MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA- BEJAIA FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



Ref:.....

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine: SNV Filière: Sciences Biologiques

Option: Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

Melle: Kherraz Chaima

Thème

Suivi de la post acidification et de la flore lactique d'un lait fermenté « Lben » produit à l'entreprise Ramdy

Soutenu le : 21/06/2023 Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
M ^{me} . Tetili. F.	MCB	Univ. de Bejaia	Président
Mr. Benjeddou K.	MCA	Univ. de Bejaia	Examinateur
M ^{me} . Benachour K.	MAA	Univ. de Bejaia	Encadreur

Année Universitaire: 2022/2023

Remerciement

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Allah, le Tout-Puissant, pour sa guidance, sa miséricorde et sa bénédiction tout au long de mon parcours et dans la réalisation de ce mémoire.

J'adresse mes remerciements sincères à ma promotrice M^{me} Benachour karima, pour son encadrement, ses conseils éclairés et sa disponibilité tout au long de mon étude.

Je tiens à remercier M^{me} Tetili.F qui m'a fait un immense honneur de présider le jury ainsi que Mr Benjeddou.K d'avoir accepté d'examiner ce travail.

À Mr Kherraz Abdenour pour son accueil chaleureux et sa générosité en me permettant de réaliser mes analyses au laboratoire de l'usine Tchin-Lait, ainsi à tout le personnel travaillant au laboratoire qui m'a généreusement assisté tout au long de ce projet. Leur disponibilité et leur soutien ont grandement facilité mon travail et ont contribué à la qualité des résultats obtenus.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Leur soutien et leurs efforts méritent d'être reconnus et appréciés.

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail tout d'abord, à moi-même, pour ma détermination et ma persévérance dans la réalisation de ce mémoire. C'est grâce à ma volonté et à mon travail acharné que j'ai pu en arriver là.

Je dédie également ce travail à ma mère, Razika, qui a été un pilier essentiel dans ma vie. Son amour inconditionnel, ses encouragements constants et son soutien indéfectible ont été mes sources de motivation les plus précieuses.

À mon père, Fatah, dont les conseils avisés et l'exemple de travail acharné m'ont permis de développer mes compétences et de croire en moi-même. Son soutien inconditionnel a toujours été une source de réconfort.

À ma petite sœur Bouchra et mes deux frères jumeaux, Aimen et Habib, qui ont été mes compagnons de route et mes meilleurs amis. Leur présence joyeuse et leurs encouragements chaleureux ont illuminé mes journées et m'ont donné la force de continuer.

À mes tantes, Farida, Alima, Razika et Soraya qui ont toujours été là pour moi, prêtes à m'écouter et à me conseiller. Leur bienveillance et leur soutien inébranlable ont été d'une valeur inestimable.

À ma chère cousine Khadidja, qui a été une source de soutien et d'inspiration pour moi. Sa présence dans ma vie a été précieuse, et je suis reconnaissante de pouvoir compter sur elle.

À mes copines, Tinhinane, Lyna, Ibtissam, Félicia, Yasmine, Mina, Nicette, Camille, Macilia, Fatima qui ont partagé avec moi des moments de rires, de doutes et de réussites. Leur amitié sincère et leur soutien inconditionnel m'ont apporté un équilibre précieux dans ma vie.

À mes amis Lamine, Islam et Sofiane qui ont toujours été présents pour moi, prêts à me donner un coup de main.

À mes coéquipières, sœurs d'âmes sur le terrain. Nos victoires partagées ont créé des liens indéniables. Ce mémoire est dédié à notre esprit d'équipe.

Je n'oublierai pas de dédier ce travail à mes deux entraîneurs, Fatah et Walid, qui m'ont enseigné bien plus que les techniques sportives. Leur mentorat, leur discipline et leur confiance en moi m'ont permis de repousser mes limites et d'atteindre de nouveaux sommets.

Enfin, je dédie ce travail à toutes mes camarades, qui ont partagé avec moi cette aventure académique. Leurs encouragements mutuels et leur esprit d'équipe ont été des éléments clés dans ma réussite.

Liste des figures

Figure (01): Peau de chèvre pour la fermentation et le barattage du lait
Figure (02): Jarre en terre cuite et un instrument en bois pour la fermentation du lait17
Figure (03): Les différentes étapes de fabrication du Lben
Figure (04): Figure illustrative d'un sachet de Lben (Ramdy)
Figure(05): pH-mètre ionique SevenCompact S22022
Figure(06):Butyromètre
Figure(07):Dessiccateur « Sartorius MA35 »
Figure(08):Techniques des dilutions et ensemencements
Figure (09): Jarre d'anaérobiose « Oxide »
Figure (10): Solidification de la gélose MRS
Figure(11): Évolution du pH en fonction du temps de conservation29
Figure (12): Évolution de l'acidité en fonction du temps de conservation31
Figure(13): Évolution de l'acidité en fonction du pH
Figure(14): Colonies formées après incubation

