqueuse. Après filtration, une aliquote est amenée à pH 9,1 puis on l'additionne d'une solution de formol fraîchement neutralisé. La réaction avec les fonctions aminées est immédiate ; on ramène ensuite le pH à sa valeur de 9,1 avec une solution sodique titrée (0,2 mol/l). Le volume utilisé correspond à la quantité de fonctions aminées bloquées par le formol (azote sous forme aminée).

* **Analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse**

Cette analyse est réalisée au laboratoire de Contrôle de Qualité et Répression de Fraudes d'El- Harrach, Alger.

■ *Préparation des esters*

L'analyse par chromatographie phase gazeuse (CPG) des acides gras, caractérisant les glycérides, nécessite leur isolement par saponification et leur conversion en dérivés dont les températures d'ébullition sont abaissées. Les acides gras sont rendus volatils par estérification des groupements carboxyles pour former des esters méthanoliques selon la réaction :



La transestérification est effectuée par le méthanol, à reflux en présence d'un catalyseur acide (H_2SO_4).

Les esters méthanoliques ainsi formés sont extraits par un solvant apolaire (chloroforme) avant d'être analysés par CPG.

■ *Choix du matériel*

- Appareil utilisé : CPG (Thermo-Finnigan).
- Colonne : PE-FFAP (longueur : 30 m, diamètre intérieur : 0,53 mm).
- Gaz vecteur : Azote.
- Détecteur : FID (Flame Ionisation Detector).
- Mode d'injection : Split.

■ *Modalités opératoires*

- Méthode utilisée : programmation de température.
- Quantité injectée : 0,5 μ l.
- Débit de l'azote : 8 psi.
- Température de l'injecteur : 210°C.
- Température du four : 70°C pendant 5 mn (augmente 8°C / mn), 180°C pendant 20 mn.
- Température du détecteur : 230°C.
- Temps d'analyse : 38 mn et 75 sec.

■ *Résultats*

Analyse qualitative : les acides gras sont identifiés grâce à des standards et à leurs temps de rétention.

L'analyse quantitative est faite par standardisation interne. Le pourcentage d'un acide gras est donné à partir de la surface de son pic et de la somme des surfaces des pics correspondant à tous les acides gras de l'échantillon injecté.

Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION

Partie 1 : Isolement, purification et caractérisation phénotypique et technologique

Afin de s'adapter à l'évolution du goût des consommateurs et afin d'améliorer la qualité des produits laitiers fermentés, il est nécessaire de disposer d'une souchothèque dans laquelle on pourra choisir les souches les mieux adaptées à la demande. Chaque souche doit être identifiée, caractérisée et répertoriée.

Les bactéries lactiques pour l'industrie laitière étant celles qui ont fait l'objet des investigations les plus poussées en ce qui concerne le choix des critères de sélection et les méthodes de caractérisation des souches (Deroissart, 1986).

1/ ISOLEMENT ET PURIFICATION DES SOUCHES

Au cours de notre travail, nous avons collecté au total 35 prélèvements de lait de vache de chèvre et de brebis dans les régions de Aïn-Defla et de Chlef. Nous avons parallèlement effectué des repiquages à partir des ferments industriels (lactocoques fournis par l'unité des ARIBBS) et de *Lb. casei* (souche d'Espagne) pour les utilisés comme références.

Après culture sur milieux sélectifs M17 et MRS, les boîtes qui ont données des colonies bien séparées et bien distinctes (figures 8 et 9), ont été choisis pour la suite de l'expérimentation. Selon Hermier *et al*, (1992), un grand nombre de colonies de bactéries lactiques se développent sur milieu sélectif, mais un nombre restreint de clones sera purifié : à partir de boîtes contenant environ 10^2 colonies, on en prélève au moins un nombre égal à la racine carrée du total.

Après purification de ces colonies (figures 10 et 11), nous avons procédé à leur identification.



Figure 8 : Isolement des lactocoques sur milieu M17.

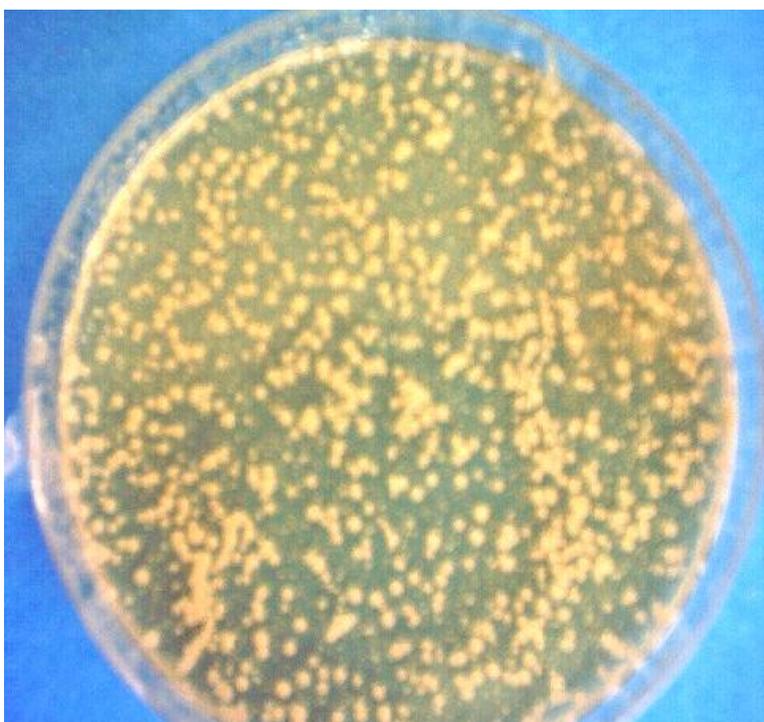


Figure 9 : Isolement des lactobacilles sur milieu MRS.



Figure 10 : Purification des colonies de lactocoques sur milieu M17.



Figure 11 : Purification des colonies de lactobacilles sur milieu MRS.

2/ IDENTIFICATION DES SOUCHES ISOLEES

2.1/ Etude des caractères cultureux et morphologiques

Les cultures purifiées ont subi des examens macroscopiques (étude des caractères cultureux) et microscopiques, après coloration de Gram, (étude des caractères morphologiques).

L'aspect des colonies (rond, plat ou lenticulaire pour les lactocoques et ovale bombé pour les lactobacilles) et l'aspect des cellules (coques isolées, en paires ou en chaînettes pour les lactocoques et bâtonnets allongés groupés en paires ou en chaînes pour les lactobacilles) sont en accord avec ceux montrés par Guiraud et Galzy, (1980) ; Leveau *et al*, (1991) et Champagne *et al*, (2000).

Le tableau 25 résume les observations macroscopiques et microscopiques des souches isolées et des souches de référence.

Tableau 25 : Caractères cultureux et morphologiques des souches isolées.

	Origine	Nombre	Aspect des colonies	Aspect des cellules et mode de regroupe ment	Type de la paroi
Lactocoques	Lait de vache, de chèvre et de brebis	21	- Blanches - Rondes ou lenticulaires	- Coques isolés - Diplocoques - Chaînettes	Gram +
	Souches de France	3	- Blanches - Rondes	- Coques isolés - Diplocoques - Chaînettes	Gram +
Lactobacilles	Lait de vache, de chèvre et de brebis	11	- Ovale à centre marron et bombé	- Bacilles allongés en paires et en chaînes	Gram +
	Souches d'Espagne	1	- Ovale à centre marron et bombé	- Bacilles allongés en paires et en chaînes	Gram +

2.2/ Etude des caractères biochimiques et physiologiques

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques d'identification des souches sont présentés dans les tableaux (26, 27, 28 et 29) et par les figures (12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 et 19).

Tableau 26 : Résultats des tests d'identification des lactocoques.

	Lait de vache			Lait de brebis	Lait de chèvre			SF
	V1	V2	V3	B2	C1	C2	C3	SR1
Hémolyse	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ
Mobilité	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à :								
10°C	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 9,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance dans NaCl :								
2%	+	+	+	+	+	+	+	+
4%	-	+	-	-	+	+	+	+
6,5%	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance sur milieu bilié :								
0,1%	+	+	+	+	+	+	+	+
0,2%	+	+	+	+	+	+	+	+
0,3%	-	-	+	-	-	+	-	+
Thermorésistance	+	+	+	-	+	-	-	+
Type respiratoire	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A
Oxydase	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-
Tellurite	+	+	-	+	+	-	-	+
Lait de Sherman	+	+	+	+	+	+	+	+
Lait tournesolé	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC
Acétoïne (VP)	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-
Production d'H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculine	+	-	-	-	+	+	+	+
Hydrolyse de l'amidon	-	-	-	-	-	-	-	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	-	-	-	-	-	-	-	-
Type fermentaire	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho
Espèce	<i>Lc.11</i>	<i>Lc.12</i>	<i>Lc.13</i>	<i>Lc.14</i>	<i>Lc.15</i>	<i>Lc.16</i>	<i>Lc.17</i>	<i>Lc.1*</i>

Tableau 26 : (suite)

	Lait de vache	Lait de brebis			Lait de chèvre	SF	
	V4	B1	B3	B5	C7	SR2	SR3
Hémolyse	γ	γ	γ	γ	γ	γ	γ
Mobilité	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à :							
10°C	+	+	+	+	+	+	+
45°C	-	-	-	-	-	-	-
pH 9,6	-	-	-	-	-	+	+
Croissance dans NaCl :							
2%	+	+	+	+	+	+	+
4%	-	+	-	-	+	-	+
6,5%	-	-	-	-	-	-	-
Croissance sur milieu bilié :							
0,1%	+	+	+	+	+	+	+
0,2%	+	+	+	+	+	-	+
0,3%	-	-	+	-	-	-	-
Thermorésistance	+	-	-	+	-	-	+
Type respiratoire	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A
Oxydase	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	-	-	-	-	-	-	-
Tellurite	+	-	+	+	-	+	+
Lait de Sherman	+	+	+	+	+	+	+
Lait tournesolé	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC
Acétoïne (VP)	+	+	+	-	-	+	-
Citrate	+	+	+	+	+	+	+
Production d'H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
Esculine	-	-	-	+	-	-	+
Hydrolyse de l'amidon	-	-	-	-	-	-	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	+	+	+	+	+	+	+
Type fermentaire	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho	Ho
Espèce	<i>Lc.c1</i>	<i>Lc.c2</i>	<i>Lc.c3</i>	<i>Lc.d1</i>	<i>Lc.d2</i>	<i>Lc.c*</i>	<i>Lc.d*</i>

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; **A** : acidification ; **R** : réduction ; **C** : coagulation ; **A-A** : aéro-anaérobie ; **Ho** : homofermentaire ; **SF** : souches de France ; **SR** : souche référence.

Tableau 27 : Résultats de fermentation des sucres par les lactocoques.

	Lait de vache			Lait de brebis	Lait de chèvre			SF
	V1	V2	V3	B2	C1	C2	C3	SR1
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Tréhalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	+	-	-	-	+	+	+
Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellubiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	+	-	+	-	-	-	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Espèce	<i>Lc.11</i>	<i>Lc.12</i>	<i>Lc.13</i>	<i>Lc.14</i>	<i>Lc.15</i>	<i>Lc.16</i>	<i>Lc.17</i>	<i>Lc.1*</i>

Tableau 27 : (suite)

	Lait de vache	Lait de brebis			Lait de chèvre	SF	
	V4	B1	B3	B5	C7	SR2	SR3
Lactose	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-
Tréhalose	-	-	-	+	+	-	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	+	+	-	+
Inositol	-	-	-	+	+	-	+
Cellubiose	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	-	-	+	-
Saccharose	-	-	-	+	+	-	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Espèce	<i>Lc.c1</i>	<i>Lc.c2</i>	<i>Lc.c3</i>	<i>Lc.d1</i>	<i>Lc.d2</i>	<i>Lc.c*</i>	<i>Lc.d*</i>

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; **SF** : souches de France ; **SR** : souche référence.

Tableau 28 : Résultats des tests d'identification des lactobacilles.

	Lait de vache	Lait de brebis		Lait de chèvre	SE
	V7	B4	B6	C9	SR4
Mobilité	-	-	-	-	-
Croissance à :					
15°C	+	+	+	+	+
45°C	-	-	-	-	-
pH 3,9	+	-	+	-	+
Croissance dans NaCl :					
2%	+	+	+	+	+
4%	+	+	+	+	+
6,5%	+	-	+	-	-
Croissance sur milieu bilité :					
0,1%	+	-	+	+	+
0,2%	-	-	+	+	+
0,3%	-	-	+	-	-
Thermorésistance	-	-	-	-	-
Type respiratoire	A-A	A-A	A-A	A-A	A-A
Oxydase	-	-	-	-	-
Catalase	-	-	-	-	-
Tellurite	-	-	-	-	-
Lait de Sherman	+	-	+	-	+
Lait tournesolé	AR	R	ARC	R	ARC
Acétoïne (VP)	-	-	+	-	+
Citrate	-	+	+	-	+
Production d'H ₂ S	-	-	-	-	-
Esculine	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'amidon	-	-	-	-	-
Gélatinase	+	-	-	+	-
Arginine	-	-	-	-	-
Type fermentaire	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo
Espèce	<i>Lb.c1</i>	<i>Lb.c2</i>	<i>Lb.c3</i>	<i>Lb.c4</i>	<i>Lb.c*</i>

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; **A** : acidification ; **R** : réduction ; **C** : coagulation ; **A-A** : aéro-anaérobie ; **Homo** : homofermentaire ; **SE** : souches d'Espagne ; **SR** : souche référence.

Tableau 29 : Résultats de fermentation des sucres par les lactobacilles.

	Lait de vache	Lait de brebis		Lait de chèvre	SE
	V7	B4	B6	C9	SR4
Lactose	-	-	+	+	+
Maltose	-	-	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+
Tréhalose	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	+	+	+	+
Arabinose	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-
Cellubiose	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Espèce	<i>Lb.c1</i>	<i>Lb.c2</i>	<i>Lb.c3</i>	<i>Lb.c4</i>	<i>Lb.c*</i>

Symboles :

+ : réaction positive ; - : réaction négative ; **SE** : souches d'Espagne ; **SR** : souche référence.



Figure 12 : Résultat du test de la croissance à pH 3,9

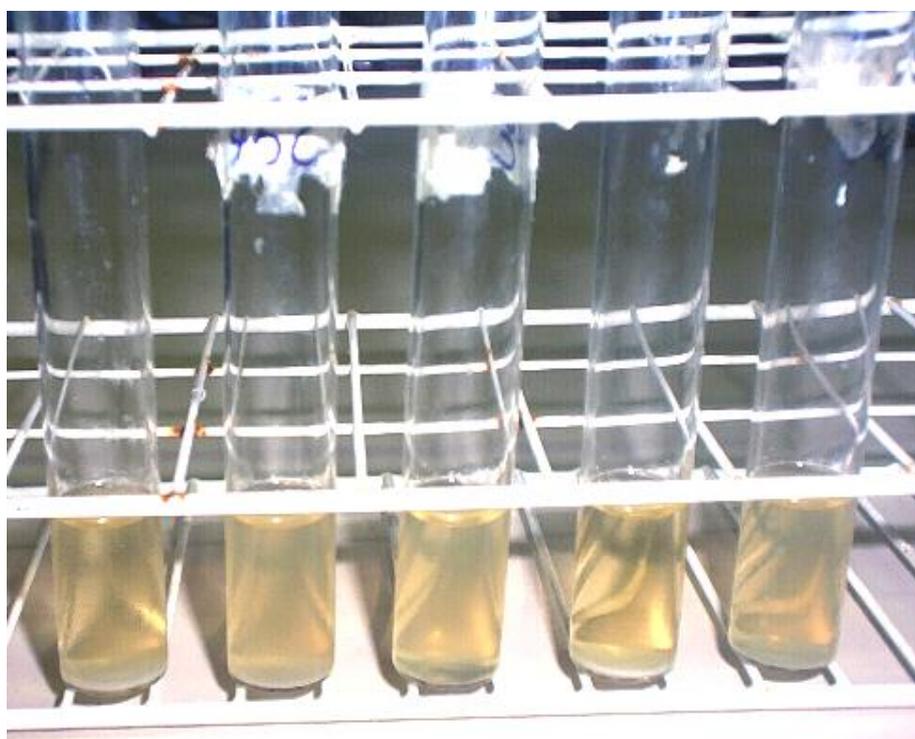


Figure 13 : Résultat du test de la croissance à 45°C.



Figure 14 : Résultat du test de lait de Sherman.

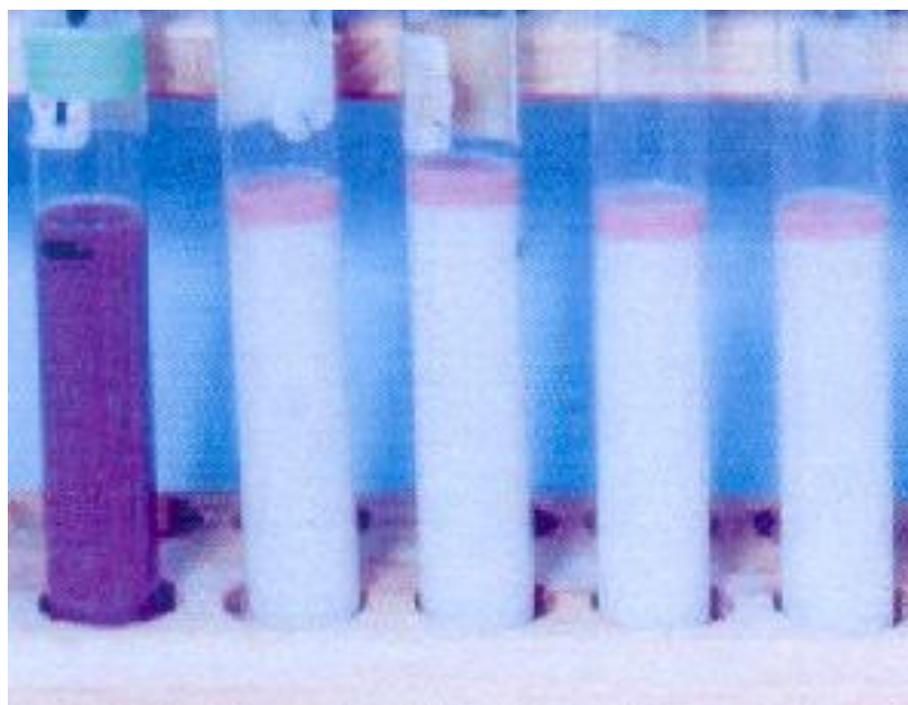


Figure 15 : Résultat du test de lait tournesolé.

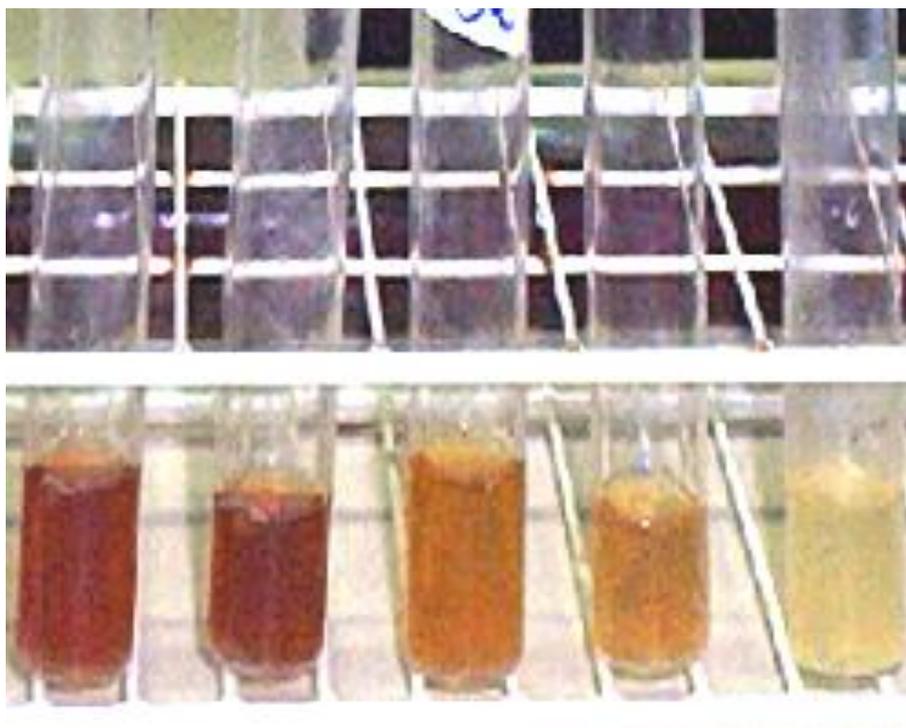


Figure 16 : Résultat du test d'acétoïne (VP).