Liste des tableaux

Tableau I :: La nouvelle classification du genre Lactobacillus	.5
Tableau II : Résultats du Test de Stabilité (pH, acidité titrable, matière grasse, matière sèche)	.29
Tableau III : Population de la flore lactique à différentes étapes de l'étude	.34

Liste des abréviations

Aw: activity of water

D : Dextrogyre

°**D** : Degré dornic

EPS: Exopolysaccharides

FAO: Food and Agricultural Organization of the United Nations

GRAS: Generally Recognized As Safe

L: Lévogyre

LAB: Lactic acid bacteria (bactéries lactiques)

Lc: Lactococcus

Ln: Leuconostoc

MRS: Man Rogosa et Sharpe

N : Normalité

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PH: potentiel d'hydrogène

PLA: polylactic acid

QPS: Qualified Presumption of Safety

UFC: Unité formant colonie

SOMMAIRE

~ ~	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. BACTERIES LACTIQUES	
I.1.Généralités	3
I.2.Classification.	3
I.2.1. Lactobacillus	4
I.2.2. Leuconostoc	5
I.2.3. Streptococcus, Lactococcus	6
I.3. Origines et habitats	7
I.4. Utilisation dans les différents domaines	7
I.4.1. Dans l'industrie alimentaire	7
I.4.1.1. Utilisation des bactéries lactiques comme cultures starters	8
I.4.2. Dans le domaine de santé	8
I.4.3. Dans le domaine cosmétique et pharmaceutique	10
I.4.4. Dans l'environnement	10
I.4.5. Dans l'industrie chimique et des procédés techniques	11
II. Fermentation lactique	12
II.1. Définition de la fermentation	12
II.2. Types de fermentation	12
II 2.1 Définition de la fermentation lactique	10

II.2.2. Types de fermentation lactique	12
II.3 Lait fermenté	13
II.3.1. Définition	13
II.3.2. Rôle de l'acidification dans la production de produits laitiers fermentés	14
II.3.2.1. Coagulation des protéines	14
II.3.2.2. Texture et saveur	14
II.3.2.3. Inhibition de la croissance des bactéries pathogènes	14
II.4. Facteurs influençant l'acidification par les bactéries lactiques	14
II.4.1. Facteurs physiques	14
II.4.1.1. Influence de la température	14
II.4.1.2. Influence de l'activité de l'eau (aw)	14
II.4.2. Facteurs chimiques	14
II.4.2.1. Influence de la composition du lait	15
II.4.2.2. Influence du pH	16
II.4.3. Facteurs microbiologiques.	16
II.4.3.1. Influence de la souche de bactéries lactique utilisée	16
II.4.3.2. Taux d'ensemencement	16
III. Lben	17
III.1. Définition	17
III.1.1. Lben traditionnel	17
III.1.2. Lben industriel	18
III.2. Les principaux éléments de fabrication de Lben	18
III.2.1. Eau	18
III.2.2. Poudre de lait	18
III.2.3. Amidon	18
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	
I. Objectif	21
II. Échantillonnage	21
III. Analyses	
III.1. Analyses physico-chimique	22

III.1.1. Potentiel d'hydrogène (PH)
III.1.2. Acidité titrable
III.1.3.Taux de matière grasse
III.1.4. Matière sèche
III.2. Analyses microbiologiques
III.2.1. Analyse et dénombrement de la flore lactique
III.3. Analyses sensorielles
PARTIE III : Résultats et discussions
I. Analyses
1. Analyses
I.1. Analyses physico-chimiques
I.1. Analyses physico-chimiques
I.1. Analyses physico-chimiques
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH32
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH32I.1.4. Matière grasse et matière sèche33
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH32I.1.4. Matière grasse et matière sèche33I.2. Analyses microbiologiques33
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH32I.1.4. Matière grasse et matière sèche33I.2. Analyses microbiologiques33I.2.1. Évolution de la population de la flore lactique au fil du temps34
I.1. Analyses physico-chimiques29I.1.1. Évolution du pH en fonction du temps30I.1.2. Évolution de l'acidité fonction du temps31I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH32I.1.4. Matière grasse et matière sèche33I.2. Analyses microbiologiques33I.2.1. Évolution de la population de la flore lactique au fil du temps34I.3. Analyses sensorielles37



Introduction

La fermentation lactique est un processus biochimique qui a été utilisé pendant des siècles pour produire une grande variété d'aliments fermentés (Malo et Urquhart, 2016), tels que le yaourt, le fromage, la choucroute et le Lben (Drouault et Corthier, 2001). Au cœur de ce processus se trouvent les bactéries lactiques, des microorganismes qui convertissent les glucides présents dans les aliments en acide lactique (Letaconnoux, 2019).

Ces bactéries sont des anaérobies facultatives, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer en présence ou en absence d'oxygène. Elles sont largement répandues dans la nature et se trouvent notamment dans les sols, les plantes, les animaux et l'intestin humain. Parmi les genres les plus couramment étudiés figurent Lactobacillus, Streptococcus et Bifidobacterium (**Drouault et Corthier, 2001**). Elles sont d'une grande importance dans l'industrie alimentaire en raison de leur capacité à fermenter les sucres. Lorsqu'elles sont ajoutées à un substrat riche en glucides, comme le lait, les bactéries lactiques utilisent ces sucres comme source d'énergie et produisent de l'acide lactique comme produit final de la fermentation. L'acide lactique abaisse le pH du milieu, ce qui crée un environnement acide qui inhibe la croissance de nombreuses bactéries indésirables et contribue à la conservation des aliments fermentés (**Aguirre et Collins, 1993**).

Le lait fermenté est l'un des produits les plus populaires obtenus par fermentation lactique. Il est largement consommé dans de nombreuses populations à travers le monde et offre une variété d'avantages pour la santé. Le processus de fermentation du lait implique généralement l'ajout de cultures starter contenant des bactéries lactiques spécifiques. Ces bactéries convertissent les sucres du lait en acide lactique, ce qui donne au produit final une texture et un goût caractéristiques (**Lindgren**, 1990).

Le Lben, également connu sous le nom de "lait caillé", est un type particulier de lait fermenté largement consommé dans les pays du Maghreb. Il est traditionnellement préparé en laissant le lait cru reposer pendant une période de temps spécifique, permettant ainsi aux bactéries lactiques naturellement présentes dans le lait de le fermenter. Le Lben est apprécié pour sa texture crémeuse et son goût légèrement acidulé (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

Le suivi de la post-acidification est une étape essentielle dans la production de lait fermenté. Une fois que les bactéries lactiques ont fermenté le lait initial et produit de l'acide lactique, le processus de fermentation peut se poursuivre pendant le stockage. Cela peut entraîner une augmentation supplémentaire de l'acidité du produit, ce qui peut avoir un impact sur ses caractéristiques organoleptiques et sa durée de conservation. Ce suivi vise à

Introduction

évaluer les changements microbiologiques et biochimiques qui se produisent après la fermentation initiale. Cela implique généralement des mesures régulières du pH, de la teneur en acide lactique et de la viabilité des bactéries lactiques présentes dans le produit.

Dans ce mémoire, je m'intéresserai au suivi de la post-acidification et à la flore lactique des laits fermentés, en mettant l'accent sur « le Lben ». En examinant :

- Les facteurs qui influent sur la post-acidification.
- Les méthodes de suivi utilisées pour évaluer les changements microbiologiques et biochimiques.

Mon objectif est d'acquérir une meilleure compréhension de ces aspects afin de contribuer à l'amélioration de la qualité et de la sécurité des produits laitiers fermentés, ainsi qu'à l'optimisation des procédés de fabrication.

I. Bactéries lactiques

I.1. Généralités

Les bactéries lactiques (BL) sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes (Roissart et Luquet, 1994; Savadogo et Traore, 2011). Ce terme est utilisé pour décrire un groupe large de bactéries à Gram positif, non sporulantes, en forme de bâtonnets ou de cocci, généralement immobiles, elles ont un métabolisme aérobie facultatif et ne produisent pas de catalase ni d'oxydase, ni nitrate réductase, et elles utilisent les glucides par fermentation pour produire de l'acide lactique comme principal produit final (Aguirre et Collins, 1993; Drouault et Corthier, 2001). Cette définition biochimique est reflétée par le fait que les bactéries productrices d'acide lactique appartiennent à différents genres, notamment *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (Stackebrandt et Teuber, 1988; Mathur et al., 2020).

Les BL utilisées dans l'alimentation sont généralement considérées comme non pathogènes. Elles possèdent en effet un statut GRAS (Generally Recognized As Safe) qui autorise officiellement leur usage dans les applications alimentaires et qui témoigne de leur parfaite innocuité. Cependant, quelques membres du genre Streptococcus et Enterococcus ainsi que d'autres bactéries lactiques sont considérées comme pathogènes opportunistes (Stiles et Holzapfel, 1997; Drouault et Corthier, 2001).

Les bactéries lactiques ont la capacité de se développer sur une large gamme de températures, bien que la plupart d'entre elles soient des mésophiles (Ex : Lacticaseibacillus casei et Lactiplantibacillus plantarum) (tableau I) ou des thermophiles modérées (Ex : Lactobacillus acidophilus et Lactobacillus bulgaricus). Elles ont des exigences nutritionnelles complexes en glucides fermentescibles, en acides aminés, peptides, en vitamines ainsi qu'en sels, ce qui signifie que certaines espèces peuvent se développer dans des aliments riches en nutriments, tandis que d'autres peuvent survivre et croître même lorsque la teneur en nutriments n'est pas idéale (Hutkins, 2006).