Figure 17 : Résultat du test de la croissance sur milieu complexe (TSI)

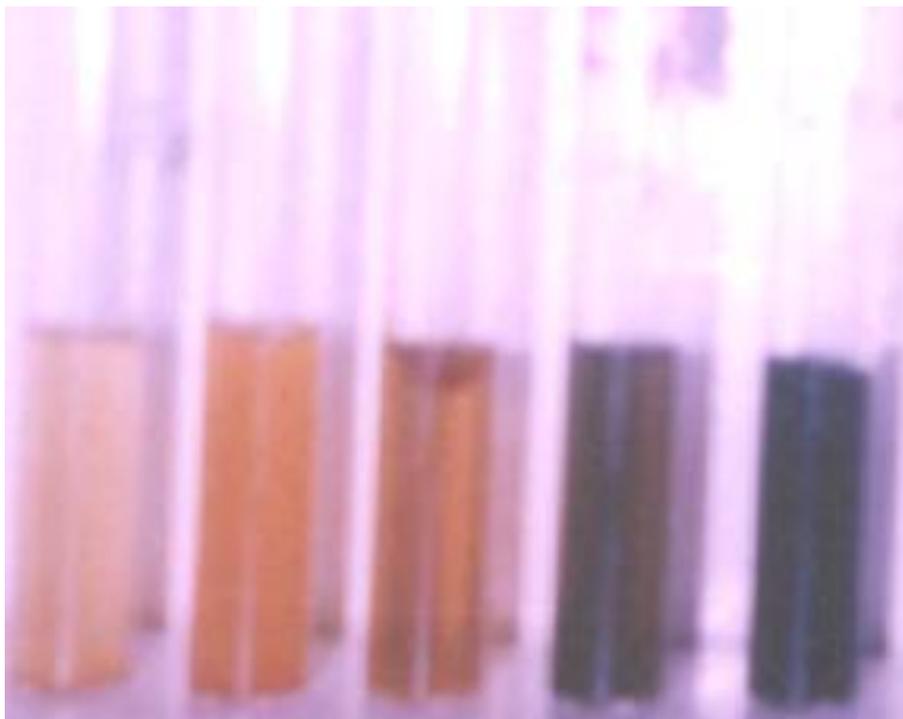


Figure 18 : Résultat de la fermentation du maltose par les lactobacilles.



Figure 19 : Résultat de la fermentation du cellulose par les lactocoques.

Grâce aux tableaux d'identification de Jones (1978), Gravie (1984), Schleifier *et al.*, (1987), Guiraud (1998) et Bernnan *et al.*, (2001) et par comparaison avec les souches de référence, nous avons pu identifier 16 souches locales :

- 7 souches de *Lactococcus. lactis subsp. lactis (Lc. l)*;
- 2 souches de *Lactococcus. lactis subsp.lactis biovar diacetylactis (Lc. dl)* ;
- 3 souches de *Lactococcus. lactis subsp. cremoris (Lc. c)*;
- 4 souches de *Lactobacillus. Casei (Lb. c)*.

Globalement, les souches isolées de *Lc.Lactis* représentent 60% pour la sous-espèce *lactis*, 25% pour la sous-espèce *cremoris* et 15% pour la sous-espèce *lactis biovar diacetylactis*.

Les souches de *Lc.Lactis subsp. lactis* sont dominantes dans le lait cru. La présence d'une di/tripeptidase fixée à leur paroi leur permettent d'être non exigeantes sur le plan nutritionnel (Deroissart, 1986 ; Deroissart et Luquet, 1994) d'où leur existence en plus grand nombre. Les souches de *Lc. Lactis subsp.lactis biovar diacetylactis* et de *Lc. Lactis subsp. cremoris* en sont dépourvues et leur isolement est plus difficile, leur concentration y étant faible (Sandine, 1985 ; Bernnan *et al.*, 2001).

Exterkate et De Veer, (1987) montrent que c'est la caséine β en association avec une faible concentration de caséine κ qui permet une croissance optimale de *Lc. Lactis subsp. cremoris*. Ceci explique sa présence dans le lait de brebis qui se distingue des deux autres laits par sa richesse en matières grasses, en caséines α_s , β et κ ... (FAO, 2002).

Pour les lactobacilles, on remarque que les souches de *Lb. casei* représentent environ 70% du total des lactobacilles isolés. Ce résultat confirme celui de Guiraud, (1998) qui trouve que *Lb. casei* est le lactobacille prédominant du lait.

3/ CARACTERISATION TECHNOLOGIQUE

Dans la plupart des procédés industriels de transformation du lait, les bactéries lactiques présentes dans le lait cru sont détruites lors de la pasteurisation. Elles doivent être réintroduites par des ferments composés de souches préalablement sélectionnées suivant des critères d'aptitudes technologiques et organoleptiques : acidification, production de composants de saveur et d'arôme,

dégradation des protéines, dégradation des lipides, comportement en association avec d'autres espèces microbiennes etc. (Champagne *et al.*, 2000).

3.1/ Pouvoir acidifiant

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. On comprend donc que l'activité acidifiante soit le critère primordial de sélection des bactéries lactiques (Boudier, 1985).

En pratique, il convient de prendre en considération deux aspects de la production d'acide lactique : la vitesse et le niveau maximal de production, car il existe des différences importantes entre les genres, les espèces et même entre les souches d'une même espèce de bactéries lactiques (Deroissart et Luquet, 1994).

Les figures (20, 21, 22,.....34) montrent l'évolution de l'acidité Dornic à 27°C, 14°C et 6°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

A 0h, l'acidité du lait est comprise entre 16 et 18°D. Après 2h d'incubation et à différentes températures, elle reste presque inchangée pour la totalité des souches. Ceci correspond à la phase de latence nécessaire à leur adaptation aux conditions du milieu.

A 27°C, comparativement à la souche commerciale *Lc. l** qui produit une acidité de 79°D après 24 h d'incubation, les souches *Lc. l1*, *Lc. l2*, *Lc. l3* et *Lc. l5* sont légèrement plus acidifiantes. Elles atteignent des valeurs respectives d'acidité de 81°D, 82°D, 79°D et 80°D (figure 20). Contrairement, les autres souches de *Lc. l* (*Lc. l4*, *Lc. l6* et *Lc. l7*), les souches de *Lc. c* (*Lc. c1*, *Lc. c2*, *Lc. c3* et *Lc. c**) et de *Lc. dl* (*Lc. dl1*, *Lc. dl2* et *Lc. dl**) sont faiblement acidifiantes et leurs valeurs d'acidité ne dépassent pas 60°D (figures : 21, 22, 23).

Nous constatons que les souches de *Lc. l* sont plus acidifiantes que celles de *Lc. c* et de *Lc. dl*. Ceci est en parfaite concordance avec les résultats trouvés par Cogan, (1980) ; Novel, (1993) et Champagne *et al.*, (2000).

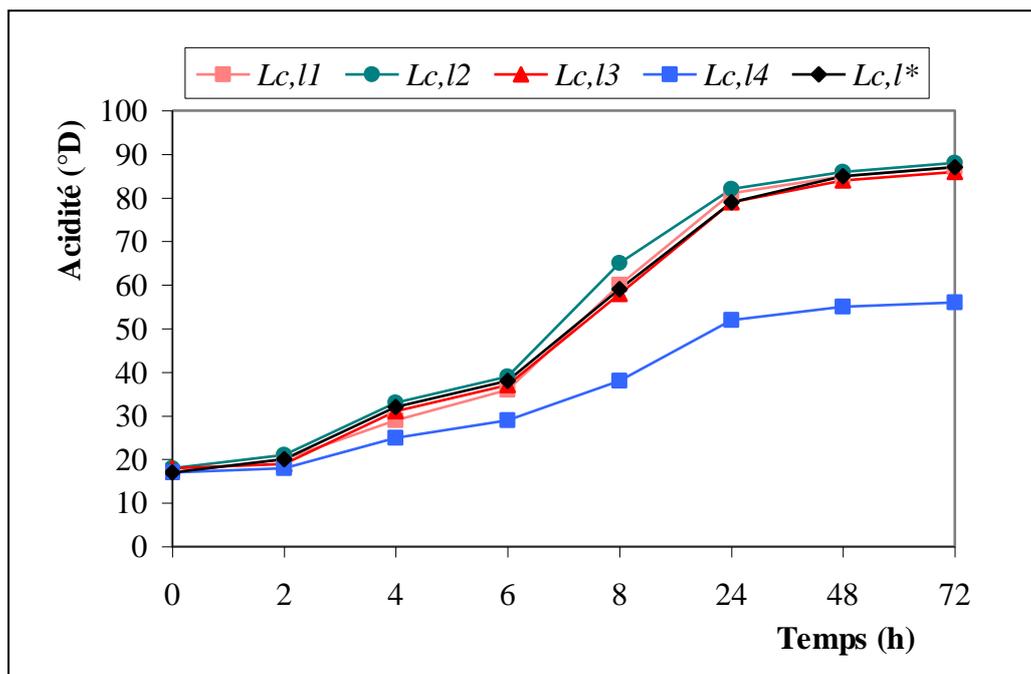


Figure 20 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. l1*, *Lc. l2*, *Lc. l3*, *Lc. l4* et *Lc. l**.

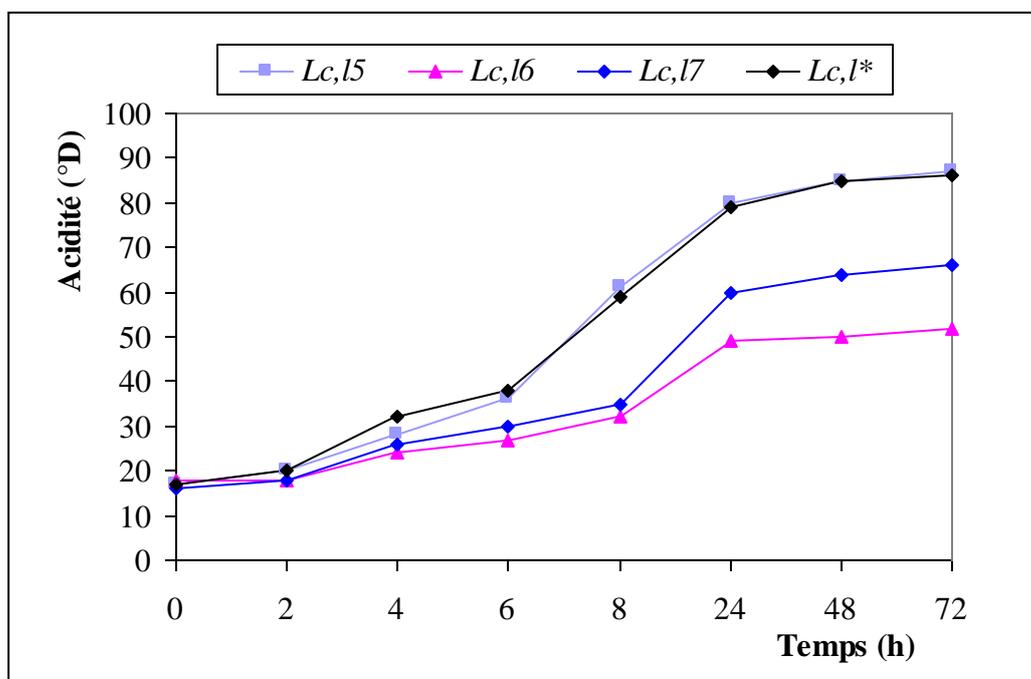


Figure 21 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. l5*, *Lc. l6*, *Lc. l7* et *Lc. l**.

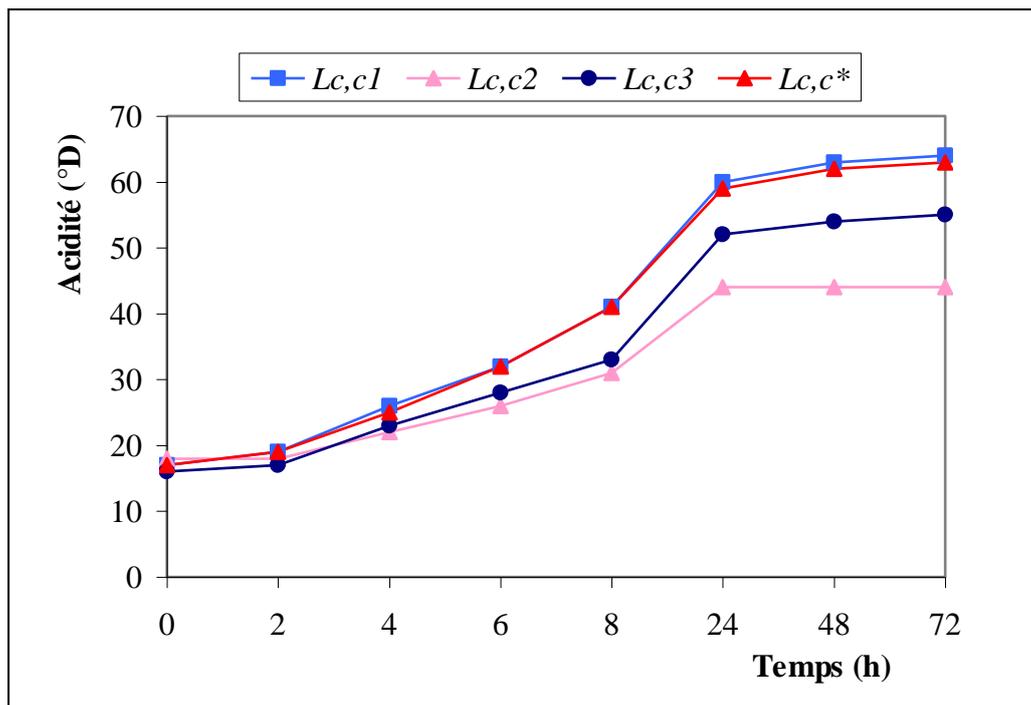


Figure 22: Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. c1*, *Lc. c2*, *Lc. c3* et *Lc. c**.

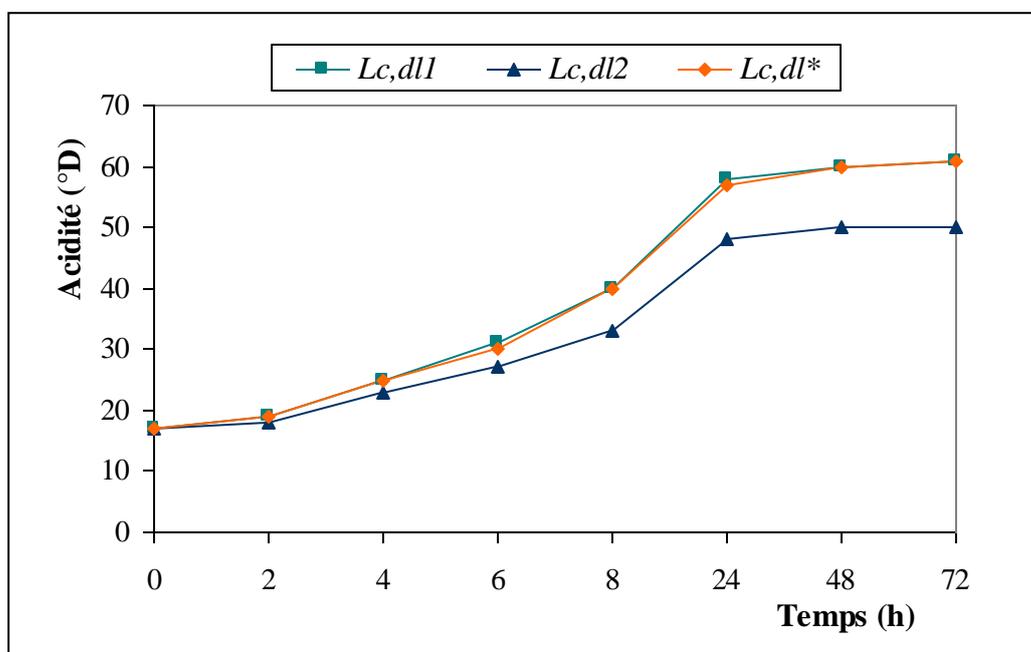


Figure 23: Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. dl1*, *Lc. dl2* et *Lc. dl**.

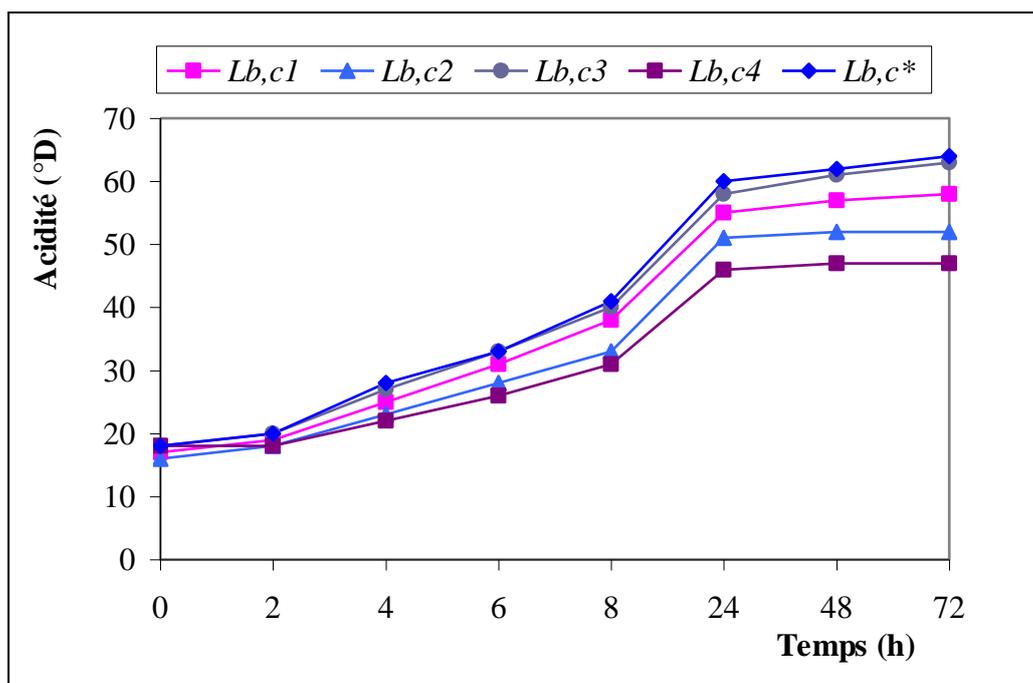


Figure 24 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lb. c1*, *Lb. c2*, *Lb. c3*, *Lb. c4* et *Lb. c**.

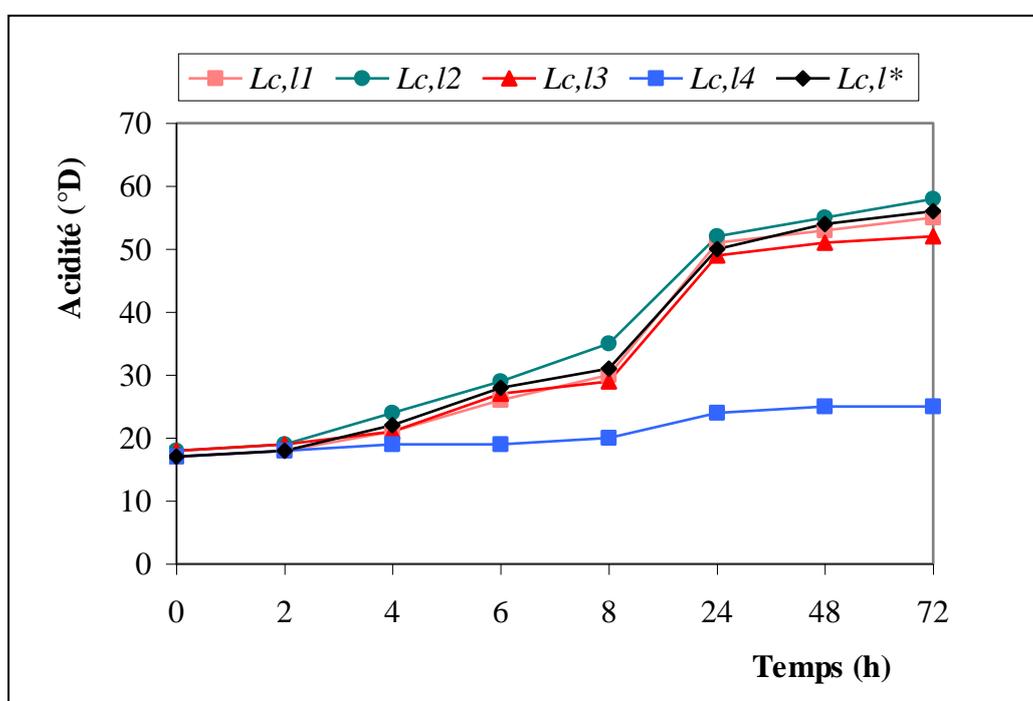


Figure 25 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. l1*, *Lc. l2*, *Lc. l3*, *Lc. l4* et *Lc. l**.

Pour les souches de *Lb .c* (*Lb. c1*, *Lb. c2*, *Lb. c3*, *Lb .c4* et *Lb. c**), les valeurs d'acidité sont respectivement de : 55°D, 51°D, 58°D, 46°D et 60°D après 24 h d'incubation (figure 24). Ces résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par Deroissart et Luquet, (1994) et Gautier *et al.*, (1999).

Au-delà des 48 h, les niveaux d'acidité demeurent inchangés pour la totalité des souches (figures : 20, 21, 22, 23, 24).

A 14°C, la plupart des souches ont montré un faible pouvoir acidifiant (les valeurs d'acidité ne dépassent pas 28°D) à l'exception de *Lc .II*, *Lc. I2*, *Lc.I5* et *Lc. I** où le pouvoir acidifiant atteint respectivement 51°D, 52°D, 50°D et 50°D après 24 h d'incubation (figures : 25, 26, 27, 28, 29).

A 6°C, l'acidité initiale du lait ne change presque pas, sauf légèrement pour les souches *Lc .II*, *Lc. I2*, *Lc.I5* et *Lc. I** pour atteindre respectivement 25°D, 26°D, 24°D et 25°D après 24 h d'incubation (figures : 30, 31, 32, 33, 34).

L'allure générale de la cinétique d'acidification est similaire que se soit pour les souches locales ou les souches industrielles. Ceci s'ajoute au côté positif des souches locales.

Lucas et Reyrolle, (1989) ont testé la résistance des lactocoques aux acidités élevées et leurs résultats ont montré que les souches de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* sont résistantes à une acidité de 85°D, ce qui n'est pas le cas avec les souches de *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* et de *Lactococcus lactis* subsp *diacetylactis* qui sont sensibles à cette acidité.