I.2. Classification

La classification des bactéries lactiques est basée sur leur taxonomie, qui est déterminée en utilisant des critères tels que leur morphologie, leur physiologie, leur composition biochimique et leur séquence d'ADN (Nair et Surendran, 2005).

Bactéries lactiques

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la classe des Bacilli et l'ordre des lactobacillales (**Vos et** *al.*, **2011 ; Wang et** *al.*, **2023**). Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait fermenté, nous avons :

I.2.1. Lactobacillus

Le Lactobacille (Lactobacillus) est un genre de bactéries à gram positif, de la famille des Lactobacillaceae qui englobe les genres Lactobacillus, Paralactobacillus et Pediococcus. Les scientifiques ont proposé une nouvelle classification du genre Lactobacillus (tableau I), en les séparant sous les groupes des *L. delbrueckii* et sous les Paralactobacillus, et en ajoutant 23 nouveaux genres (**Zheng et** *al.*, **2020**). Ils sont étroitement associés aux animaux terrestres et marins. Ce sont des microorganismes dominants dans le tractus gastro-intestinal humain, où ils surpassent les agents pathogènes et contribuent à maintenir la santé de l'hôte (**O'Callaghan et** *al.*, **2011**).

Les Lactobacillus sont des organismes Gram-positif, non mobiles et non sporulés. Cependant, ces derniers sont des anaérobies facultatifs tolérants à l'acidité, pouvant être soit homofermentaires, soit hétérofermentaires, et ont une faible teneur en G +C (Mokoena et al., 2021). Ce genre comprend 261 espèces qui sont extrêmement diverses aux niveaux phénotypique, écologique et génotypique (Zheng et al., 2020). Il est devenu le mot clé le plus associé aux probiotiques au cours des 20 dernières années. Les LAB probiotiques les plus étudiés dans la littérature sont Lactocaseibacillus rhamnosus GG (ATCC53103), Lactocaseibacillus rhamnosus HN001, Lacticaseibacillus casei Shirota, Lacticaseibacillus casei Zhang, Lactobacillus acidophilus NCFM, Lactobacillus acidophilus LA-5 et Lacticaseibacillus casei DN-114 001. Récemment, de nouveaux LAB probiotiques tels que Limosilactobacillus reuteri et Lactobacillus johnsonii sont utilisés dans le développement de produits laitiers fonctionnels (Ağagündüz et al., 2021).

Bactéries lactiques

 $Tableau\ I: La\ nouvelle\ classification\ du\ genre\ Lactobacillus\ (Orchidali, 2020).$

Nom actuel	Nouveau nom
Lactobacillus casei	Lacticaseibacillus casei
Lactobacillus paracasei	Lacticaseibacillus paracasei
Lactobacillus rhamnosus	Lacticaseibacillus rhamnosus
Lactobacillus plantarum	Lactiplantibacillus plantarum
Lactobacillus brevis	Levilactobacillus brevis
Lactobacillus salivarius	Ligilactobacillus salivarius
Lactobacillus fermentum	Limosilactobacillus fermentum
Lactobacillus reuteri	Limosilactobacillus reuteri
Lactobacillus acidophilus	Inchangé
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus(aka Lactobacillus bulgaricus)	Inchangé
Lactobacillus crispatus	Inchangé
Lactobacillus gasseri	Inchangé
Lactobacillus johnsonii	Inchangé
Lactobacillus helveticus	Inchangé

I.2.2. Leuconostoc

Le genre Leuconostoc appartient au groupe des bactéries lactiques, de la famille des Leuconostocaceae qui comprend les genres Convivina, Fructobacillus, Leuconostoc, Oenococcus et Weissella (**Zheng et al., 2020**), tous récemment fusionnés au sein de la famille des Lactobacillaceae. Cependant, le nom Leuconostocaceae reste un nom valide (**Bello et al., 2022**). Ces bactéries poussent généralement dans des environnements riches en nutriments, y compris les produits végétaux (**Zhai et Pérez-Díaz, 2020**). Les espèces du genre Leuconostoc sont principalement isolées à partir de viandes réfrigérées ou de sources cliniques, bien qu'elles soient également obtenues à partir de matériel végétal, de produits laitiers fermentés et de vins (**Mokoena et al., 2021**).

Les cellules des Leuconostocaceae sont principalement ellipsoïdales à sphériques, souvent allongées. L'exception à cette description est le genre Weissella, qui forme des bâtonnets courts avec des extrémités effilées arrondies ou des bâtonnets ovoïdes qui se présentent par paires ou en courtes chaînes. Elles se développent dans un milieu contenant du glucose et certaines souches peuvent produire de l'acétate supplémentaire au lieu d'éthanol en présence d'oxygène (Holzapfel et al., 2009).

I.2.3. Streptococcus, Lactococcus

Ce sont des membres de la famille des Streptococcaceae en plus du genre Lactovum selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009). Le genre type est représenté par Streptococcus, qui comprend actuellement 79 espèces, tandis que le genre Lactococcus comprend cinq espèces et le genre Lactovum contient une espèce (**Toit** et *al.*, 2014).

Le terme streptococcus fait référence à l'architecture sphéroïdale de ces microorganismes formant des chaînes ou des torsades en forme de perles; Ce genre comprend un nombre énorme d'espèces largement répandues dans le règne animal. Alors que certaines de ces espèces causent des affections chez les humains et les animaux, d'autres sont exploitées en tant que micro-organismes bénéfiques à des fins industrielles (Abranches et al., 2018; Hossain, 2014; Chhatwal et Graham, 2017) notamment des agents pathogènes opportunistes tels que *Streptococcus oralis*, ainsi que des *Streptococcus thermophilus* inoffensifs, voire considérés comme probiotiques (Chalita et al., 2020).

Les lactocoques sont utilisés depuis des siècles dans la fermentation laitière, elle comprend des espèces alimentaires, commensales et virulentes. L'espèce type *Lactococcus lactis*, est d'une grande importance industrielle dans l'industrie laitière et est également productrice de nisine, une bactériocine utilisée commercialement dans de nombreux pays et produits (**Toit et al., 2014**). Elles sont isolées des plantes et sont susceptibles d'être ingérés

par les animaux qui paissent, en même temps que le lait dans le cas des veaux (Gaudu et al., 2019).

I.3. Origines et habitats des bactéries lactiques

Les BL sont un groupe diversifié de microorganismes qui sont présentes de manière ubiquitaire, on les trouve dans différentes niches écologiques et couramment présentes dans de nombreux produits alimentaires, tels que les produits laitiers (comme le yaourt et le fromage), les végétaux, la viande, le poisson, les légumes, les boissons, les céréales, ainsi dans divers environnements tels que la flore buccale, intestinale et vaginale humaine ou animale, et les eaux usées (**Drouault et Corthier, 2001 ; Tamang et al., 2016**). Comme elles sont naturellement présentes dans l'environnement des abeilles, notamment sur les fleurs. Lorsque les abeilles récoltent du nectar et d'autres ressources, elles introduisent ces bactéries dans la ruche, ce qui aide à maintenir la santé des abeilles et à prévenir les infections (**Rokop et al., 2015**).

I.4. Utilisation dans les différents domaines

Les bactéries lactiques (LAB) sont utilisées dans divers domaines en raison de leurs propriétés bénéfiques :

I.4.1. Dans l'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques sont considérées comme les bactéries les plus importantes pour l'industrie alimentaire en raison de leur rôle crucial dans la fermentation lactique des aliments (Masood et al., 2011). Elles produisent l'acide lactique qui est utilisé comme agent conservateur, agent de fermentation, acidifiant, exhausteur de goût, et décontaminant (Abedi et Hashemi, 2020). Les BL sont utilisées depuis des siècles de manière empirique dans la production de nombreux aliments fermentés tels que les produits laitiers (yaourts et fromages) (Drouault et Corthier, 2001) et dans la production de salaisons, de vin et d'ensilages (Guiraud, 1998; Hugenholtz, 2013).

Les bactéries lactiques peuvent également produire de nombreux agents antibactériens tels que les bactériocines, qui contribuent à inhiber la croissance de flores indésirables. Il existe quatre classes de bactériocines produites par les bactéries lactiques, les lantibiotiques qui sont les plus documentés et exploités industriellement, plus précisément la nisine (**Sharma et al., 2012**). Son activité antibactérienne et son utilisation potentielle en tant que biopréservatif ont été étudiées dans de nombreux systèmes alimentaires. Son

application pour le contrôle de certains agents pathogènes et organismes responsables du pourrissement des aliments a été approuvée dans plusieurs pays (Jeevaratnam et al., 2005). Les LAB et leurs bactériocines sont devenues des alternatives viables aux conservateurs chimiques alimentaires, grâce à leur statut de présomption de sécurité qualifié (Qualified Presumption of Safety - QPS) (Mokoena et al., 2021).

Les bactériocines peuvent être appliquées sous une forme purifiée, semi-purifiée ou sous la forme d'un concentré obtenu après fermentation d'un substrat alimentaire. Les bactéries productrices peuvent également être appliquées dans les produits alimentaires, la bactériocine sera alors produite *in situ* (**Dortu et Thonart, 2009**).