Selon Deroissart et Luquet, (1994) l'aptitude acidifiante est une caractéristique propre à chaque souche bactérienne car elle est liée aux aptitudes particulières qu'elle possède à dégrader les composés du milieu pour les rendre assimilables et à transporter les éléments nutritifs dans le cytoplasme.

De même, selon Payens, (1979) et Brussow, (2001) tous les travaux montrent qu'il existe une grande diversité d'activité parmi les bactéries lactiques, même si les méthodes employées ne sont pas toujours comparables ni bien adaptées à la prévision des performances industrielles. On peut même observer que les différences entre souches recouvrent largement les différences entre espèces. Cette diversité dans l'activité acidifiante offre donc un large choix pour satisfaire différentes exigences technologiques.

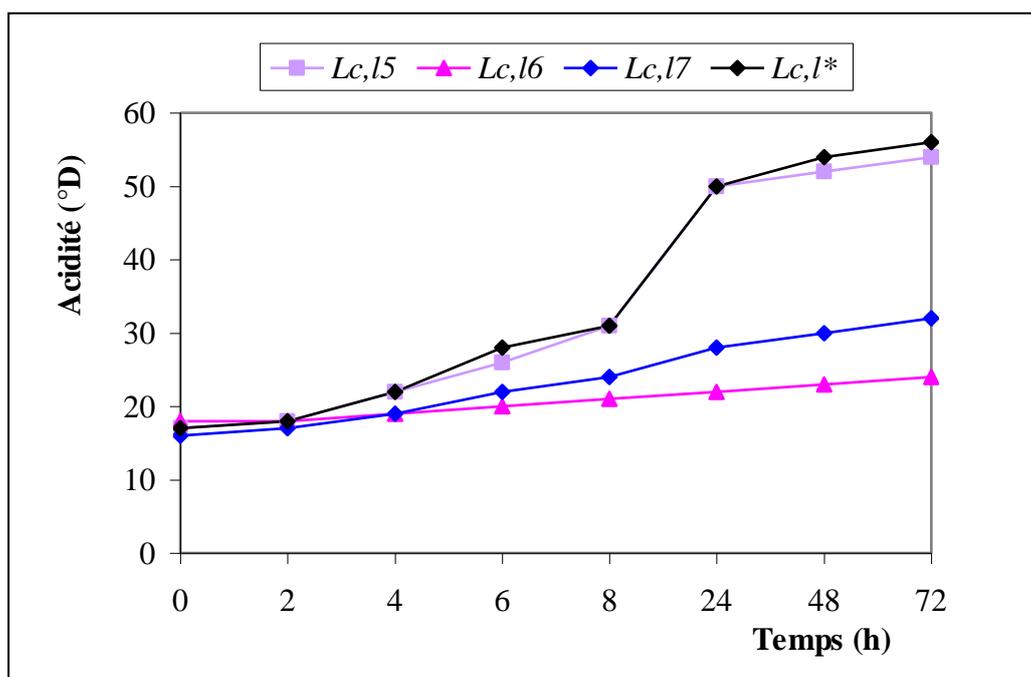


Figure 26 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. 15*, *Lc. 16*, *Lc. 17* et *Lc. 1**.

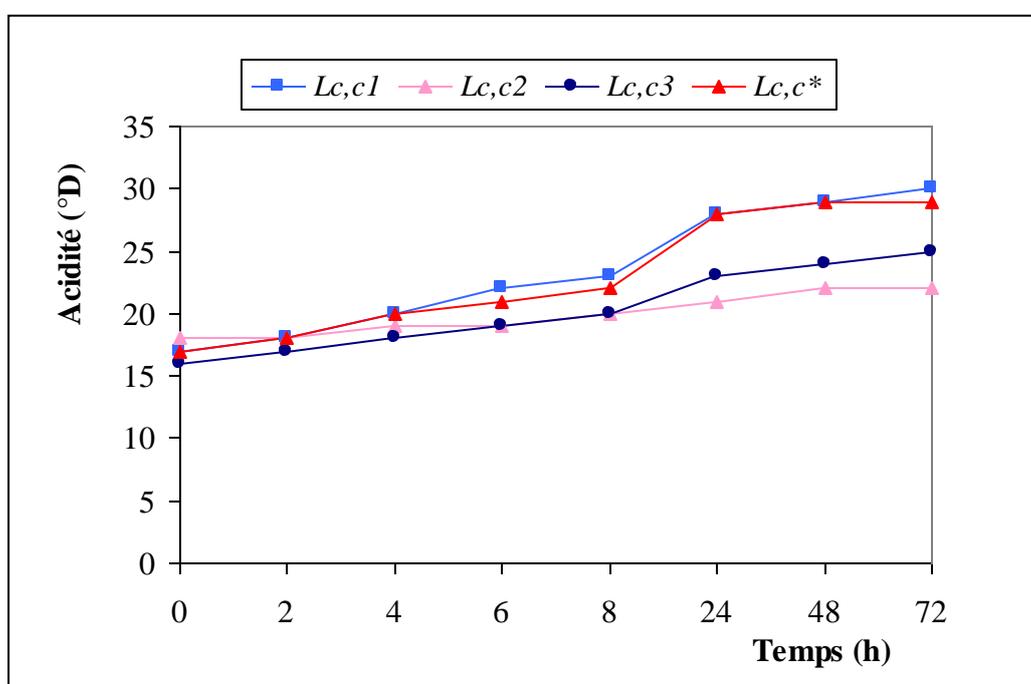


Figure 27: Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. c1*, *Lc. c2*, *Lc. c3* et *Lc. c**.

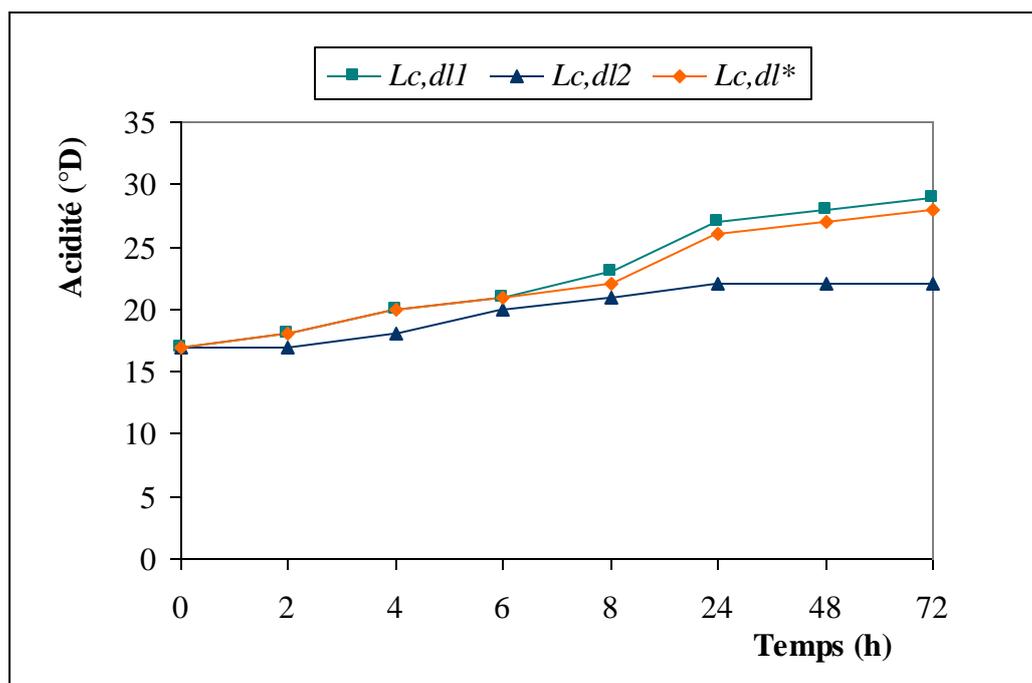


Figure 28: Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. dl1*, *Lc. dl2* et *Lc. dl**.

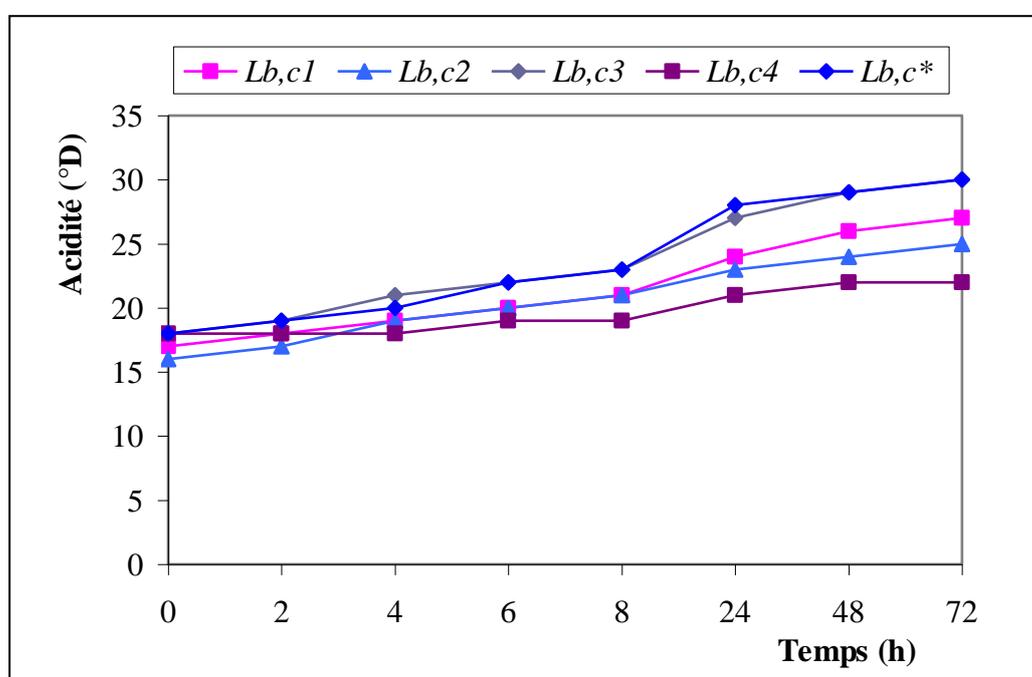


Figure 29 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lb. c1*, *Lb. c2*, *Lb. c3*, *Lb. c4* et *Lb. c**.

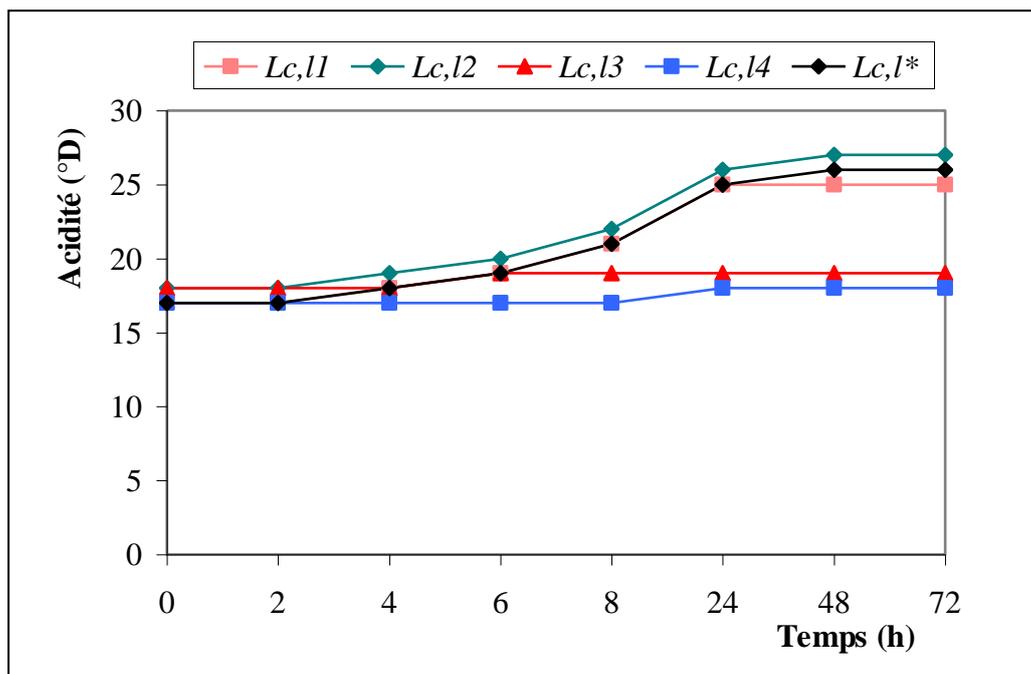


Figure 30 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. l1*, *Lc. l2*, *Lc. l3*, *Lc. l4* et *Lc. l**.

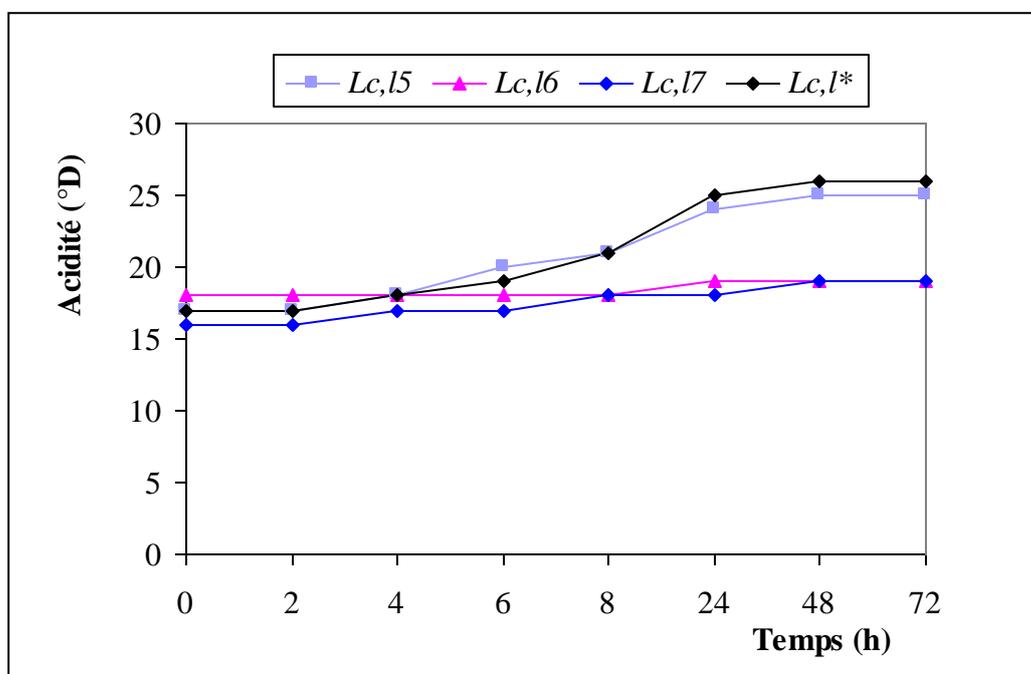


Figure 31 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. l5*, *Lc. l6*, *Lc. l7* et *Lc. l**.

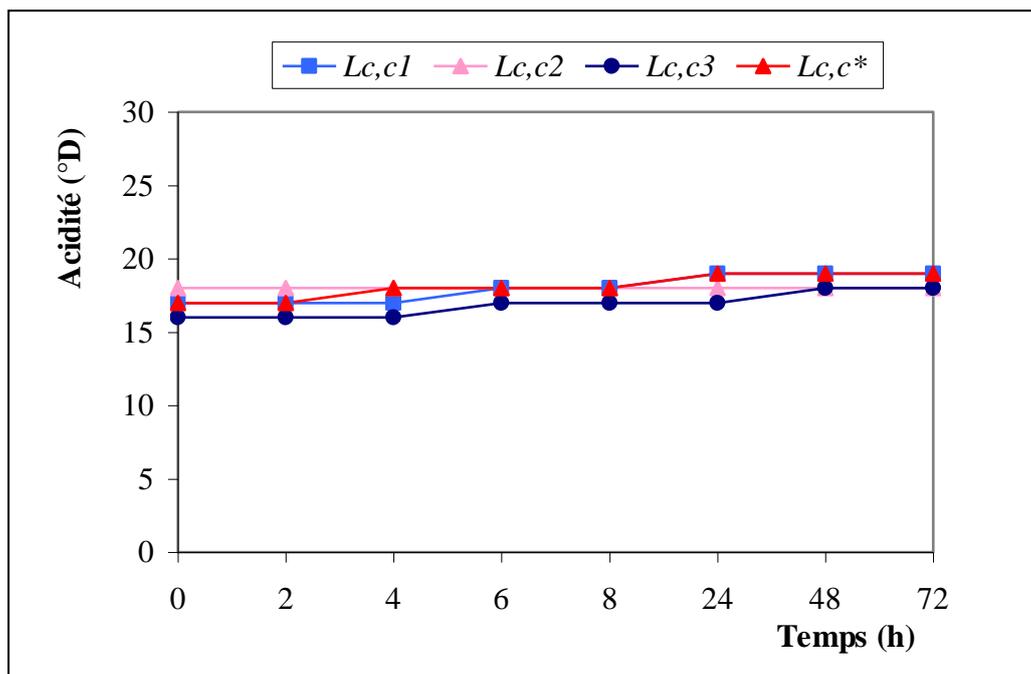


Figure 32 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. c1*, *Lc. c2*, *Lc. c3* et *Lc. c**.

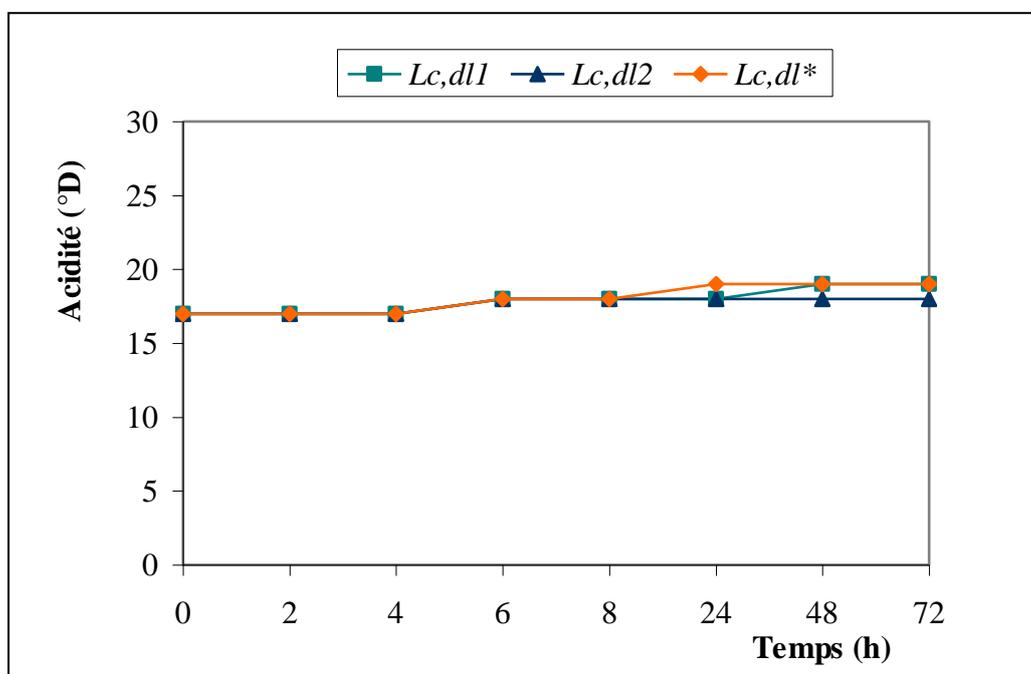


Figure 33: Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lc. dl1*, *Lc. dl2* et *Lc. dl**.

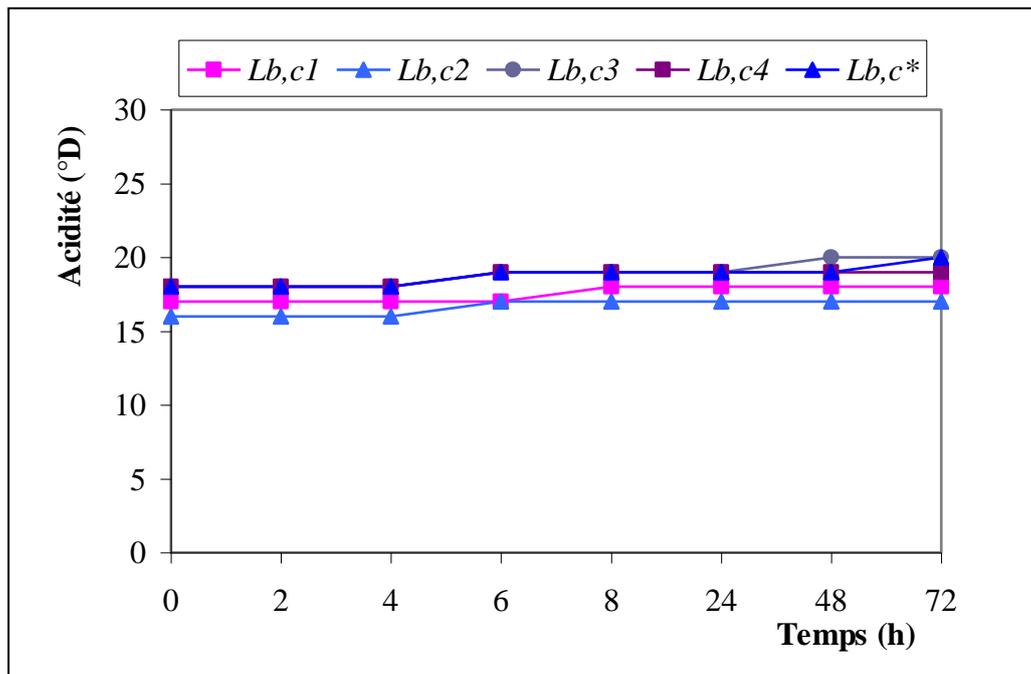


Figure 34 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures de *Lb. c1*, *Lb. c2*, *Lb. c3*, *Lb. c4* et *Lb. c**.

3.2/ Evolution de la biomasse

C'est l'un des premiers critères pris en compte dans la sélection des bactéries lactiques. En effet, une souche, même technologiquement intéressante ne présente guère d'intérêt si elle ne peut pas être produite en quantité suffisante. De plus, d'un point de vue économique, il est important de produire des souches donnant un maximum de biomasse en un minimum de temps.

A 27°C et comparativement aux souches commerciales, *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dll* et *Lb. c3* ont donné une bonne croissance. Leurs **D.O** atteignent, respectivement 0,942, 0,898, 0,936 et 0,907 après 3h d'incubation (tableau 30). Une augmentation est enregistrée en fonction de temps, pour atteindre des valeurs supérieures à 2 après 48h d'incubation. Ces valeurs diminuent au-delà de 96h d'incubation.

Cette diminution est due à l'épuisement des éléments nutritifs du milieu, mais aussi à l'augmentation de l'acidité qui a une incidence négative sur la croissance de *Lc. c* et *Lc. dll*.

Tableau 30 : Evolution de la croissance (D.O) à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	0 h	3 h	24 h	48 h	72 h	96 h
<i>Lc. l1</i>	0,262	0,822	1,380	1,880	> 2	> 2
<i>Lc. l2</i>	0,240	0,942	1,633	> 2	> 2	> 2
<i>Lc. l3</i>	0,236	0,851	1,449	1,840	> 2	> 2
<i>Lc. l4</i>	0,160	0,566	0,889	1,140	1,440	1,680
<i>Lc. l5</i>	0,246	0,884	1,290	1,780	> 2	> 2
<i>Lc. l6</i>	0,180	0,541	0,820	1,220	1,507	1,720
<i>Lc. l7</i>	0,206	0,608	1,130	1,480	1,590	1,889
<i>Lc. l*</i>	0,229	0,916	1,555	> 2	> 2	> 2
<i>Lc. c1</i>	0,260	0,898	1,503	> 2	> 2	> 2
<i>Lc. c2</i>	0,230	0,540	1,009	1,332	1,520	1,660
<i>Lc. c3</i>	0,243	0,688	1,133	1,409	1,630	1,790
<i>Lc. c*</i>	0,244	0,880	1,439	1,801	>2	>2
<i>Lc. dl1</i>	0,238	0,936	1,608	> 2	> 2	> 2
<i>Lc. dl2</i>	0,222	0,689	1,170	1,430	1,650	1,780
<i>Lc. dl*</i>	0,240	0,896	1,510	1,840	> 2	> 2
<i>Lb. c1</i>	0,211	0,668	1,210	1,498	1,678	1,789
<i>Lb. c2</i>	0,188	0,560	0,980	1,140	1,290	1,401
<i>Lb. c3</i>	0,230	0,907	1,499	> 2	> 2	> 2
<i>Lb. c4</i>	0,157	0,510	0,888	1,020	1,130	1,201
<i>Lb. c*</i>	0,240	0,888	1,388	>2	>2	>2

Les lactocoques ont un pH optimale d'action de 6,5 et un pH minimal de 4,5 (Deroissart et Luquet, 1994). Au dessous de pH 4,5, l'activité et la stabilité de nombreuses enzymes est fortement réduite. Des pH plus inférieurs provoquent des dommages cellulaires (Novel, 1993).

Résultats & discussion

A 14°C, *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dl1* et *Lb. c3* donnent toujours les meilleurs résultats, mais leur croissance est moindre par rapport à celle du précédent cas, avec 0,675 pour *Lc. l2*, 0,589 pour *Lc. c1*, 0,670 pour *Lc. dl1* et 0,546 pour *Lb. c3* après 3h d'incubation et avec 1,544, 1,463, 1,509 et 1,433 respectivement après 48h d'incubation (tableau 31).

Tableau 31 : Evolution de la croissance (D.O) à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	Temps					
	0 h	3 h	24 h	48 h	72 h	96 h
<i>Lc. l1</i>	0,262	0,533	0,968	1,433	1,818	> 2
<i>Lc. l2</i>	0,240	0,675	1,122	1,544	> 2	> 2
<i>Lc. l3</i>	0,236	0,551	0,988	1,468	1,886	> 2
<i>Lc. l4</i>	0,160	0,236	0,310	0,390	0,440	0,498
<i>Lc. l5</i>	0,246	0,568	0,996	1,498	1,907	> 2
<i>Lc. l6</i>	0,180	0,247	0,317	0,376	0,412	0,465
<i>Lc. l7</i>	0,206	0,318	0,386	0,459	0,509	0,613
<i>Lc. l*</i>	0,229	0,638	1,118	1,523	> 2	> 2
<i>Lc. c1</i>	0,260	0,589	1,098	1,463	1,955	> 2
<i>Lc. c2</i>	0,230	0,296	0,358	0,418	0,456	0,538
<i>Lc. c3</i>	0,243	0,332	0,392	0,466	0,512	0,609
<i>Lc. c*</i>	0,244	0,581	1,055	1,433	1,898	> 2
<i>Lc. dl1</i>	0,238	0,670	1,118	1,509	> 2	> 2
<i>Lc. dl2</i>	0,222	0,327	0,388	0,451	0,518	0,618
<i>Lc. dl*</i>	0,240	0,633	1,112	1,512	> 2	> 2
<i>Lb. c1</i>	0,211	0,338	0,378	0,466	0,529	0,633
<i>Lb. c2</i>	0,188	0,228	0,301	0,351	0,399	0,412
<i>Lb. c3</i>	0,230	0,546	1,009	1,433	1,888	> 2
<i>Lb. c4</i>	0,157	0,222	0,298	0,309	0,355	0,388
<i>Lb. c*</i>	0,240	0,555	1,103	1,435	1,918	> 2

Résultats & discussion

A 6°C, la croissance de *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dl1* et *Lb. c3* augmente légèrement dans le temps pour atteindre respectivement 0,522, 0,499, 0,510 et 0,389 après 96h d'incubation. Les autres souches ont montré une très faible croissance (la **D.O** ne dépasse pas 0,351 après 96 h d'incubation, tableau 32).

Tableau 32 : Evolution de la croissance (**D.O**) à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	0 h	3 h	24 h	48 h	72 h	96 h
<i>Lc. l1</i>	0,262	0,271	0,289	0,303	0,321	0,337
<i>Lc. l2</i>	0,240	0,258	0,298	0,368	0,472	0,522
<i>Lc. l3</i>	0,236	0,245	0,262	0,285	0,298	0,310
<i>Lc. l4</i>	0,160	0,164	0,175	0,181	0,188	0,192
<i>Lc. l5</i>	0,246	0,260	0,283	0,299	0,322	0,351
<i>Lc. l6</i>	0,180	0,183	0,186	0,189	0,191	0,191
<i>Lc. l7</i>	0,206	0,211	0,222	0,228	0,234	0,238
<i>Lc. l*</i>	0,229	0,247	0,287	0,366	0,455	0,513
<i>Lc. c1</i>	0,260	0,275	0,319	0,371	0,455	0,499
<i>Lc. c2</i>	0,230	0,233	0,239	0,244	0,249	0,252
<i>Lc. c3</i>	0,243	0,249	0,258	0,265	0,272	0,278
<i>Lc. c*</i>	0,244	0,261	0,303	0,377	0,461	0,485
<i>Lc. dl1</i>	0,238	0,254	0,299	0,355	0,449	0,510
<i>Lc. dl2</i>	0,222	0,225	0,232	0,238	0,245	0,249
<i>Lc. dl*</i>	0,240	0,257	0,301	0,381	0,459	0,499
<i>Lb. c1</i>	0,211	0,215	0,221	0,229	0,235	0,236
<i>Lb. c2</i>	0,188	0,189	0,193	0,199	0,201	0,203
<i>Lb. c3</i>	0,230	0,247	0,296	0,339	0,366	0,394
<i>Lb. c4</i>	0,157	0,161	0,165	0,168	0,171	0,172
<i>Lb. c*</i>	0,240	0,255	0,296	0,347	0,378	0,396

Les résultats trouvés semblent très intéressants et permettent de conclure que par comparaison aux souches commerciales, *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dl1* et *Lb. c3* sont actives à 14°C et même à 6°C et leur croissance est relativement bonne. A 27°C, la croissance est plus importante et augmente rapidement en fonction de temps.

Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Novel, (1993) ; Konnings, (1994) et Ducluzeau, (2001).

3.3/ Activité protéolytique

Cette activité qui est d'abord nécessaire au métabolisme azoté des bactéries lactiques, intervient sur les caractéristiques des produits laitiers fermentés. Le niveau de cette activité peut varier en fonction d'un certain nombre de facteurs physico-chimiques ou génétiques (Desmazeaud, 1996).

En fabrication fromagère, les protéases des bactéries lactiques sont le plus souvent associées à d'autres enzymes protéolytiques (plasmine, enzymes coagulantes). Ces associations, qui sont particulières à chaque type de fromage affiné, confèrent à ces derniers des caractéristiques organoleptiques spécifiques (Pearse *et al.*, 1986).

Les résultats de l'activité protéolytique des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles) sont résumés dans le tableau 33 et figure 35.

Tableau 33 : Résultats de l'activité protéolytique.

Souches	<i>Lc. l1</i>	<i>Lc. l2</i>	<i>Lc. l3</i>	<i>Lc. l4</i>	<i>Lc. l5</i>	<i>Lc. l6</i>	<i>Lc. l7</i>	<i>Lc. c1</i>	<i>Lc. c2</i>	<i>Lc. c3</i>	<i>Lc. c*</i>	<i>Lc. dl1</i>	<i>Lc. dl2</i>	<i>Lc. dl*</i>	<i>Lb. c1</i>	<i>Lb. c2</i>	<i>Lb. c3</i>	<i>Lb. c4</i>	<i>Lb. c*</i>
Activité protéolytique	AAP	AAP	AAP	AP	AAP	AP	AP	AAP	AAP	AP	AAP	AP	AP	AP	/	AP	AP	P	AP

Symboles :

A : acidification ; **A** : alcalinisation ; **P** : peptonisation ; / : aucune modification.

Ces résultats sont corroborés par l'étude de Hugenholtz *et al.*, (1987); Choisy *et al.*, (1997) et Guiraud, (1998).

En ce qui concerne les lactocoques, Leveau *et al.*, (1991) ont mis en évidence sur 9 souches des activités caséinolytiques se situant dans un intervalle de 10 à 23,5% et des activités aminopeptidasiques pouvant varier de 0 à 100%. Cette variabilité, selon les souches, des activités protéolytiques est retrouvée en fabrication fromagère expérimentale, les souches les plus protéolytiques *in vitro* étant à l'origine d'une hydrolyse des caséines plus prononcée au cours de l'affinage.

Pour les lactobacilles, Sepp *et al.*, (1993) ont montré qu'il existe une grande hétérogénéité et que celle-ci porte à la fois sur le niveau de l'activité protéolytique et la nature des composés libérés. En règle générale, les espèces thermophiles possèdent une activité protéolytique supérieure à celle des mésophiles.



Figure 35 : Résultat de l'activité protéolytique.

3.4/ Activité lipasique

Comme la plupart des microorganismes, les bactéries lactiques possèdent ce type d'activité ; cependant leur potentiel et par suite leur rôle technologique sont relativement discrets (Vignola *et al.*, 2002).

Les résultats de l'activité lipasique des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles) sont résumés dans le tableau 34.

Tableau 34 : Résultats de l'activité lipasique.

Souches	Lc.11	Lc.12	Lc.13	Lc.14	Lc.15	Lc.16	Lc.17	Lc.1*	Lc. c1	Lc. c2	Lc. c3	Lc. c*	Lc. dl1	Lc. dl2	Lc. dl*	Lb. c1	Lb. c2	Lb. c3	Lb. c4	Lb. c*
Activité lipasique	+	+	+	-	+	-	(+)	+	+	(+)	-	+	+	+	+	-	(+)	+	(+)	+

Symboles :

+ : présence d'activité ; - : absence d'activité ; (+) : activité peut marqué.

Les résultats trouvés montrent une grande variabilité de l'activité lipasique entre espèces et les souches de la même espèce.

En fait, les études effectuées sur quelques souches de lactobacilles mettent en évidence des activités lipolytique très faibles, les lactocoques et les leuconostocs étant, en général, plus actifs. Cependant, dans les fromages de lait pasteurisé à la flore essentiellement lactique, ces microorganismes sont sans doute responsables de l'essentiel de la lipolyse qui, bien que faible, n'est pas nulle (Konning, 1994).

3.5/ Activité aromatisante et acceptabilité organoleptique

Il ne s'agit pas seulement de caractériser les souches aromatisantes mais aussi d'éliminer les souches responsables de gros défauts organoleptiques :

- défauts de texture (aspect granuleux, filant...) ;
- défauts de goût (amertume, goût de poisson, goût métallique....)

Les résultats de l'analyse sensorielle des caillés des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles) sont résumés dans le tableau 35.

Tableau 35 : Résultats de l'analyse sensorielle des caillés des cultures pures.

Caillé	Texture	Odeur	Goût	Couleur
Culture de <i>Lc.l1</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.l2</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.l3</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.l4</i>	Friable	Peu agréable	Amère	Naturelle
Culture de <i>Lc.l5</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.l6</i>	Friable	Peu agréable	Amère	Naturelle
Culture de <i>Lc.l7</i>	Friable	Peu agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.l*</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.c1</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.c2</i>	Friable	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.c3</i>	Friable	Peu agréable	Amère	Naturelle
Culture de <i>Lc.c*</i>	Ferme	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.d11</i>	Friable	Très agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.d12</i>	Friable	Très agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lc.d1*</i>	Friable	Très agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lb. c1</i>	Ferme	Peu agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lb. c2</i>	Friable	Peu agréable	Amère	Naturelle
Culture de <i>Lb. c3</i>	Ferme	Très agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lb. c4</i>	Friable	Agréable	Non acide	Naturelle
Culture de <i>Lb. c*</i>	Ferme	Peu agréable	Amère	Naturelle

Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux trouvés par Sepp *et al.*, (1993) et Desmazeaud, (1996) qui attribuent une forte activité aromatique aux souches de *Lc. dl* et aux lactobacilles des groupe II et III.

Lactococcus lactis subsp *diacetylactis*, en culture sur lait, produit du diacétyl et de l'acétoïne ; parallèlement, il provoque une dégradation du citrate. La quantité de diacétyl formé varie beaucoup selon les souches : elle est en moyenne de 3 à 4 µg/ ml et peut atteindre au maximum 8 µg/ ml. La dose d' acétoïne se situe habituellement aux environs de 200 µg/ ml mais certaines souches peuvent en produire jusqu'à 300 µg/ ml (Luquet, 1990).

La production d'acétaldéhyde par les lactobacilles des groupes II et III présente également beaucoup d'intérêt car ce composé est susceptible d'être à l'origine du développement d'une saveur agréable (Novel, 1993).

3.6/ L' antibiorésistance

Les antibiotiques testés appartiennent à trois familles : β-lactamines (penicilline V, oxacilline et ampicilline), tétracyclines (doxycycline) et macrolides (érythromycine). Les résultats sont donnés dans le tableau 36.

Les souches de *Lc. l* (*Lc .l1*, *Lc .l2*, *Lc .l4*, *Lc. l7* et *Lc. l**), de *Lc. c* (*Lc .c1*, *Lc. c2* et *Lc.c**), de *Lc. dl* (*Lc. dl1*, *Lc .dl2* et *Lc. dl**) et de *Lb .c* (*Lb. c2*, *Lb. c3* et *Lb. c**) sont globalement sensibles aux antibiotiques utilisés même à faible dose. Contrairement, les autres souches de *Lc. l* (*Lc .l3*, *Lc .l5* et *Lc. l6*), de *Lc. c* (*Lc .c3*) et de *Lb .c* (*Lb. c1* et *Lb .c4*) sont résistantes aux faibles et moyennes doses de l'oxacilline et l'ampicilline.

Il est probable que pour les souches issues du lait de vache, cette résistance est due essentiellement à l'antibiothérapie appliquée. Par contre, la résistance remarquée chez les souches provenant du lait de chèvre et de brebis est liée au niveau élevé de substances antimicrobiennes présentes naturellement dans ces types de laits (Luquet, 1986).

Les résultats obtenus sont conformes avec les besoins de l'industrie laitière. Selon Dellaglio, (1994) l'idéal pour la fabrication laitière est d'employer des souches sensibles aux antibiotiques, car résistantes, elles peuvent transférer leur résistance aux autres bactéries du tube digestif lorsqu'elles

Résultats & discussion

sont ingérées. De plus, des bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent avoir perdu certaines de leurs caractéristiques originales.

Tableau 36 : Résultats de l'antibiogramme.

Souches	pénicilline V unités/ml			Oxacilline unités/ml			Ampicilline unités/ml			Erythromycine unités/ml			Doxycycline unités/ml		
	0,01	0,1	1	0,01	0,1	1	0,01	0,1	1	0,01	0,1	1	0,01	0,1	1
<i>Lc.l1</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l2</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l3</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l4</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l5</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l6</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l7</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.l*</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.c1</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.c2</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.c3</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.c*</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.dl1</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.dl2</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lc.dl*</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lb. c1</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lb. c2</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lb. c3</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lb. c4</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Lb. c*</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Symboles :

S : sensible ; R : résistante.

3.7/ La non production d'amines biogènes

L'histamine, la cadavérine et la putrescine sont accusées de provoquer des maux de tête, une forte accélération du rythme cardiaque et une baisse de la pression sanguine. Cela concerne quasi exclusivement les fromages affinés longtemps tels que le Gouda, le Cheddar vieux, l'Emmental, le Gorgonzola, le Roquefort, le Stilton... (Schmidt *et al.*, 1994).

Même si les bactéries lactiques utilisées habituellement dans les ferments de fromagerie ne produisent pas d'amines biogènes et si les teneurs des fromages en amines biogènes n'atteignent qu'exceptionnellement le niveau jugé dangereux ($> 1\text{g/ kg}$), on ne peut s'affranchir d'examiner cette activité lors de la sélection des bactéries lactiques et plus spécialement des lactobacilles utilisés en fromagerie (Desmazeaud, 1996).

D'après les résultats obtenus, toutes les souches (locales et industrielles) ne sont pas impliquées dans la production d'histamine (tableau 37) et ne présentent ni activité LDC (figure 36) ni activité ODC (figure 37).

Il semble bien que les bactéries lactiques mésophiles ne puissent être impliquées. En effet ; Salminen *et al.*, (1998) n'ont pas observé la présence d'amines biogènes dans des Gouda fabriqués dans de bonnes conditions d'hygiène avec du lait pasteurisé ($74^{\circ}\text{C}-10\text{ s}$) et avec les ferments utilisés habituellement aux Pays Bas et contenant les sous-espèces de *Lc. lactis* et *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*.

Tableau 37 : Résultats de la production d'histamine.

souches	pH des tubes témoins	pH des tubes contenant L-histidine
<i>Lc.l1</i>	4.35	4.36
<i>Lc.l2</i>	4.70	4.71
<i>Lc.l3</i>	4.60	4.60
<i>Lc.l4</i>	6.00	6.09
<i>Lc.l5</i>	4.96	4.99
<i>Lc.l6</i>	5.66	5.69
<i>Lc.l7</i>	5.69	5.69
<i>Lc.l*</i>	4.55	4.56
<i>Lc.c1</i>	5.88	5.89
<i>Lc.c2</i>	5.44	5.49
<i>Lc.c3</i>	6.01	6.01
<i>Lc.c*</i>	5.66	5.69
<i>Lc.dl1</i>	5.44	5.43
<i>Lc.dl2</i>	5.69	5.66
<i>Lc.dl*</i>	5.44	5.45
<i>Lb. c1</i>	5.98	5.98
<i>Lb. c2</i>	5.68	5.69
<i>Lb. c3</i>	5.45	5.46
<i>Lb. c4</i>	6.03	6.05
<i>Lb. c*</i>	5.55	5.59

A la fin de cette partie, l'ensemble des résultats obtenus nous a permis de qualifier les souches *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dl1* et *Lb. c3* comme meilleurs du point de vue technologique et organoleptique.