I.4.1.1 Utilisation des bactéries lactiques comme cultures starters

Les cultures de départ peuvent être définies comme une préparation microbienne de grandes quantités de cellules d'au moins un microorganisme qui est ajoutée à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en contrôlant son processus de fermentation (Leroy et Vuyst, 2004). Plus récemment, elles sont disponibles sous forme de concentrés congelés, soit des préparations séchées ou lyophilisées produites à grande échelle dans l'industrie. Certaines cultures de départ sont produites par inoculation directe de la cuve d'origine avec un mélange de plusieurs microorganismes définis, en particulier des bactéries lactiques (LAB) et des levures (Saithong et al., 2010).

La découverte et la caractérisation des microbes responsables ont depuis changé la donne. Ce n'est qu'en 1857 que Louis Pasteur a démontré pour la première fois que la fermentation lactique est d'origine microbienne, et Joseph Lister a été capable d'isoler en 1878 une culture pure de *Bacterium lactis* responsable de l'acidification du lait. La capacité à isoler des cultures pures a ouvert la voie à la production commerciale de cultures starters, qui s'est répandue depuis le début du XXe siècle (Santivarangkna et al., 2007). Ils ont étés obtenues à partir d'une séquence d'activités et ont été soumises à un processus d'isolement, de sélection et de confirmation. Plusieurs comportements et caractéristiques de chaque souche sélectionnée de LAB ont été établis et utilisés dans la production industrielle de produits laitiers fermentés. (Widyastuti et Febrisiantosa, 2014).

I.4.2. Dans le domaine de santé

La possibilité que certains micro-organismes puissent être bénéfiques pour la santé humaine est mise en évidence par les nombreux produits de consommation contenant des bactéries probiotiques (Marco et al., 2006; Castellone et al., 2021). Elles ont été définies par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme étant des "micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte" (Brown et Valiere, 2004). L'observation originale du rôle positif joué par certaines bactéries sélectionnées est attribuée à Eli Metchnikoff, lauréat du prix Nobel d'origine russe qui travaillait à l'Institut Pasteur au début du siècle dernier. Il a suggéré que "la dépendance des microbes intestinaux à la nourriture permet d'adopter des mesures pour modifier la flore de notre corps et remplacer les microbes nuisibles par des microbes utiles" (Hotel et Cordoba, 2001).

Les probiotiques, qui sont des souches spécifiques de LAB, sont utilisés comme compléments alimentaires pour favoriser la santé intestinale et renforcer le système immunitaire (Champagne et al., 2018). Ils sont également étudiés pour leur potentiel bénéfique dans le traitement de diverses affections gastro-intestinales et pour leur impact sur la santé générale (Marco et al., 2006). Les souches les plus courantes de probiotiques étudiées sont les souches de bactéries lactiques (LAB) appartenant au genre Lactobacillus ; cela inclut L. plantarum, L. reuteri, L. rhamnosus, L. gasseri et L. acidophilus (Ranadheera et al., 2018).

La présence de la microflore lactique, et en particulier des lactobacilles (Ex : Lactobacillus acidopbilus) dans le tractus digestif a été historiquement considérée comme bénéfique pour l'hôte (Gilliland et al., 1984; Hammes et Hertel, 2006). Elie Metchnikoff a déclaré que les substances toxiques produites par les membres de la microflore intestinale sont absorbées par le tractus intestinal (Drouault et Corthier, 2001). Il a suggéré que l'autointoxication intestinale et le vieillissement qui en résulte pourrait être supprimés en modifiant le microbiote intestinal et en remplaçant les microbes protéolytiques tels que Clostridium - qui produisent des substances toxiques, notamment des phénols, des indoles et de l'ammoniac issus de la digestion des protéines - par des microbes utiles. Il a élaboré un régime alimentaire à base de lait fermenté avec la bactérie qu'il appelait "bacille bulgare" (Guarner et al., 2012).

Les lactobacilles et les bifidobactéries sont des composants normaux de la microflore intestinale humaine saine et sont couramment utilisés pour la fermentation des produits alimentaires. Des études récentes ont montré que la consommation de certains de ces

bactéries est capable de conférer divers avantages pour la santé, notamment l'amélioration de l'immunité et la meilleure résistance aux maladies infectieuses et aux cancers. La stimulation immunitaire a été suggérée comme étant à l'origine des effets anti-infection et anti-carcinogènes des bactéries lactiques (Gill et al., 2000). Un exemple spécifique de souche probiotique Lacticaseibacillus rhamnosus GG, ATCC 53103 (tableau I) qui est largement documentée pour ses effets bénéfiques et qui a un impact sur la réponse immunitaire, à la fois en stimulant spécifiquement la production d'anticorps et de manière non spécifique en renforçant l'activité phagocytaire des leucocytes sanguins. Elle favorise la guérison de la diarrhée à rota-virus et réduit l'incidence de la diarrhée associée à l'utilisation d'antibiotiques chez les enfants (Ouwehand et Salminen, 1998; Hatakka et al., 2001).