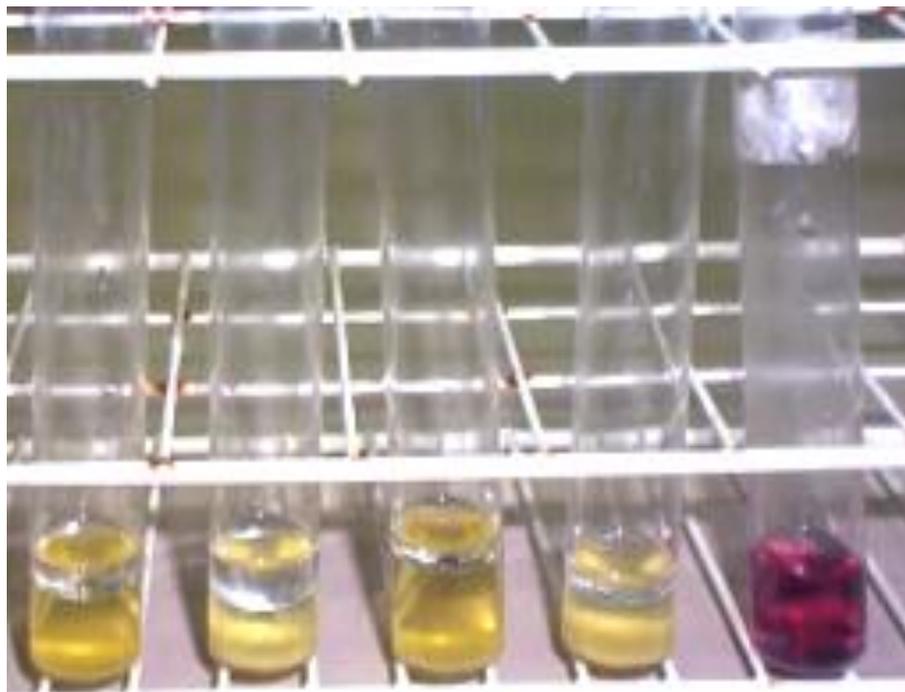


Figure 36 : Résultat de la décarboxylation de la lysine.
(Activité LDC)

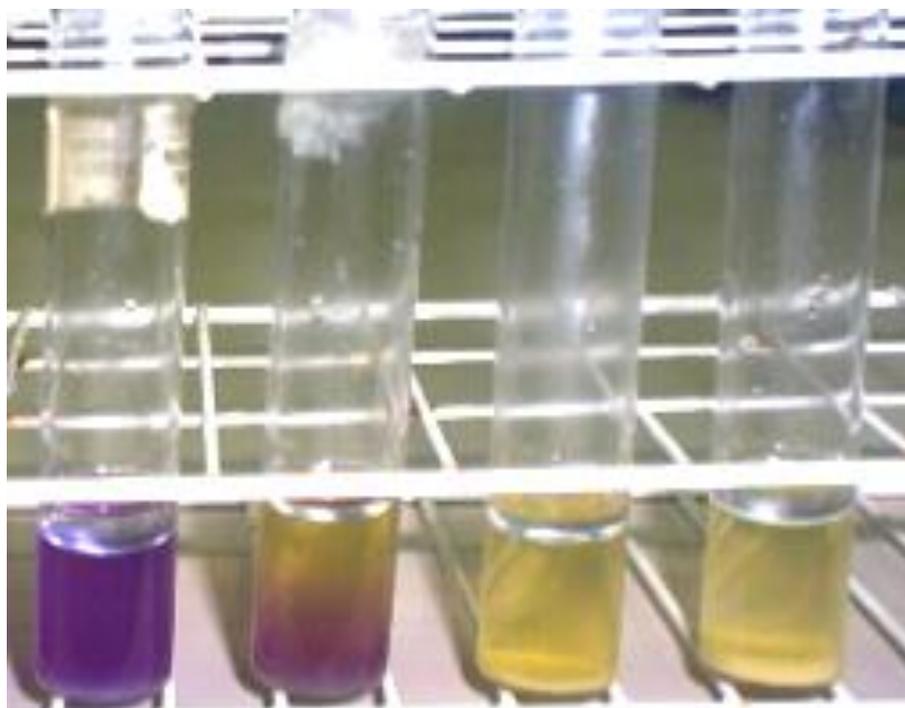


Figure 37 : Résultat de la décarboxylation de l'ornithine.
(Activité ODC)

Partie 2 : Fabrication du fromage de chèvre

1/ ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DU LAIT DE CHEVRE UTILISE

1.1/ Analyses physico-chimiques

1.1.1/ Matière sèche et matière grasse

Le lait de chèvre utilisé pour la fabrication du fromage contient environ 12,3 % de matière sèche avec 3,8 % de matière grasse.

Selon Charron, (1986) et Vignola *et al.*, (2002) le taux de matière sèche peut varier de 10,5 à 13,5 %, et de matière grasse de 3,2 à 4,1 %.

Les proportions de la matière sèche et de la matière grasse dans le lait de chèvre sont en relation directe avec les conditions d'élevage, d'alimentation, du stade de lactation et de la race (Morand-fehr *et al.*, 1976 ; St-Gelais *et al.*, 1999).

1.1.2/ L'acidité titrable et la densité

Tableau 38 : Résultats (acidité, densité)

Caractère	Résultat
Acidité titrable	15°D
Densité du lait à 20 °C	1,032

Ces résultats sont en concordance avec ceux donnés par la FAO, (1990) : une acidité qui varie de 14 à 18°D et une densité de 1,027-1,035.

L'acidité titrable du lait est relativement constante, mais son augmentation est un indice de lait anormal (Vignola *et al.*, 2002 ; Dudez et Broutin, 2003).

1.2/ Analyses microbiologiques

Le lait de chèvre utilisé est de bonne qualité microbiologique, tous les résultats obtenus sont conformes aux normes de la directive du contrôle officiel (DQ/SVHA/N83 n° 8088 du 21 juillet 1983). On note :

- L'absence des germes pathogènes (*Salmonella* et *Listeria monocytogenes*) ;
- Présence en très faible nombre de coliformes totaux < 5/ml.

2/ FABRICATION DU FROMAGE DE CHEVRE

2.1/ Ferments (levain)

Compte tenu des résultats de la première partie, nous avons choisi les 4 souches : *Lc. l2*, *Lc. c1*, *Lc. dl1* et *Lb. c3* pour les utiliser comme ferments dans la fabrication du fromage de chèvre. Le levain renferme un nombre important de cellules de ces 4 souches ($2,7 \cdot 10^8$ cellules / ml).

2.2/ Contrôle de la fabrication

2.2.1/ Evaluation du pH

Les valeurs du pH indiquent un bon déroulement de la fabrication (tableau 39).

Tableau 39 : valeurs du pH durant la fabrication du fromage de chèvre.

Étapes du procédé	Valeurs du pH
Pasteurisation du lait	6.6
Ensemencement	6.6
Emprésurage	6.6
Décaillage	5.1
Fin d'égouttage	4,9
Fin de salage	4,6
Fin d'affinage	5,0

Après ensemencement, et par la suite de la fermentation lactique, le pH du lait diminue pour atteindre une valeur de 5,1 après 18 h d'incubation. Cette valeur diminue en fonction du temps pour atteindre 4,6 après 120 h d'incubation (fin de salage).

Pendant l'affinage, le pH augmente progressivement sous l'effet de la désacidification (alcalinisation par protéolyse) pour atteindre une valeur de 5 après 10 jours d'affinage.

Ces résultats confirment ceux trouvés par Prease et Mackinlay, (1989) ; Le Great et Brule, (1993) ; Kosikowski, (1997) et Vignola *et al.*, (2002).

2.2.2/ Evolution des ferments

Des numérations de la flore lactique totale ont été réalisées quotidiennement sur le fromage de chèvre que nous avons fabriqué.

3 h après l'ensemencement du lait, le nombre de cellules des ferments par ml est relativement élevé $3,1 \cdot 10^6$ (figure 38). Ce nombre augmente rapidement en fonction du temps pour atteindre $7,9 \cdot 10^9$ cellules / ml après 72 h. Par la suite et après le salage, la concentration des ferments diminue relativement pour atteindre $3,1 \cdot 10^9$ cellules / ml après 120 h.

Kim *et al.*, (1994) observèrent un rapide déclin de la population des lactocoques dans des fromages frais et affinés après le salage, sans doute en raison de leur sensibilité au sel.

Aussi dans le même contexte, Mahaut *et al.*, (2000) montrent que la teneur en chlorure de sodium des laits de fromagerie peut influencer la survie des lactocoques.

Pendant l'affinage, le nombre de cellules des ferments réaugmente pour atteindre $6,3 \cdot 10^9$ cellules / ml après 1 jour (figure 39). La concentration reste supérieure à $7,5 \cdot 10^9$ cellules / ml pendant toute la période d'affinage (10 jours).

Ce résultat est conforme avec celui trouvé par Eck et Gillis, (1997) qui montrent qu'un affinage de 8 semaines à 12°C réduit assez peu la population des ferments lactiques.

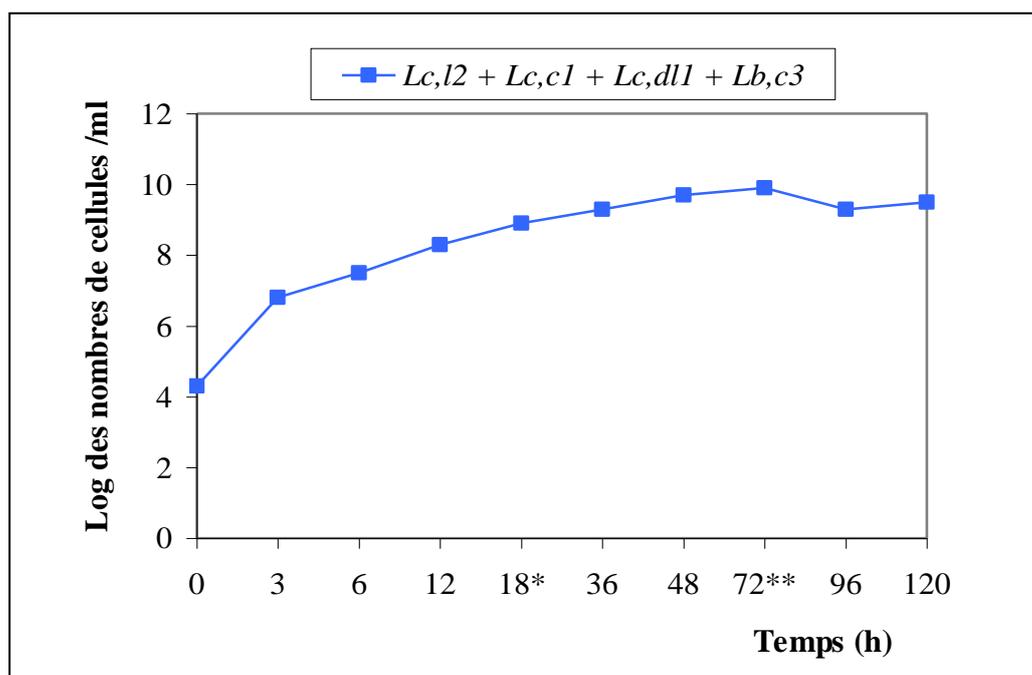


Figure 38 : Numération des ferments du fromage pendant le caillage, l'égouttage (*) et le salage (**) à 25 °C.

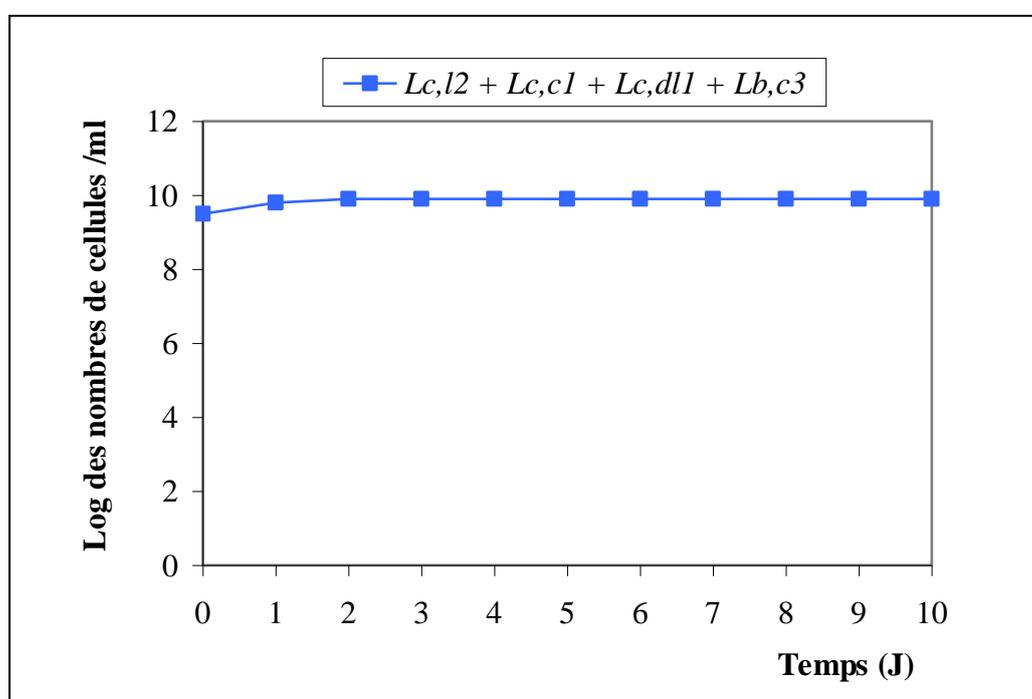


Figure 39 : Numération des ferments du fromage en cours d'affinage à 14 °C.

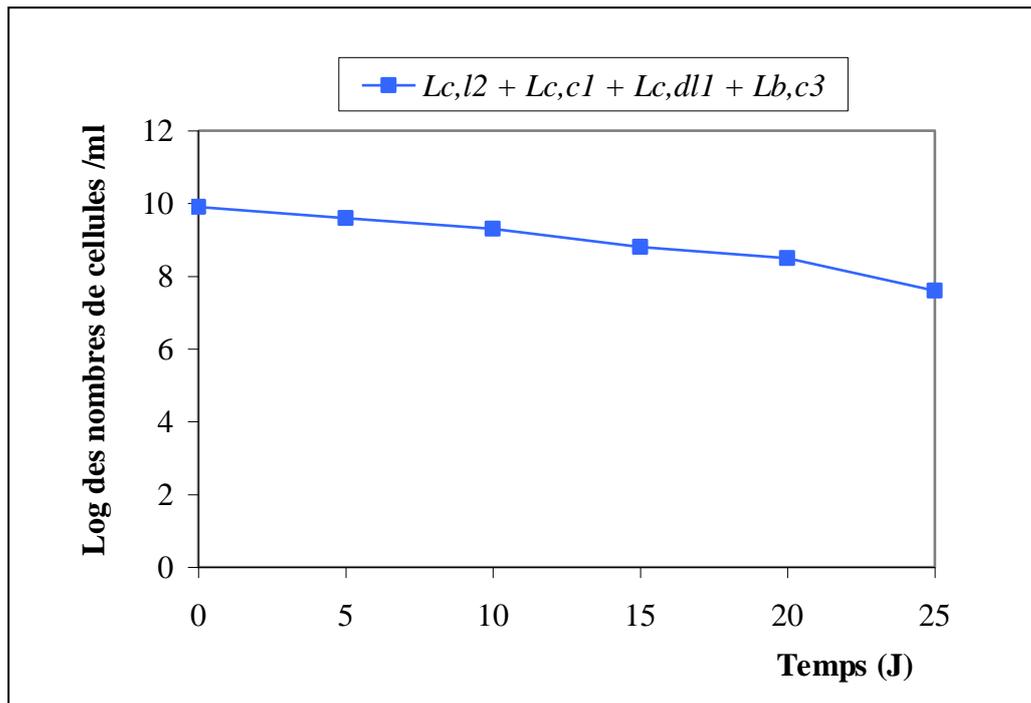


Figure 40 : Viabilité des ferments du fromage pendant le stockage à 6 °C.

Durant le stockage du fromage à 6°C, une faible diminution du nombre de cellules par ml est enregistrée en fonction du temps (figure 40). La concentration atteint $3,9 \cdot 10^7$ cellules / ml après 25 jours de stockage.

Selon Bornarel *et al.*, (2003) au cours de la commercialisation, le fromage est conservé au froid, à une température ne devant pas dépasser 8°C, pendant 1 mois ou plus. Dans ces conditions les ferments du fromage ne se multiplient pas, mais conservent néanmoins une activité métabolique.

Partie 3 : Evaluation de la qualité du fromage de chèvre

1/ QUALITE MICROBIOLOGIQUE

L'analyse microbiologique a pour but de vérifier que la qualité d'un aliment correspond aux objectifs que l'on s'est fixé. On peut classer ces objectifs en deux groupes :

- Respect de la qualité sanitaire et de la qualité commerciale courante ;
- Contrôle et amélioration des fabrications.

Le problème de l'interprétation est relativement simple. Il suffit de respecter la réglementation qu'elle que soit officielle ou qu'elle provienne d'organismes divers (services de normalisation nationaux ou internationaux, fédérations de producteurs, offices de commerce international, etc) (Guiraud, 1998).

L'analyse microbiologique montre que selon les normes posées par la directive CE (92/46), notre fromage de chèvre est de très bonne qualité hygiénique. En effet, on note :

- L'absence des germes pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Staphylocoques*, *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux) ;
- L'absence des levures et moisissures ;
- Présence en très faible nombre de coliformes totaux < 2/g ;
- Présence en très faible nombre des germes indologènes et putrides < 5/g ;
- L'absence de germes anaérobies stricts ;
- L'absence sinon la présence en très faible nombre des germes thermophiles, psychrophiles, lipolytiques et protéolytiques non lactiques ;
- Flore totale représentée à plus de 90% par les bactéries lactiques.

Selon Mahaut *et al.*, (2000) la production du fromage de chèvre de qualité sanitaire satisfaisante est évidemment possible à condition de respecter les règles d'hygiène applicables au niveau de la production et de la transformation du lait.

2/ QUALITE ORGANOLEPTIQUE

L'appréciation d'un fromage est basée d'une part sur l'analyse de sa composition chimique, avant tout sur sa teneur en protéines, en matière grasse et en matière sèche, et d'autre part sur les qualités sensorielles observables comme l'apparence, l'odeur et le goût, la structure de la pâte, les propriétés de la croûte, etc. (Bugaud *et al.*, 2002).

La figure 41 montre les valeurs moyennes des notes de chaque descripteur du fromage de chèvre que nous avons fabriqué, obtenues à partir des tests de dégustation.

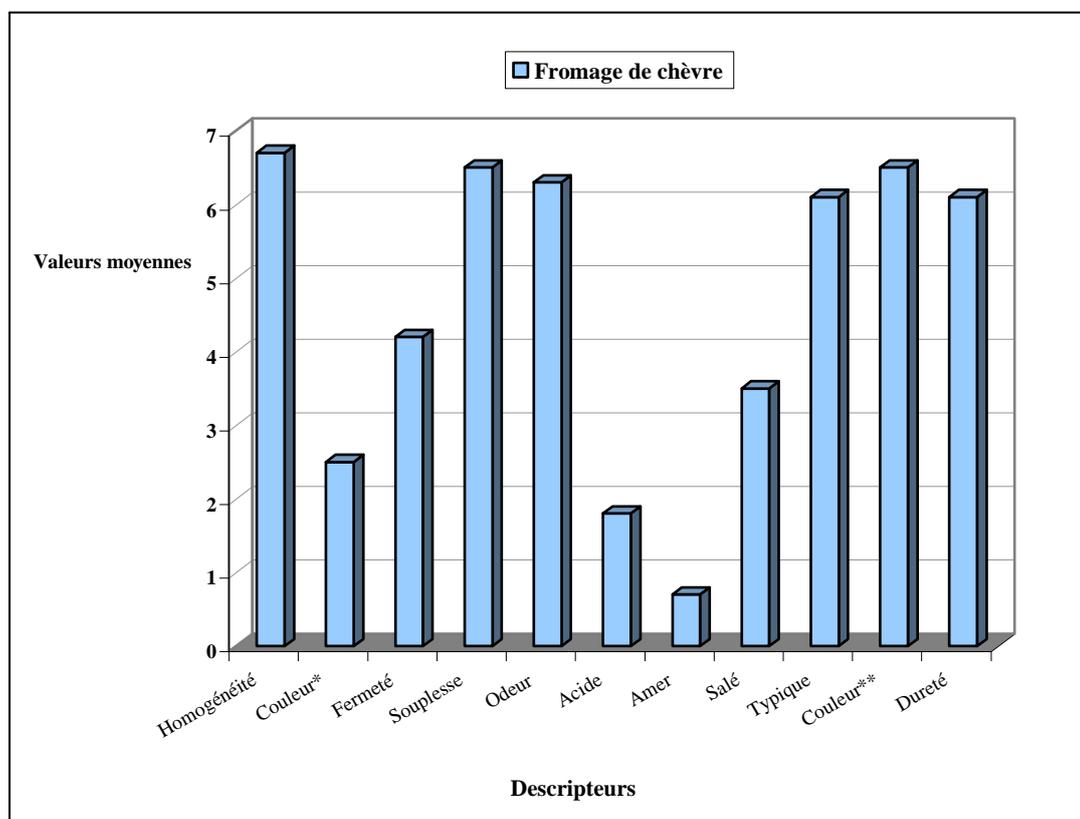


Figure 41 : Valeurs moyennes des notes de chaque descripteur du fromage de chèvre
 (* couleur de pâte, ** couleur de la croûte)

2.1/ Texture (pâte)

2.1.1/ Homogénéité

L'homogénéité de notre fromage de chèvre est très bonne, représenté par la notation 6,7 / 7. Cette homogénéité a une relation avec la qualité du lait de chèvre qui présente une structure homogène et stable.

Ce résultat confirme l'étude de St-Gelais *et al.*, (1999) qui montre que l'homogénéité d'un produit issu à partir du lait de chèvre est en relation directe avec l'homogénéité de ce dernier.

2.1.2/ Couleur

Notre fromage de chèvre a une couleur blanche (figure 42). Cette couleur est bien la couleur de base du lait de chèvre. Ce résultat est en concordance avec celui trouvé par Le Mens, (1984) ; Assenat, (1985) et Raynal et Remeuf, (2000).

Selon Pasuet et Toussaint, (1987) un produit fabriqué à base de lait de chèvre présente une couleur blanche très caractéristique qui provient de l'absence dans ces constituants d'un pigment naturel β carotène.

2.1.3/ Fermeté et souplesse

Les notes de 4,2 / 7 pour la fermeté et 6,5 / 7 pour la souplesse montrent que la pâte du fromage que nous avons fabriqué, est semi ferme (pas trop molle) mais souple.

Selon Dorioz, (2001) la fermeté, la finesse et la souplesse de la pâte d'un fromage de chèvre dépendent essentiellement de la durée et des conditions d'affinage.

La dégradation des protéines du caillé est un phénomène majeur de l'affinage, qui entraîne l'assouplissement de la pâte des fromages (FAO, 2002).



Figure 42 : Propriétés organoleptiques de notre fromage de chèvre.

2.2/ Odeur

Le résultat moyen est de 6,3 / 7. Nous avons enregistré une odeur très agréable avec une forte intensité globale, caractéristiques aux produits chèvres, (lait, fromage, yaourt).

Assenat, (1985) ; Le Jaouen, (1990) et Raynal et Remeuf, (2000) montrent que l'odeur et la saveur du fromage est similaire à celle du lait de chèvre. Bugaud *et al.*, (2002) trouvent que le fromage de chèvre a une saveur plus prononcée que celle du fromage de vache, l'intensité de sa saveur dépend de la race et de l'alimentation de l'animal, de la saison et des procédés de fabrication.

Ljutovac, (2002) affirme que la lipolyse, dégradation enzymatique de la matière grasse, conduit à la libération d'acides gras, permettant le développement de la saveur du fromage.

Aussi, d'après Rouel et Chilliard, (2003) la production de diacétyl est sans doute un élément majeur du goût de fromage. Le suivi du métabolisme des citrates dans différents fromages depuis le début de l'affinage (0,5% environ) jusqu'au produit fini permet souvent d'apprécier le développement d'une partie de la saveur.

2.3/ Goût

2.3.1/ Goût acide

La valeur moyenne de notre fromage (1,8 / 7) montre qu'il n'est pas acide. Une étude menée par la FAO, (2002) montre que la graisse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur, et les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité.

Une autre étude menée par Famelart *et al.*, (2002) indique que l'excès d'acidification est considéré comme une altération des fromages. Il peut avoir différentes causes : maturation trop poussée du lait, utilisation de souches trop acidifiantes, taux d'ensemencement excessif, température trop élevée au cours de l'acidification du caillé, etc.

2.3.2/ Goût amer

D'après le résultat obtenu (0,7 / 7), le fromage de chèvre que nous avons fabriqué, ne présente pas de goût amer.

Selon Luquet, (1990) une trop longue conservation, une activité protéolytique trop forte des ferments ou une contamination par des germes protéolytiques conduit à une amertume. De même, selon Hassan *et al.*, (2002) l'amertume des fromages est généralement due à la production de peptides amers par les enzymes protéolytiques des microorganismes et des agents coagulants.

2.3.3/ Goût salé

L'évaluation montre que notre fromage a un goût légèrement salé (3,5 / 7). Eck et Gillis, (1997) indiquent que les fromages de chèvre sont souvent très salés, afin de prolonger leur durée de conservation.

2.3.4/ Goût typique

Notre fromage de chèvre avec une valeur moyenne de 6,1 / 7 a un goût très typique. Selon Luquet , (1990) le lait de chèvre contient une grande proportion d'acides gras type caprique, qui donnent aux produits fabriqués à base de lait de chèvre leur goût si agréable.

Aussi, Mahaut *et al.*, (2000) montrent que les fromages de chèvre fermier fabriqués et vieillis à la ferme, ont un goût de chèvre typé.

2.4/ Croûte

La croûte de notre fromage est dure d'une couleur jaune très foncée (figure 42). Les notations obtenues sont de 6,1 / 7 pour la dureté et 6,5 / 7 pour la couleur. Cela est dû essentiellement au dessèchement de la croûte.

Ce résultat confirme celui trouvé par Syndifrais, (2003) qui indique que la croûte du fromage joue un rôle protecteur ce qui explique sa dureté.

3/ **QUALITE NUTRITIONNELLE**

Sous un faible volume, le fromage dispense des éléments essentiels de construction, de croissance et d'entretien des muscles, des organes et des os. C'est un produit qui s'adresse particulièrement aux enfants et aux personnes âgées. Aux enfants, parce qu'ils ont besoin pour se développer de protéines, de matières grasses de bonne qualité nutritionnelle, de vitamines et surtout de calcium, et aux personnes âgées, parce qu'elles se nourrissent peu et qu'elles ont besoin d'absorber calcium et vitamines en quantité suffisante sous un faible volume. Et aussi parce que la densité osseuse, surtout chez les femmes, est moindre (Debry, 2001)

Les résultats des analyses nutritionnelles (composition chimique) du fromage de chèvre sont donnés dans le tableau 40.

Tableau 40 : Composition chimique de notre fromage de chèvre.

Constituant	Teneur (pour 100 g de fromage)
Eau	43 g
Protéines	20,4 g
Matière grasse	31,7 g
Eléments minéraux (cendres)	4,3 g
Chlorures	2835 mg
Calcium	680 mg
Phosphore	490 mg
Acide lactique	60 mg
Azote sous forme aminée	3,7 g

Les résultats obtenus semblent intéressants et permettent de conclure que par comparaison aux différents types de fromages de chèvre, donnés par la bibliographie, le fromage que nous avons fabriqué peut être classé comme fromage à teneur en eau moyenne (contenant 35 à 60 % d'eau). Ces résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par Jaubert, (1997) ; Heuchel *et al.*, (2000) ; Mahaut *et al.*, (2000) et Vignola *et al.*, (2002).

3.1/ Matière sèche

La teneur en matière sèche est de 57 g pour 100 g de notre fromage de chèvre, ce qui lui confère une haute valeur nutritionnelle. Selon Jaubert, (1997) la teneur en matière sèche des fromages de chèvre type moyen se situe entre 40 et 65 %.

3.2/ Protéines

Les protéines représentent 35,8 % de la matière sèche de notre fromage et sont constituées essentiellement de caséines. St-Gelais *et al.*, (1999) indiquent que lors de la fabrication fromagère, c'est essentiellement la caséine qui constitue le fromage, tandis que les protéines solubles restent dans le lactosérum. La transformation du lait en fromage (présure ou autres enzymes, acidification) n'altère pas la qualité nutritive des protéines. La durée du processus de fabrication n'influence pas d'avantage l'utilisation protéique nette des substances peptidiques et azotées.

Famelart *et al.*, (2002) trouvent que la qualité nutritionnelle des fromages émane de leur teneur élevée en protéines riches en acides aminés essentiels, c'est-à-dire de haute valeur biologique.

3.3/ Matière grasse

La matière grasse représente 55,6 % de la matière sèche de notre fromage de chèvre. Cette teneur dépend essentiellement de la teneur initiale de matière grasse dans le lait (38 g/l). Selon Bellivier et Gaborit, (2000) la teneur lipidique du lait destiné à la production fromagère conditionne très largement le taux de matière grasse du produit fini. L'acceptabilité des fromages gras est habituellement supérieure, car leur haute teneur lipidique leur imprime une saveur plus appréciée.

Les graisses fromagères constituent un bon apport énergétique et leur digestibilité est généralement bonne (88 à 94 %). (Morgan, 2001).

3.4/ Eléments minéraux

Les éléments minéraux du fromage que nous avons fabriqué représentent les facteurs nutritionnels les plus intéressants (tableau 40). Le calcium et le phosphore s'y retrouvent en quantités supérieures à celles du lait (5 à 6 fois plus). Ce résultat conforme l'étude de Eck et Gillis, (1997).

Les fromages les plus gras contiennent relativement moins de calcium et de phosphore. Le lait présuré donne un fromage plus riche en calcium que le lait acidifié. Les deux tiers environ du calcium et la moitié du phosphore du lait accompagnent le caillé dans la transformation fromagère (Mahaut *et al.*, 2000).

La forte teneur en chlorures peut être expliquée par l'addition de sel. En effet, Buchin et Noël, (2002) indiquent que la teneur en chlorures peut varier fortement d'un produit fromager à l'autre (de 0,4 g à 4,6 g/100 g). Cette variabilité s'explique par l'inconstance d'une addition de sel. Dans certains pays (Iran, Turquie), le sel ajouté représente jusqu'à 10 % du poids du produit fini.

3.5 / Analyses particulières

3.5.1/ Acide lactique

En plus de son rôle déterminant de la valeur du pH, l'acide lactique peut aussi être considéré comme source d'énergie. Ce résultat est en concordance avec celui trouvé par Vignola *et al.*, (2002).

Aussi, d'après Casalta *et al.*, (2001) la transformation d'une partie du lactose lors de la fermentation fromagère en acide lactique, qui est un promoteur de l'absorption du calcium, accroît l'absorption du calcium.

3.5.2/ Azote sous forme aminée

Le résultat obtenu montre que l'intensité de la protéolyse est moyenne (la teneur en matière azotée soluble représente environ 20 % des protéines de notre fromage), ce qui explique l'absence de l'amertume.

Au cours de la phase de maturation enzymatique du fromage (affinage), la protéolyse partielle de la matière première (essentiellement la caséine insoluble) libère un ensemble de produits de dégradation azotés. Ces substances solubles sont des oligopeptides, des acides aminés, de l'ammoniac et même des acides gras courts (produits de désamination). Selon les techniques de fabrication, chaque fromage possède des métabolites azotés à des concentrations propres, qui augmentent d'ailleurs au fur et à mesure que l'affinage progresse. La proportion de matière azotée soluble qui apparaît ainsi varie de 10 à 60 % selon les fromages (Jouan, 2002).

3.5.3/ Acides gras

Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des acides gras du fromage de chèvre par CPG sont présentés par les figures (43, 44, 45 et 46).

Pour interpréter les résultats d'analyse par CPG, il faut prendre en considération que les corps gras sont des produits naturels dont la composition varie dans de très large limites en fonction de : l'âge, la saison, la nourriture et la région d'élevage (Martin *et al.*, 2000 et Bugaud *et al.*, 2002).

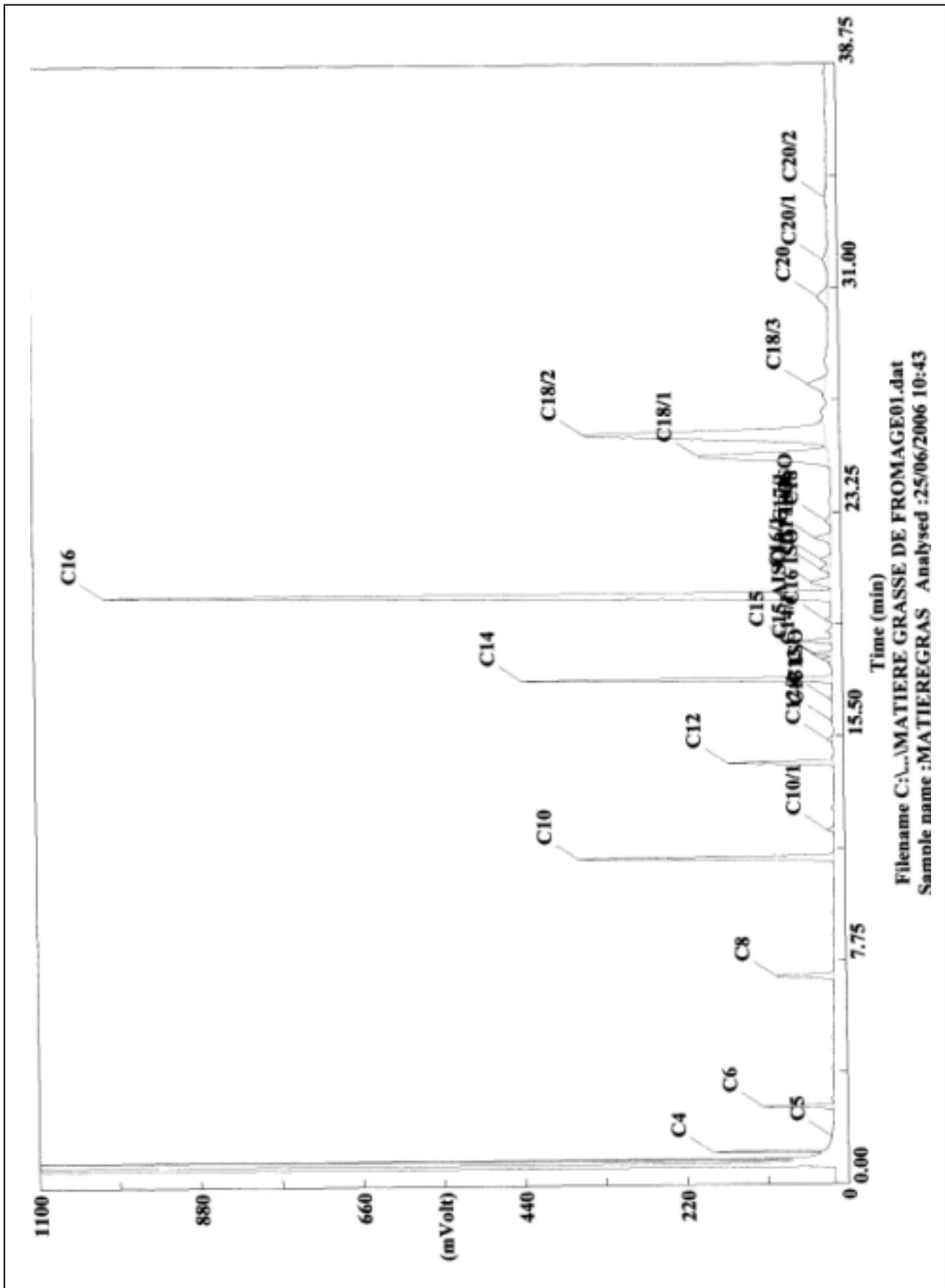


Figure 43 : Les résultats de l'analyse qualitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse (CPG).

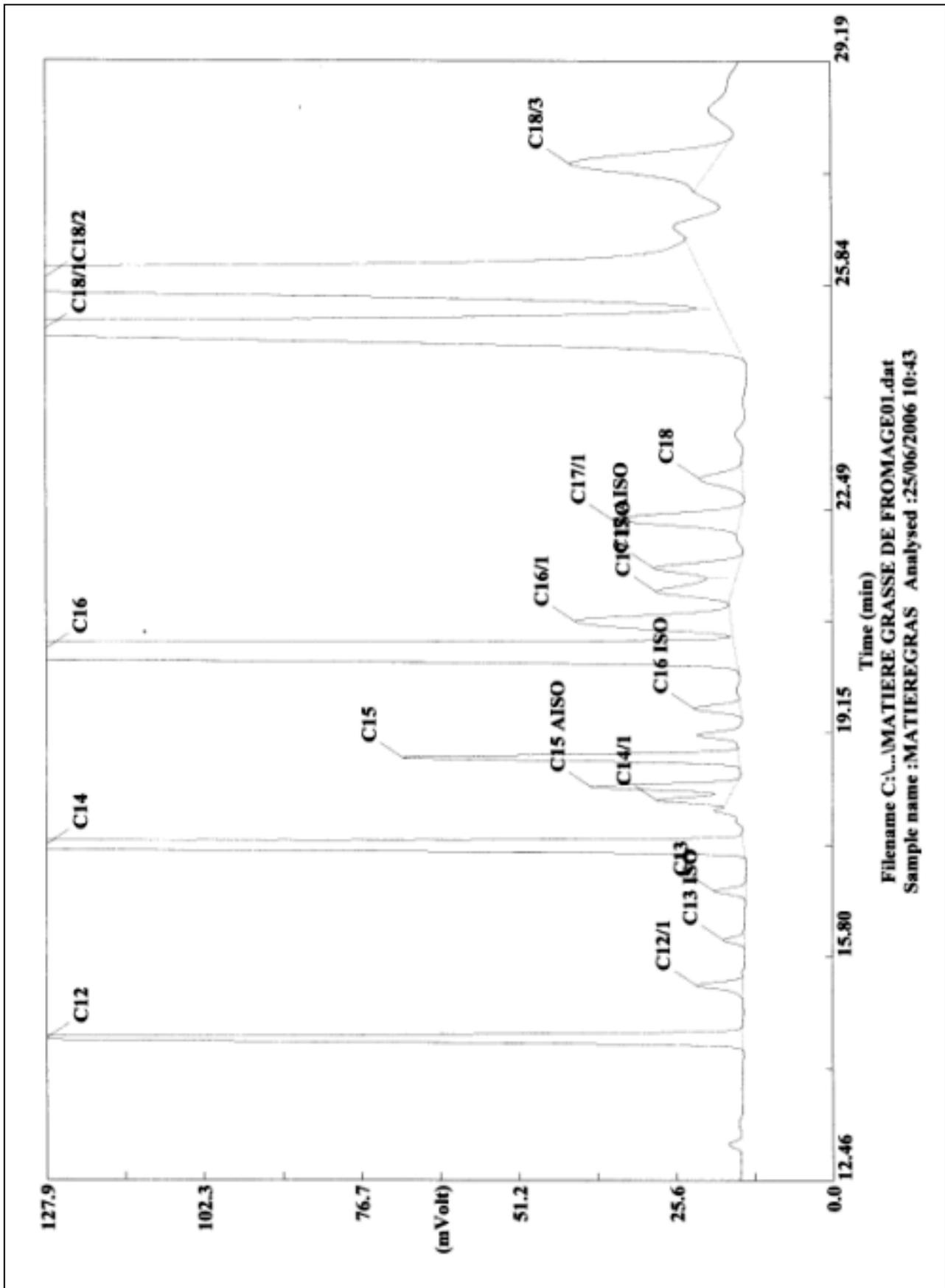


Figure 44 : Les résultats de l'analyse qualitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse (CPG).

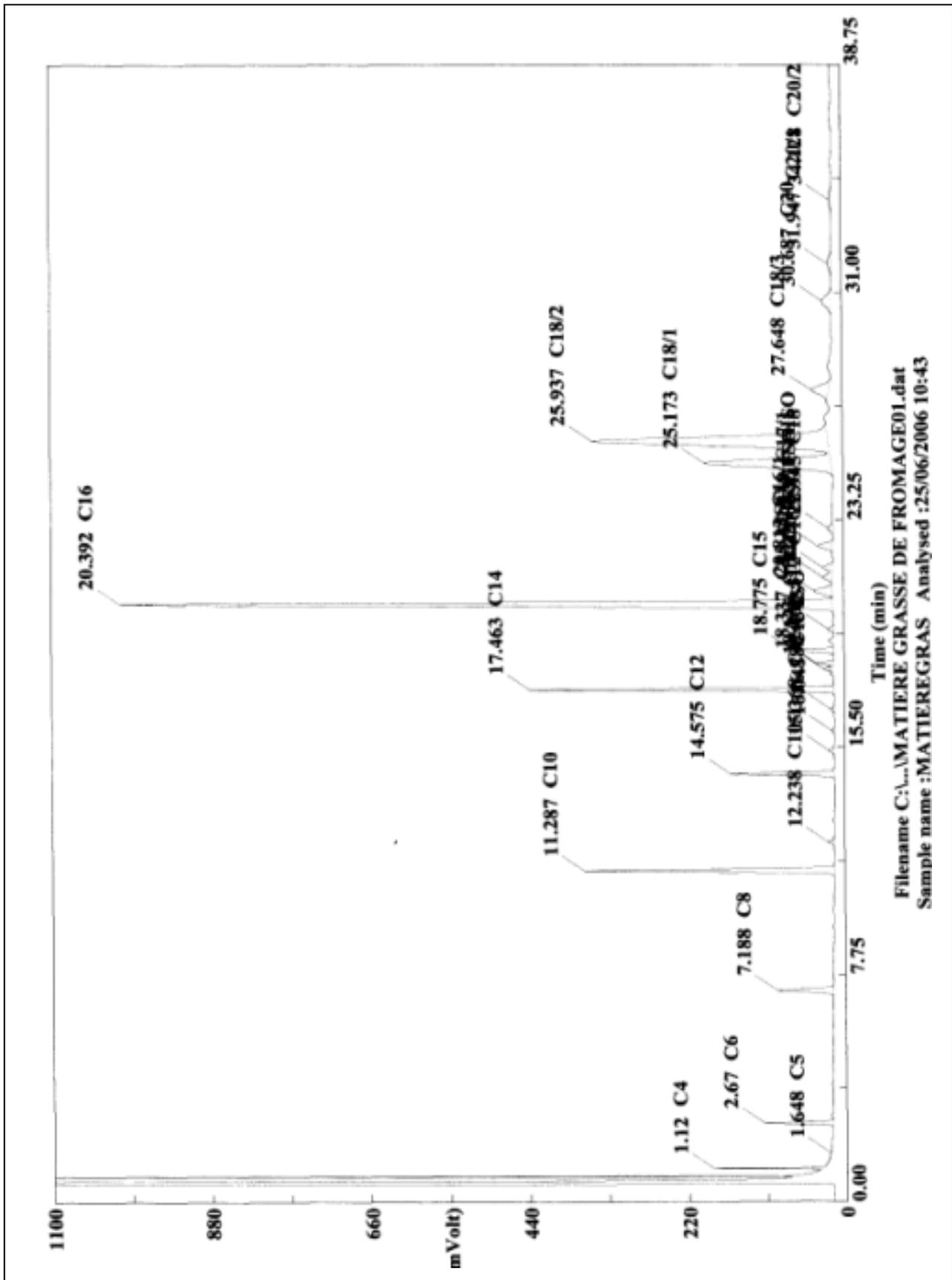


Figure 45 : Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse (CPG).

Chrom-Card Report

Page: 1 Sample: MATIEREGRAS (MATIERE)

Method Name : BEURRE PROG
 Method File : C:\CPG\BEURRE PROG.mth
 Chromatogram : MATIERE
 Operator ID : SAF Company Name : LABO
 Analysed : 25/06/2006 10:43 Printed : 25/06/2006 14:18
 Sample ID : MATIEREGRAS Channel : (FID)
 Analysis Type : Unknown (Area) Calc. Method : Area %

Warning Chromatogram has been subjected to manual integration.