I.4.3. Dans le domaine cosmétique et pharmaceutique

La capacité de l'acide lactique à retenir l'eau le rend adapté à une utilisation comme hydratant dans les formulations cosmétiques. Le lactate d'éthyle est l'ingrédient actif de nombreux produits anti-acné. La présence naturelle d'acide lactique dans le corps humain en fait un ingrédient actif très utile dans les cosmétiques (**Reddy et al., 2008**). Il est considéré en tant qu'un agent éclaircissant et régénérant pour la peau (**Abedi et Hashemi, 2020**).

L'acide lactique est depuis longtemps utilisé dans les formulations pharmaceutiques, principalement dans les pommades topiques, les lotions et les solutions parentérales. Il trouve également des applications dans la préparation de polymères biodégradables à usage médical, tels que les fils de suture chirurgicale, les prothèses et les systèmes de délivrance contrôlée de médicaments (**Reddy et al., 2008 ; Abedi et Hashemi, 2020**).

I.4.4. Dans l'environnement

Dans le domaine de l'environnement, les bactéries lactiques ont été étudiées pour leur potentiel dans la fabrication de substituts biodégradables aux thermoplastiques conventionnels à usage unique. En raison de l'augmentation croissante des déchets plastiques et de leurs impacts négatifs sur les écosystèmes, il est devenu impératif de trouver des alternatives durables. (Reddy et al., 2008), grâce à la production d'acide polylactique (PLA) en tant que polymères biodégradables pour des utilisations commerciales telles que les fibres et les films (Abedi, et Hashemi, 2020).

I.4.5. Dans l'industrie chimique et des procédés techniques

L'acide lactique est largement utilisé dans les industries du tannage du cuir comme acidifiant pour l'élimination des calcaires et dans le tannage végétal. L'acide lactique est utilisé comme agent de détartrage, solvant, agent de nettoyage, régulateur de pH pour ajuster l'acidité des produits, agent libérant lentement de l'acide et humectant dans une variété de processus techniques (**Reddy et** *al.*, **2008**).

II. Fermentation

II.1. Définition

La fermentation est un processus métabolique microbien, généralement anaérobie. Pendant la fermentation, les nutriments fermentescibles contenus dans les aliments sont utilisés comme substrat par les microorganismes pour leur croissance et leur reproduction. Les enzymes microbiennes modifient également chimiquement et physiquement les aliments, et les processus métaboliques modifient leurs propriétés nutritionnelles et fonctionnelles. La fermentation peut être réalisée par la levure (Saccharomyces cerevisiae) pour produire des boissons alcoolisées, et par les bactéries lactiques pour produire des aliments et des boissons non alcoolisés (**Taylor et Emmambux**, **2008**; **Tamime et Robinson**, **2007**).

II.2. Types de fermentation

Il existe plusieurs types principaux de fermentation : La fermentation alcoolique, acétique, malolactique, propionique, butyrique et lactique.

II.2.1. Définition de la fermentation lactique

La fermentation lactique, communément appelée lactofermentation, est l'une des méthodes de conservation les plus courantes et les plus simples .Avant l'avènement de la réfrigération et des techniques modernes de mise en conserve, la fermentation lactique était utilisée pour conserver les produits laitiers, les légumes et la viande pendant de longues périodes, et elle est encore utilisée aujourd'hui dans la fermentation industrielle (Malo et Urquhart, 2016).

La fermentation lactique correspond à la transformation du lactose du lait en acide lactique, sous l'action de micro-organismes spécifiques (bactéries lactiques). Elle s'accompagne de modifications biochimiques, physico-chimiques et sensorielles du produit (Béal et Helinck, 2019).

II.2.2. Types de la fermentation lactique

Les bactéries lactiques, bien qu'appartenant à plusieurs genres divers, sont regroupées en tant que homofermentaires ou hétérofermentaires en fonction du produit final de leur fermentation (Annexe I, Tableau 02) (**Zuniga et** *al.*, **1993 ; Reddy et** *al.*, **2008).**

II.2.2.1. Voie homo-fermentaire (homolactique)

La voie métabolique homofermentaire est une voie de fermentation qui se produit chez certains micro-organismes, tels que certaines bactéries lactiques (genres Streptococcus et Pediococcus. Streptococcus produit du lactate L(+) et Pediococcus produit du lactate DL (Carret al., 2002). Contrairement à la voie métabolique hétérofermentaire, la voie homofermentaire ne produit qu'un seul produit final, à savoir l'acide lactique, à partir d'un ose tel que le glucose (Corsetti et Settanni, 2007; Béal et Helinck, 2019), La voie d'Embden-Meyerhof est l'une des voies de fermentation utilisées, où une mole d'hexose est convertie en deux moles d'acide lactique (König et Fröhlich, 2017). Les lactiques homofermentaires possèdent l'enzyme aldolase, ce qui leur permet de fermenter le glucose de manière plus directe en acide lactique par rapport aux hétérofermentaires (Carr et al., 2002).