Peak Number #	Area %	Ret.Time	Area	BC
C4	1.0134	1.12	2970522	mi
C5	4.2423390E-03	1.65	12435	mi
C6	1.6186	2.67	4744259	mi
C8	2.0995	7.19	6153871	mi
C10	7.9615	11.29	23336620	mi
C10/1	0.1777	12.24	520735	mi
C12	3.0861	14.58	9045723	mi
C12/1	0.1944	15.37	569747	mi
C13 ISO	0.0717	16.05	210278	mi
C13	0.1122	16.78	328882	mi
C14	9.2238	17.46	27036610	mi
C14/1	0.2396	18.14	702333	mi
C15 AI80	0.5145	18.34	1507940	mi
C15	1.1806	18.78	3460454	mi
C16 ISO	0.1968	19.51	576744	mi
C16	32.1185	20.39	94144770	mi
C16/1	1.1482	20.81	3424063	mi
C17 ISO	0.5308	21.26	1555990	mi
C17 AI80	0.5416	21.61	1587494	mi
C17/1	0.8509	22.34	2494137	mi
C18	0.3226	22.95	945489	mi
C18/1	11.0464	25.17	32378890	mi
C18/2	22.0556	25.94	64648750	mi
C18/3	1.6223	27.65	4755209	mi
C20	1.1735	30.69	3439723	mi
C20/1	0.5160	31.95	1512400	mi
C20/2	0.3591	34.13	1052505	mi
Totals	100.0000		293116600	

Figure 46 : Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des acides gras de notre fromage de chèvre par chromatographie phase gazeuse (CPG).

L'analyse qualitative a mis en évidence la présence, en plus des acides gras habituels du lait de chèvre, des acides gras à nombre impair de carbones (C5, C13, C15 et C17). Ces acides résultent de la dégradation de certains acides aminés par les ferments lactiques mésophiles au cours de l'affinage de notre fromage. Ce résultat est conforme avec celui de Fox et Mcsweeney, (1996) et Morgan, (2001).

Du point de vue quantitative (figure 46), le fromage de chèvre que nous avons fabriqué est surtout riche en acide palmitique, linoléique, oléique, myristique, caprique, laurique et caprylique.

Par comparaison au beurre (tableau 41), notre fromage de chèvre est plus riche en acide linoléique et caprique et moins riche en acide oléique, butyrique et stéarique.

La présence des acides gras volatils (C4, C6 et C8) et des acides gras à nombre impair de carbones, avec des quantités relativement bonnes, explique la notation de 6,3 / 7 attribuée à l'odeur du fromage par le jury de dégustation. (Ces acides sont responsables de l'odeur du fromage).

Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Multon *et al.*, (1991) ; Agabriel *et al.*, (1999) ; Collomb *et al.*, (1999) ; Lambert (1999) ; St-Gelais *et al.*, (1999) et Hurtaud *et al.*, (2002) .

Tableau 41 : Composition des acides gras du beurre et du fromage de chèvre fabriqué.

Acides gras	Beurre	Fromage de chèvre fabriqué
C4	2,8-4,5	1,01
C5	/	4,24
C6	1,1-3,0	1,62
C8	1,1-2,1	2,1
C10	2,1-3,9	7,97
C10/1	/	0,17
C12	2,6-4,2	3,0
C12/1	/	0,19
C13	/	0,11
C14	8,2-14,5	9,22
C14/1	2,0-3,0	0,74
C15	1,5-1,8	1,18
C16 Iso	0,3-0,5	0,19
C16	22-38	32,11
C17 totaux	1,9-2,9	1,92
C18	6,6-13,5	0,32
C18/1	16-35	11,04
C18/2	1,3-2,9	22,05
C18/3	0,7-4,8	1,62
C20	< 0,5	1,17
C20/1	< 0,5	0,51
C20/2	/	0,35

CONCLUSION

La transformation du lait en fromage dépend de plusieurs facteurs : ferments lactiques, paramètres technologiques (conditions de la coagulation, la nature et l'intensité du travail mécanique, la vitesse d'égouttage, les conditions d'affinage...) et spécialement le lait utilisé (composition chimique et microbiologique).

Dans une première partie, l'identification des souches de bactéries lactiques mésophiles isolées à partir de lait de vache, de chèvre et de brebis, collectés dans différentes régions des wilayas de Ain-Defla et Chlef, a permis d'obtenir une collection de 16 souches dont : 7 souches de *Lactococcus lactis subsp lactis*, 2 souches de *Lactococcus lactis subsp lactis biovar diacetylactis*, 3 souches de *Lactococcus lactis subsp cremoris* et 4 souches de *Lactobacillus casei*. Leur caractérisation technologique, et par comparaison aux souches industrielles (*Lc. l**, *Lc. dl**, *Lc. c** et *Lb. c**), a permis de sélectionner les souches *Lc. l2*, *Lc. dl1*, *Lc. c1* et *Lb. c3* (ayant des caractéristiques optimales) pour être utiliser comme levain dans la fabrication fromagère.

Dans une deuxième partie, la fabrication du fromage de chèvre à été réalisée avec réussite. Les résultats du contrôle de fabrication la confirment.

Dans une troisième partie, l'évaluation de la qualité du fromage de chèvre révèle : une bonne qualité hygiénique qui répond aux normes fixées par la FAO, (2002), une qualité organoleptique très appréciable, jugée par la totalité des membres du jury et une qualité nutritionnelle satisfaisante avec une richesse en éléments minéraux notamment le calcium, un taux protéique et lipidique important et une bonne teneur en acides gras essentiels.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADRIAN J., POTUS J. et FRANGNE R., (1995). La science alimentaire de A à Z. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.

ADRIAN J., POTUS J., POIFFAIT A. et DAUVILLIER P., (1998). Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.

AGABRIEL C., COULON J.B., JOURNAL C., SIBRA C. et ALBOUY H., (1999). Variabilité des caractéristiques des fromages saint-nectaire fermiers : relations avec la composition du lait et les conditions de production. *Le lait*, 79 : 291-302.

AKTYPIS.A. KANTZOPOULOS G., HUIS in't VELD J.H.J et TEN BRINB B., (1998). Purification and characterization of thermo-philin T, a novel bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0040. *Journal of Applied Microbiology*, 84 : 568- 576.

ALAIS C., (1984). Science du lait : principes des techniques laitières, 4^{ème} édition, Paris, 814 p.

AMIOT J., (2001). Technologie alimentaire et nutrition. *Notes de cours*. Université Laval, 166p.

ANTOINE J.M., ADAM F., FAZEL A., HARTEL Y.D., (1993). Bactéries lactiques en alimentation humaine, *bactéries lactiques 2*. Ed. Lorica; 419-428.

ASSENAT L., (1985). La lait de brebis : composition et propriétés. Ed. Eck. PP 222-356.

AUBERT C., (1998). Caractérisation microbiologique du fromage type Venaco : un fromage de corse à pâte molle. *Rap*. Ecole nationale supérieure de biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation, Corté, France.

AUDIGIE C., FIGARELLA J. et ZONZAIN F., (1986). Manipulations d'analyse biochimique. Ed. DION. Paris.

AUDIGIE C., DUPONT G. et ZONZAIN F., (1992). Principes des méthodes d'analyse biochimique. Ed. DION. Paris.

- BELLIVIER A.C. et GABORIT P., (2000). Lipolyse naturelle du lait de chèvre et qualité organoleptique des fromages. *Renc Rech Rumin*, 7 : 315-319.
- BERGERE J.L., (1984). Autre traitements du lait de fromagerie et substances auxiliaires de fabrication ajoutées au lait, *le fromage*. Ed. Ecka ; 181-187.
- BERNNAN N.M., BROWN R., GOODFELLOW M., WARD A.C., BERESFORD T.P., SIMPSON P.J., FOX P.F. et COGAN t.M., (2001). Les bactéries lactiques. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 843-852.
- BORNAREL P., BOULBAYE P., HUGOO P. et GAOU K., (2003). Etat de la situation sanitaire des produits laitiers commercialisés dans la zone préurbaine de N'jaména. *Renc Rech Rumin*, 18 : 14-36.
- BOUDIER J.F., (1985). Les biocatalyseurs. In : laits et produits laitiers. Ed. Eck. PP 45-74.
- BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F. et ZUCCA J., (1996). Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.
- BOYAVAL P., DEBORDE C., CORRE C., BLANCO C. et BEGUE E., (1999). *Le lait*, 79 : 59-69.
- BRÛLE G., LENOIR J. et REMEUF F., (1997). La micelle de caséine et la coagulation du lait. *Le fromage*, partie 1, chap. 1, Edition Eck A., Gillis J. C. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 7-41.
- BRÛSSOW H.,(2001). Bactéries lactiques mésophiles. *Annu. Rev. Microbiol.*, 55 : 283-303.
- BUCHIN S. et NOEL Y., (2002). Connaissance et choix des produits laitiers : exemple des fromages. *Nafas Pratique*, 10 : 56-59.
- BUDIN J.P., (2000). Présentation de l'évaluation sensorielle : valorisation des produits laitiers des ovins et des caprins en méditerranée. Ed. Ciheam, France, 1-21.

BUGAUD C., BUCHIN S., HAUWUY A. et COULON J.B., (2002). Texture et flaveur du fromage selon la nature du pâturage. *Production Animales*, 15 (1) : 31-36.

CARON A., ST-GELAIS D. et POULIOT Y., (1997). Coagulation of milk enriched with ultrafiltered or diafiltered microfiltered milk retentate powders. *International Dairy Journal*, 7 (6-7): 445-451.

CASALTA E., NOEL Y., LE BARS D., CARRE C., ACHILLEOS C. et MAROSELLI M.X., (2001). Caractérisation du fromage Bastelicaccia. *Lait*, 81 : 529-546.

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, 210 p.

CHAMPAGNE C.P. et MOINEAU S., (2003). Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière : bactériophages. Ed. Fondation des Gouverneurs. PP 89-116.

CHARRON G., (1986). Les produits laitiers. Techniques et documentation Lavoisier.

CHEFTEL J.C., CHEFTEL H. et BESANON P., (1983). Qualité et caractères organoleptiques des aliments : introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 30-65.

CHOISY C., DESMAZEAUD M., GRIPON J.C., LAMBERET G. et LELOIR J., (1997). La biochimie de l'affinage. *Le fromage*, partie 1, chap. 4, Edition Eck A., Gillis J. C. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 86-164.

COGAN T.M., (1980). Les levains lactiques mésophiles. *Le lait*, 60 (597): 397-425.

COLLINS M.D. et GIBSON G.R., (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Ann. J. Clin. Nutr.*, 69: 12525-75.

COLLOMB J.B., BUTIKOFER U., SPAHNI M., JEANGROS B. et BOSSET J.O., (1999). Composition en acides gras et en glycérides de la matière grasse du lait de chèvre en zone de montagne et de plaine. *Sci. Aliments*, 19 : 97-110.

Références bibliographiques

- CONTRERAS A., CORRALES J.C. et SIERA D., (1993). Caprine intermammary infection : Quality of milk. *Le lait*, 73 (5-6): 485-488.
- CORCY J.C. et LEPAGE M., (1991). Fromages fermiers. La Maison Rustique Ed, Paris. 187 p.
- CORTHER G., (2004). Caractéristiques spécifiques des probiotiques : Les bénéfices santé des probiotiques. *Danone Nutritopics*, 29 : 1-3.
- DAVIAU C., FAMELART M.H., PIERRE A., GOUDEDRANCHE H. et MAUBOIS J.L., (2000). Rennet coagulation of skin milk and curd drainage: Effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. *Lait*, 80 (4): 397-415.
- DEBRY G., (2001). Lait, nutrition et santé. Techniques et documentation Lavoisier. Paris, 544 p.
- DELLAGLIO F., (1988). Starters for fermented milks, section 3: thermophilic starters in "fermented milks, sciences and technology". *Bulletin Fil*, 227: 27-33.
- DELLAGLIO F., (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Ed. Loriga Lavoisier, Paris, 1-37.
- DEROISSART H.B., (1986). Les bactéries lactiques: lait et produits laitiers vaches, Brebis, Chèvres. Ed. Arria, 3: 343-408.
- DEROISSART H.B. et LUQUET M., (1994). " Bactéries lactiques" Vol I. Ed. Loriga. 605 p.
- DESJEUX J.F., (1993). Valeur nutritionnelle du lait de chèvre. *Le lait*, 71 (2-3): 537-580.
- DESMAZEAUD M., (1983). L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques, *Le Lait*, 63: 267-316.
- DESMAZEAUD M., (1996). Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: utilisation et innocuité. *Cahier agricultures*, 5: 331-343.
- DILMI-BOURAS A., (2002). Survie de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et leur action sur le métabolisme du cholestérol. *Thèse de doctorat d'état*, INA, EL-Harrach, Alger.

- DILMI-BOURAS A. et SADOUD D., (2002a). Effet du yaourt à *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* sur le cholestérol sanguin chez le lapin. *Médecine et nutrition*, 38 (1): 24-32.
- DORIOZ J.M.,(2001). Terroir montagnard et production fromagère : role du milieu physique et végétal. *FRA. Nature*, 5 : 27-31.
- DUCLUZEAU R., (2001). Viabilité ou implantation des bactéries lactiques dans le tube digestif: deux caractéristiques à ne pas confondre. *Yaourts et laits fermentés. LAB-DOC. Lettre N°5*, 6p.
- DUDEZ P. et BROUTIN A., (2003). Quatre méthodes simples pour contrôler la qualité des laits et des produits laitiers. *Le Lait*, 62: 12-31.
- ECK A. et GILLIS J.C., (1997). Le fromage. Techniques et documentation Lavoisier, Paris. 886 p.
- EL MARRAKCHI A. et HAMAMA A., (2000). Valorisation des produits laitiers caprins. Ed. Hassan. 2 : 4-9.
- EXTERKATE F.A. et DE VEER G.J.M., (1987). Complexity of the native cell wall proteinase of *Lactococcus lactis subsp. Cremoris* HP and purification of the enzyme. *System. Appl. Microbiol.*, 9 : 183-191.
- FAMELART M.H., LA GRAET Y., MICHEL F., RICHOUX R. et RIAUBLANC A., (2002). Evaluation des méthodes d'appréciation des propriétés fonctionnelles des fromages d'emmental de l'ouest de la France. *Le lait*, 82 (2) : 225-245.
- FAO, (1990). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. *Collection FAO/Alimentation et Nutrition*, 2, 23 p.
- FAO, (2002). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Chapitre 5: laits fermentés. *Collection FAO / Alimentation et Nutrition*, 28,7p.
- FERREIRA C.L. et DELF A., (1999). Lactic cultures as dietetic aids. *Dairy Science Abstracts*, 51 (1): 33.

- FOX P. F., LAW J., McSWWNEY P. L. H. et WALLACE J., (1993). Biochemistry of cheese ripening, *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Vol: 1, *General Aspects*. Chapman and Hall Ed, New York. PP 389-438.
- FOX P. F. et MCSWWNEY P. L. H., (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*. 12 (4): 457-509.
- FREUD G., (1996). Interet nutritionnels et diététiques du lait de chèvre. Ed. INRA.
- GABORIT P., MENARD A., et MORGAN F., (2001). Impact of ripening strains on the typical flavour of goat cheeses. *International Dairy Journal*, 11: 315-325.
- GAUTIER M., ROUALT A., HERVE C., SOMMER P., LERET V., JAN G., FRASLIN J.M., PRECOT F. et COSTE A., (1999). *Le lait*, 79 : 93-104.
- GIRRAFA G. et BERGERE J.L., (1987). Nature du caractère épaississant de certaines souches de *Streptococcus thermophilus* étude préliminaire. *Le lait*, 67 (3), 885-298.
- GRAVIE E.I., (1984). Taxonomy and identification of bacteria important in cheese and fermented dairy products. In: advances in microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Ed. Elsevier, *Applied Science Publ.*, London. PP 35-66.
- GRONLUND M.M., LEHTONEN O.P., KERO P., SAXELIN M. et SALMINEN S., (1997). *Lactobacillus GG* supplementation does not reduce faecal colonization of *Klebsiella oxytoca* in fants. *Actapaediatrica*, 86 (7): 785-786.
- GUIRAUD J.P. GALZY P., (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed. Les éditions de l'usine, Paris. PP 32-123.
- GUIRAUD J.P., (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris.
- HARTLEY P., DUONG C., DAVID P. et FAZEL., (1989). Synbiosis of yoghourt microorganisms. *Les laits fermentés. Actualités de la recherche*, 139-145.

- HASSAN D., MONIER A. et DILHAN S., (2002). Valorisation des signes de qualité dans l'agroalimentaire : exemple des fromages à pâte persillée. Ed. INRA.
- HERMIER J., LEVOI R.J. et WEBER F., (1992). Les groupes microbiens d'intérêts laitier. Ed Cepil. PP 42-59.
- HEUCHEL V., PRECKSHOT G.W. et BAJPAI R.K., (2000). Caractérisation et origine des défauts de flaveur dans les fromages de chèvre. Ed. ITPLC. PP 143-155.
- HOSSENLOPP P., (1994). La qualité du produit alimentaire dans sa conception et sa formulation. La qualité des produits alimentaires. Techniques et documentation Lavoisier, Paris.
- HUGENHOLTZ J., VAN E. et SINDEREN D., (1987). Cell-wall associated proteases of *Streptococcus cremoris* WG2. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53 : 855-869.
- HURTAUD C., GOUDEBRANCHE H., DELABY L., CAUDRON B. et PEYRAUD J.L., (2002). Effet de la nature du régime hivernal sur la qualité du beurre et de l'emmental. *Renc. Rech. Ruminants*, 9 : 333-369.
- JAUBERT G., (1997). Flavour of goat farm bulk milk. *Cah Opt Mediter*, 25: 89-93.
- JIN L.Z., HO Y.W., ABDULLAH N., JALLALLUDIN S., (1998). Acid and bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. *Lettres in Applied Microbiology*, 27: 183-185.
- JOFFIN J.M., (2000). Morphologie et classification de *Lactobacillus* in bactériologie systématique. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51 : 233-459.
- JONES D., (1978). Composition and differentiation of the genus *Streptococcus*. Ed. Academic Press, London. PP 1-44.
- JOUAN P., (2002). Lactoprotéines et lactipeptides: propriétés biologiques. Ed. INRA. 128 p.
- JUILLARD U., FOUCAUD C., DESMAZEAUD M. et RICHARD J., (1996). *Le lait*, 79 : 13-24.

KIM JK., STARZAK M., PRECKSHOT G.W., MARSHALL R. et BAJPAI R.K., (1994). Critical reactions in ripening of cheeses : a kinetic analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 45 (6): 51-68.

KONNINGS ,(1994). Mecanisme de transport des nutriments dans les bacteries lactique in "*Bacteries lactiques*". Ed. Loriga Lavoisier. PP 198-218.

KOSIKOWSKI F., (1997). Cheese and Fermented Milk Foods. Ed. Edwards Brothers. 771p.

KOSTRZYNKA S. et KLEIN D., (1998). Taxonomy and physiology of probiotic acid. *Inter. Jour. of Microbiology*. 44 : 103-125.

LABELEE J., (1985). "Nouvelles définitions des conceptions technologiques", Lait et Produits Laitiers : vache, brebis, chèvre. Vol : 2 : Les produits laitiers : transformation et technologie. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 89-99.

LAMBERT L.L., (1999). Le lait de chèvre un choix santé. Ed. les éditions de l'homme, Québec. 105 p.

LAPORTE M.F. et PAQUIN P., (1999). Near infrared analysis of fat, protein and casein in cow's milk. *J. Agric. Food. Chem*, 47 : 2600-2605.

LAROUSSE, (1991). Petit Larousse illustré. Librairie Larousse. Paris.

LAW B.A., (1984). Flavour development in cheese. In : Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Ed. Elsevier Applied Science Publ., London. PP 185-208.

LE GRAET Y. et BRULE G., (1993). Effects of pH and ionic strength on distribution of mineral salts in milk. *Le lait*, 73 (1): 51-60.

LE JAOUEN J. C., (1990). La fabrication du fromage de chèvre fermier. *Société de presse et d'édition ovine et caprine*, Paris. 209 p.

- LE JAOUEN J. C., (1999). Guide national des bonnes pratiques en production fromagère laitière. *Société de presse et d'édition ovine et caprine*, Paris. 231 p.
- LE MENS P., (1984). Accidents de fromagerie. Défauts de texture du coagulum de type lactique. *Chèvre*, 144 : 34-39.
- LEVEAU J.Y. et BOUIX M., (1980). La flore lactique mésophile. In : techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 111-149.
- LEVEAU J.Y., BOUIX M. et DEROISSART H., (1991). La flore lactique. In : techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 153-189.
- LJUTOVAC K., (2002). Lipolyse du lait de chèvre. Constituants santé. *Chèvre*, 146 : 12-29.
- LOMHOLT S. et QVIST K. B., (1999). Gel firming rate of rennet curd as a function of rennet concentration. *International Dairy Journal*, 9 (3-6): 417-428.
- LOONES A.,(1994). Les laits par les bactéries lactiques. Bactéries lactiques. Ed Larica, 2: 137-145.
- LUCAS S. et REYROLLE J., (1989). Etude d'un lot de ferments lactiques msophiles. Equilibre de la flore au cours de la première étape de la fabrication du levain. *Le lait*, 69 (2) : 123-136.
- LUQUET F.M., (1986). Bactéries lactiques. In : lait et produits laitiers (vache, chèvre, brebis). Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 77-112.
- LUQUET F.M., (1990). Lait et produits laitiers (vache, chèvre, brebis) : transformation et technologie. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP 41-65.
- LYNCH M.J., PAQUIN P. et BARBANO M.D., (1999). Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. *Journal International of AOAC*, 82 (6): 1315-1395.

- MAHAUT M., JEANTET R. et BRÛLE G., (2000). Initiation à la technologie fromagère. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. 194 p.
- MARTIN B., PRADEL P. et VERDIER-MATZ I., (2000). Effet de la race sur les caractéristiques chimiques et sensorielles des fromages. *Renc. Rech. Ruminants*, 7 : 313-317.
- METCHNIKOFF E., (1908). The prolongation of life. *G.P.Putnam's sans N.Y.*, 1st édition.
- MIETTON B., DESMAZEAUD M., DE ROISSART H. et WEBER F., (1994). Transformation du lait en fromage, Bactéries Lactiques. Vol : 2. 3^e édition, Loriga. PP 40-120.
- MIETTON B., (1995). La typologie des fromages. *Symposium organisé par la fondation des Gouverneurs et le Centre de recherche et de développement sur les aliments d'Agriculture et Agroalimentaire*. Canada, Octobre, 245 p.
- MILLET J., (2000). Principaux leviers technologiques pour la maîtrise des rendements fromagers et du poids des fromages. *Revue des ENIL*, n° 328.
- MONTEL M.C et BEUVIER K., (2003). Bâtonnets Gram positifs non sporulant réguliers : genre *Lactobacillus*. *International Dairy Journal*, 5 : 117-188.
- MORAND-FEHR P., LE JAOUN J.C., BUOGLER J., DELAHEY G. et DEMONTIGNY G., (1976). *Caprins*, 3 : 12-19.
- MORGAN F., (2001). Lipolyse du lai de chèvre et qualité organoleptique des fromages. *Le lait*, 609 : 36-37.
- MORICEAU P. et PIKRTTY P., (1994). L'analyse de la valeur et l'analyse fonctionnelle. Outils de construction de la qualité. Qualité des produits alimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.
- MULTON J.L., LINDEN G., BOURGEOIS C.M. et LEVEAUJ.Y., (1991). Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.

Références bibliographiques

- NOVEL G., (1993). Les bactéries lactiques in " Microbiologie industrielle" Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed. Leveau, G.V., Bouix, M. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP. 171-215.
- ORLA-JENSEN S., (1919). The lactic acid bacteria. Copenhagen I, *Komission*.
- PASUET P. et TOUSSAINT G., (1987). L'élevage des chèvre et des moutons. Ed. Vecchi, Paris.
- PATEL R.S. et REUTER H., (1996). Effect of sodium, calcium and phosphate on properties of rennet coagulated milk. *Lebensmittel Wissenschaft Technol.*, 19 (4): 288-291.
- PAYENS T. A. J., (1979). Casein micelles: the colloid-chemical approach. *International Dairy Journal*, 46 : 288-302.
- PEARSE M. J., LINKLATER P.M., HALL R. J. et MACKINLAY A. G., (1986). Effect of casein micelle composition and casein dephosphorylation on coagulation and syneresis. *Jour. Of Dairy Res.*, 53 : 365-385.
- PEARSE M. J. et MACKINILAY A. G., (1989). Biochemical aspects of syneresis. *Sciences Dairy Journal*, 72: 1417-1438.
- PETRANSXIENNE D. et LAPIED L., (1981). La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers. Analyses et tests. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP. 71-82.
- PIVETEAU P., (1999). *Lait*, 79: 23-41.
- RAYNAL K. et REMEUF F., (2000). Effect of storage at 4 degrees C on the physicochemical and renneting properties of milk : a comparison of caprine, ovine and bovine milks. *Journal Dairy Res.*, 67 (2): 199-207.
- ROUEL J. et CHILLIARD Y., (2003). Effets de l'alimentation sur la production laitière des chèvres et sur la qualité nutritionnelle et sensorielle des produits laitiers caprins. Ed. INRA, 117 : 16-17.
- ROY S., (2003). Le lait de chèvre: intolerance au lactose. *Service Vie Inc.*, 17 : 3-6.

- SALMINEN S., OUWEHAND A.C. et ISOLAVRIE.; (1998). Clinical applications of probiotic bacteria. *Int.Dairy Journal*, 8 : 563-572.
- SANDINE W.E., (1985). The streptococci : milk products. In : Bacterial Starter Cultures for foods. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2-23.
- SANDINE W.E., (1988). New nomenclature of the rod-shaped lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70 : 519-522.
- SAUVAGEOT F., (1994). L'évaluation sensorielle et le controle de qualité. La qualité des produits alimentaires. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.
- SAXELIN M., SALMINEN S. et ISOLAURI E., (1998). Chemical efficacy of a human *Lactobacillus* strain as a probiotic. In :Functional Foods. The Consumer, the products and the evidence, Ed.M.J Sadler and M.saltmarsh, *Royal Soc. Chemistry*, Cambridge, 23-29.
- SCHARMA S.K., HILL R.A. et GOFF H.D., (1990). The effect of heat treatment of ultrafiltered milk on its coagulation properties. *Milchwissenschaft*, 45 (7): 432-435.
- SCHARMA S.K., HILL R.A. et MITTAL G.S., (1993). Effect of milk concentration, pH and temperature on aggregation kinetics and coagulation properties of ultrafiltered milk. *Food Research International*, 26 (2) : 81-87.
- SCHLEIFER K.H., KRAUS J., CVORAK C., KILPPER-BALZ R., COLLINS M.D. et FISCHER W., (1987). Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *System. Appl. Microbiol.*, 6: 183-195.
- SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J., (1994). Fonctions et choix des bactéries lactiques en technologie laitière : Bactéries lactiques. Vol: 2. Ed. Lavoisier, Paris, 37-45.
- SEKIN K., WATANABESEKINE E., TOIDA T. et KASASHIMA T., (1994). Adjuvant activity of the cell Wall of *Bifidobacterium infantis* for *in vivo* immune response in mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 16 : 589-609.

- SEPP E., MIKELSAAR M. et SALMINENS S., (1993). Effects of administration of *Lactobacillus casie* strain GG on the gastrointestinal microbiota of newborns. *Microb. Ecol. Health. Dis.*, 6: 309-314.
- ST-GELAIS D.D. et SAVOIE L., (1993). Coagulation of milk enriched with low mineral retentate powders. . *Milchwissenschaft*, 48 (11): 603-606.
- ST-GELAIS D.D., OULD-BABA A.M. et TURCOT S.M., (1999). Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation. *Agriculture et Agro-alimentaire*, Canada, 1-33.
- SYNDIFRAIS T., (2003). Yaourt et laits fermentés : définition et dénomination. *Yaourt*, 2 : 3-16.
- VIGNOLA C.L., MICHEL J.C., PAQUIN P., MOINEAU M., POULIOT M. et SIMPSON R., (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Techniques et documentation Lavoisier. 600p.
- VISSER S., (1993). Proteolytic enzymes and cheese ripening : Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour. *Journal Dairy Science*, 76 (1): 329-350.
- WEBER F., (1997). L'égouttage du coagulum. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 33 (2): 22-26.
- WOLFF R.L. et FABIEN R.J., (1998). Utilisation de l'isopropanol pour l'extraction de la matière grasse de produits laitiers et pour l'estérification subséquente des acides gras. *Le lait*, 69: 33-46.

ANNEXE I : Milieux de cultures

Tableau 1 : Composition du milieu MRS bouillon (g / l).

Constituants	g / l
Peptone de caséine	10,00
Extrait de viande	08,00
Extrait de levure	04,00
D (+) glucose	20,00
Di-potassium hydrogénophosphate	02,00
Tweew 80	01,00
Di- ammonium hydrogénocitrate	02,00
Sodium acétate	05,00
Magnésium sulfate	02,00
Manganèse sulfate	00,04

Tableau 2 : Composition du milieu M17 bouillon (g / l).

Constituants	g / l
Tryptone	02,50
Peptone pepsique de viande	02,50
Peptone papainique de soja	05,00
B –Glycérophosphate de sodium	19,00
Lactose	05,00
Extrait de viande	02,50
Extrait de levure	05,00
Magnésium sulfate	00,25
Acide ascorbique	00,50

NB: MRS et M17- Agar : 15 g d' Agar est ajoutée aux formules précédentes.

Tableau 3 : Composition du lait tournesolé (g / l).

Constituants	g / l
Lait écrémé en poudre	100,00
Teinture de tournesol à 4%	10 ml

Tableau 4 : Composition du milieu de base pour fermentation (g / l).

(spéciale pour lactobacilles).

Constituants	g / l
Peptone	15,00
Extrait de levure	05,00
Tweew 80	01,00
Bleu de bromothymol	00,20

Tableau 5 : Composition du milieu de base pour fermentation (g / l).

(spéciale pour lactocoques).

Constituants	g / l
Peptone	10,00
Chlorure de sodium	05,00
Pourpre de bromocrésol	00,20

Tableau 6 : Composition du milieu LTSG (g / l).

Constituants	g / l
Lait écrémé en poudre	100,00
Teinture de tournesol	02,00
Glucose	05,00
Glycérol	100 ml

*** Préparation de gélose semi solide au lait citraté**

Répartir le lait en tubes à essais (10,5 ml par tube) et stériliser par tyndallisation 3 fois à 100°C, 30 mn à 24 h d'intervalle. Rajouter avant l'emploi dans chaque tube 0,5 ml d'une solution de citrate de sodium à 10% stérile (autoclavée 20 mn à 120°C).

Le milieu inoculé est versé dans des tubes contenant 4 ml de gélose à 2% stérile maintenue à 45°C. Solidifier en culot.

ANNEXE II : Dosage du phosphore

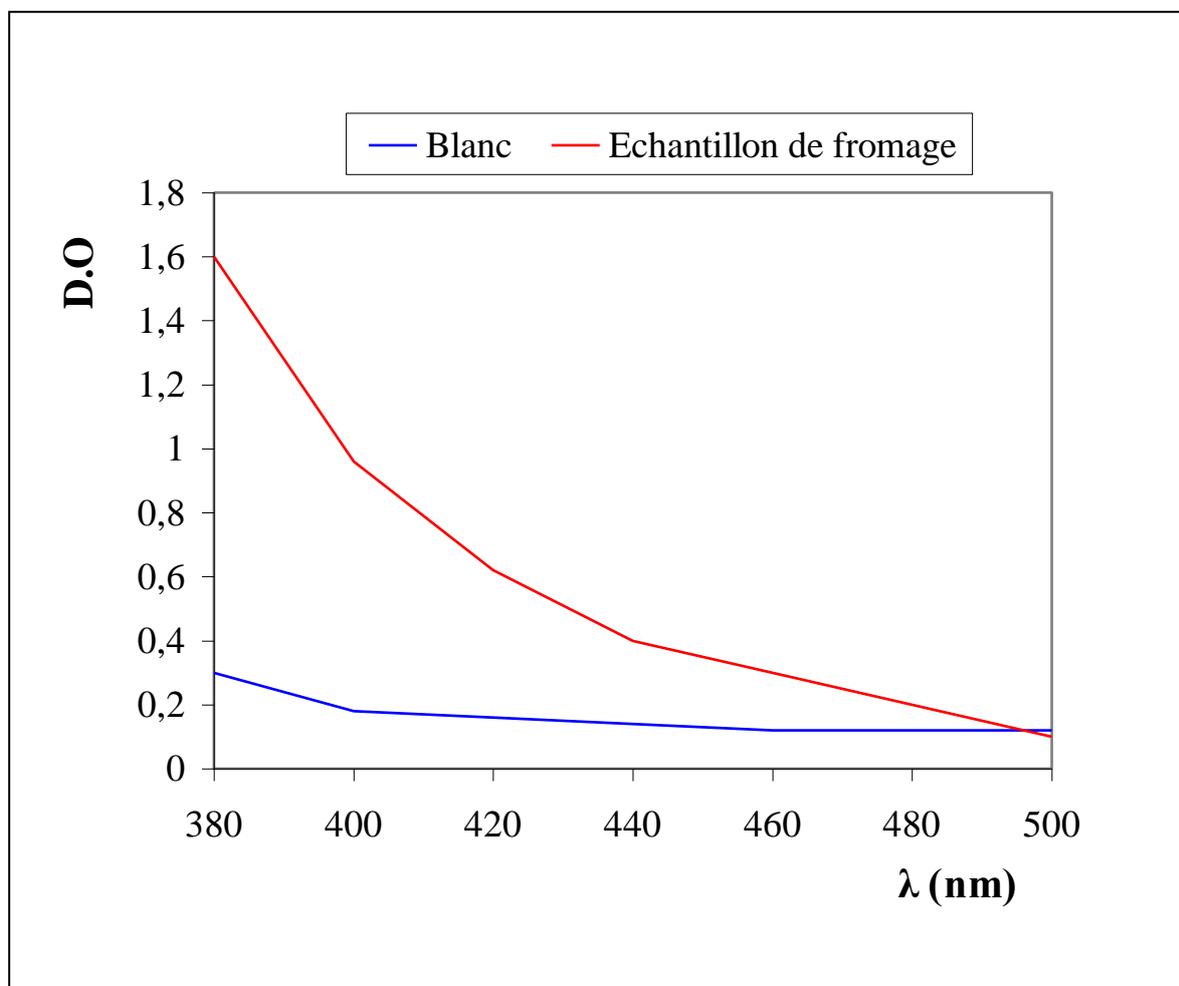


Figure 1 : Courbe d'absorption du complexe phosphovanadomolybdique pour une concentration en phosphates égale à 0,025 g / l.

ANNEXE III : Evolution de l'acidité Dornic des ferments lactiques, en fonction du temps, à différentes températures.

Tableau 7 : Evolution de l'acidité Dornic à 27°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	Temps							
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	48 h	72 h
<i>Lc. l1</i>	17	20	29	36	60	81	85	87
<i>Lc. l2</i>	18	21	33	39	65	82	86	88
<i>Lc. l3</i>	18	19	31	37	58	79	84	86
<i>Lc. l4</i>	17	18	25	29	38	52	55	56
<i>Lc. l5</i>	17	20	28	36	61	80	85	87
<i>Lc. l6</i>	18	18	24	27	32	49	50	52
<i>Lc. l7</i>	16	18	26	30	35	60	64	66
<i>Lc. l*</i>	17	20	32	38	59	79	85	86
<i>Lc. c1</i>	17	19	26	26	41	60	63	64
<i>Lc. c2</i>	18	18	22	22	31	44	44	44
<i>Lc. c3</i>	16	17	23	23	33	52	54	55
<i>Lc. c*</i>	17	19	25	25	41	59	62	63
<i>Lc. dl1</i>	17	19	25	31	40	58	60	61
<i>Lc. dl2</i>	17	18	23	27	33	48	50	50
<i>Lc. dl*</i>	17	19	25	30	40	57	60	61
<i>Lb. c1</i>	17	19	25	31	38	55	57	58
<i>Lb. c2</i>	16	18	23	28	33	51	52	52
<i>Lb. c3</i>	18	20	27	33	40	58	61	63
<i>Lb. c4</i>	18	18	22	26	31	46	47	47
<i>Lb. c*</i>	18	20	28	33	41	60	64	64

Tableau 8 : Evolution de l'acidité Dornic à 14°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	Temps							
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	48 h	72 h
<i>Lc. l1</i>	17	18	24	26	30	51	53	55
<i>Lc. l2</i>	18	19	24	29	35	52	53	58
<i>Lc. l3</i>	18	19	21	27	29	49	51	52
<i>Lc. l4</i>	17	18	19	19	20	24	25	25
<i>Lc. l5</i>	17	18	22	26	31	50	52	54
<i>Lc. l6</i>	18	18	19	20	21	22	23	24
<i>Lc. l7</i>	16	17	19	22	24	28	30	32
<i>Lc. l*</i>	17	18	22	28	31	50	54	56
<i>Lc. c1</i>	17	18	20	22	23	28	29	30
<i>Lc. c2</i>	18	18	19	19	20	21	22	22
<i>Lc. c3</i>	16	17	18	19	20	23	24	25
<i>Lc. c*</i>	17	18	20	21	22	28	29	29
<i>Lc. dl1</i>	17	18	20	21	23	27	28	29
<i>Lc. dl2</i>	17	17	18	20	21	22	22	22
<i>Lc. dl*</i>	17	18	20	21	22	26	27	28
<i>Lb. c1</i>	17	18	19	20	21	24	26	27
<i>Lb. c2</i>	16	17	19	20	21	23	24	25
<i>Lb. c3</i>	18	19	21	22	23	27	29	30
<i>Lb. c4</i>	18	18	18	19	19	21	22	22
<i>Lb. c*</i>	18	19	20	22	23	28	29	30

Tableau 9 : Evolution de l'acidité Dornic à 6°C, en fonction du temps, des cultures pures des lactocoques et des lactobacilles (souches locales et industrielles).

Souches \ Temps	Temps							
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	48 h	72 h
<i>Lc. l1</i>	17	17	18	19	21	25	25	25
<i>Lc. l2</i>	18	18	19	20	22	26	27	27
<i>Lc. l3</i>	18	18	18	19	19	19	19	19
<i>Lc. l4</i>	17	17	17	17	17	18	18	18
<i>Lc. l5</i>	17	17	18	20	21	24	25	25
<i>Lc. l6</i>	18	18	18	18	18	19	19	19
<i>Lc. l7</i>	16	16	17	17	18	18	19	19
<i>Lc. l*</i>	17	17	18	19	21	25	26	26
<i>Lc. c1</i>	17	17	17	18	18	19	19	19
<i>Lc. c2</i>	18	18	18	18	18	18	18	18
<i>Lc. c3</i>	16	16	16	17	17	17	18	18
<i>Lc. c*</i>	17	17	18	18	18	19	19	19
<i>Lc. dl1</i>	17	17	17	18	18	19	19	19
<i>Lc. dl2</i>	17	17	17	18	18	18	18	18
<i>Lc. dl*</i>	17	17	17	18	18	19	19	19
<i>Lb. c1</i>	17	17	17	17	18	18	18	18
<i>Lb. c2</i>	16	16	16	17	17	17	17	17
<i>Lb. c3</i>	18	18	18	19	19	19	20	20
<i>Lb. c4</i>	18	18	18	19	19	19	19	19
<i>Lb. c*</i>	18	18	18	19	19	19	19	20

ANNEXE IV : Evolution de la croissance des ferments lactiques du fromage (Pendant et après la fabrication)

Tableau 10 : Evolution de la croissance des ferments lactiques du fromage pendant le caillage, l'égouttage (*) et le salage (**).

Temps (h)	0	3	6	12	18	36	48	72	96	120
Cellules / ml	$1,99.10^4$	$6,3.10^6$	$3,1.10^7$	$1,9.10^8$	$7,9.10^8$	$1,9.10^9$	$5,01.10^9$	$7,9.10^9$	$1,9.10^9$	$3,1.10^9$

Tableau 11 : Evolution de la croissance des ferments lactiques du fromage en cours d'affinage.

Temps (j)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cellules / ml	$3,1.10^9$	$6,3.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$	$7,9.10^9$

Tableau 12 : Viabilité des ferments lactiques du fromage pendant le stockage.

Temps (j)	0	5	10	15	20	25
Cellules / ml	$7,9.10^9$	$3,9.10^9$	$1,9.10^9$	$6,3.10^8$	$3,16.10^8$	$3,9.10^7$

ANNEXE V : Fiche de dégustation.

Sexe :

Age :

Date :

Notez l'intensité de perception de chaque descripteur en cochant la case correspondante.

1/ Texture (pate) :

- Homogénéité

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
mauvaise			bonne		très bonne	

- Couleur

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
claire		moyenne		foncée		

- Fermeté

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
molle		moyenne		ferme		

- Souplesse

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
faible		moyenne		bonne		

2/ Odeur :

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
désagréable		agréable		très agréable		

3/ Goût :

- Acide

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
pas acide		acide		très acide		

- Amer

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
pas amer		amer		très amer		

- Salé

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
pas salé		salé		très salé		

- Typique

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
pas typique		typique		très typique		

4/ Croûte :

- Dureté

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
Faible		moyenne		forte		

- Couleur

<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
claire		moyenne		foncée		

RESUME

L'étude réalisée vise trois objectifs : isolement et caractérisation phénotypique et technologique des souches de bactéries lactiques mésophiles locales, fabrication du fromage de chèvre et évaluation de sa qualité (microbiologique, organoleptique et nutritionnelle).

L'isolement et la caractérisation des souches de bactéries lactiques mésophiles révèlent une considérable variation entre les différentes souches isolées vis à vis des caractères technologiques. Les résultats obtenus montrent que les souches *Lc. l2*, *Lc. dll*, *Lc. c1* et *Lb. c3* ont des caractéristiques optimales (pouvoir acidifiant, acceptabilité organoleptique, activité protéolytique, activité lipasique,...) et peuvent être utilisées comme ferments dans la fabrication du fromage.

La fabrication du fromage de chèvre a été réalisée dans de bonnes conditions (matière première, hygiène, travail mécanique...) ce qui a permis d'aboutir à un fromage de qualité microbiologique, organoleptique et nutritionnelle intéressante.

Mots clés : Lait de chèvre, bactéries lactiques mésophiles locales, fromage de chèvre, qualité.

SUMMARY

The realized study aims three objectives: isolation and phenotypical and technological characterization stubs of local mesophyll lactic bacteria, manufacture of the goat's milk cheese and evaluation of its quality (microbiological, organoleptic and nutritional).

The isolation and the characterization stubs of mesophyll lactic bacteria reveal a considerable variation between different isolated stubs opposite technological characters. Obtained results show that stubs *Lc. l2*, *Lc. dll*, *Lc. c1* and *Lb. c3* have optimum features (power acidulating, acceptability organoleptic, activity proteolytic, activity lipasic,..) and can be used as ferments in the cheese manufacturing.

The manufacture of the goat's milk cheese has been realized in of soundness (raw material, hygiene, mechanical work.) what has permitted to end in interesting microbiological, organoleptic and nutritional quality of cheese.

Keys words : Goat's milk, local mesophyll lactic bacteria, goat's milk cheese, quality.