II.2.2.2. Voie hétéro-fermentaire (Hétérolactique)

La voie métabolique hétérofermentaire est une voie de fermentation qui se produit chez certains micro-organismes, tels que certaines bactéries lactiques (le genre Leuconostoc et un sous-groupe du genre Lactobacillus, «les bactéries bêta ». Les Leuconostocs produisent du lactate D(-); les bactéries bêta produisent du lactate DL). Ces bactéries utilisent la voie pentose monophosphate alternative, convertissant les sucres à six carbones (hexoses) en sucres à cinq carbones (pentoses) par l'enzyme phosphokétolase, produisant ainsi à la fois de l'aldéhyde et du diacétyle, des substances aromatiques utilisés dans l'industrie laitière. La voie hétérofermentaire se déroule en présence d'un ose, tel que le glucose, et produit 1mol d'acide lactique, du dioxyde de carbone (CO2) et soit de l'éthanol, soit de l'acétate (König et Fröhlich, 2017; Béal et Helinck, 2019; Carr et al.,, 2002) - en fonction de la présence de substrats supplémentaires agissant comme accepteurs d'électrons - (Corsetti et Settanni, 2007). Les bactéries lactiques sont dites hétérofermentaires lorsque d'autres composés comme l'éthanol et le CO2 sont produits en même temps (Savadogo et Traore, 2011).

II.3. Lait fermenté

II.3.1. Définition

Un lait fermenté est un produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière (lait et constituants du lait), ayant subi une pasteurisation et une fermentation par des micro-organismes spécifiques et caractérisé par une teneur en acide lactique minimale de 0,6 %. Il peut être additionné de certains ingrédients lui conférant une saveur spécifique (sucre, arômes, préparations de fruits, additifs), à condition que cette addition n'excède pas 30 % du poids du produit fini (**Béal et Helinck, 2019**).

II.3.2. Rôle de l'acidification dans la production de produits laitiers fermentés

L'acidification est une étape essentielle dans la production de produits laitiers fermentés. Elle est réalisée par des bactéries lactiques naturellement présentes dans le lait ou ajoutées intentionnellement. Ces bactéries se nourrissent du lactose, un sucre présent dans le lait, et produisent de l'acide lactique par fermentation. L'acide lactique a plusieurs effets sur le lait :

II.3.2.1. Coagulation des protéines

L'acidification du lait entraîne la coagulation des protéines, en particulier les caséines, qui sont les principales protéines du lait. La coagulation des protéines est un processus complexe qui est influencé par de nombreux facteurs, tels que la concentration en calcium et en acide lactique, la température et le temps de fermentation. La coagulation des protéines est responsable de la texture épaisse et crémeuse des produits laitiers fermentés (Pelletier, 2007)

II.3.2.2. Texture et saveur

L'acidification a un impact direct sur le développement des arômes et des caractéristiques sensorielles des produits laitiers fermentés, elle confère au produit fini une saveur acide. Les bactéries lactiques produisent divers composés aromatiques, tels que les esters, les aldéhydes et les acides organiques, qui contribuent à la saveur caractéristique de ces produits (Pelletier, 2007). Elles produisent également des exopolysaccharides (EPS) - polymères exocellulaires constitués de résidus osidiques- qui jouent un rôle important dans la formation de la texture des produits fermentés (Widyastuti et Febrisiantosa, 2014). Ces substances peuvent former un réseau tridimensionnel qui emprisonne l'eau et confère une texture plus visqueuse ou plus épaisse aux produits. De plus, l'acidification entraîne une modification de la structure des protéines du lait, ce qui influe sur la consistance des produits fermentés (Pelletier, 2007).

II.3.2.3. Inhibition de la croissance des bactéries pathogènes

L'acide lactique produit lors de la fermentation abaisse le pH du lait, ce qui crée un environnement acide qui inhibe la croissance des bactéries pathogènes. Cela contribue à la stabilité microbiologique du produit et aide à prolonger sa durée de conservation (Sharma et al., 2012; Smid et Kleerebezem, 2014).

II.4. Facteurs influençant l'acidification par les bactéries lactiques

Divers facteurs physiques, chimiques et microbiologiques exercent une forte influence sur la croissance des bactéries lactiques, leur acidification ainsi que leurs autres activités métaboliques (Calo-Mata et al., 2008).

II.4.1. Facteurs physiques

II.4.1.1. Influence de la température

La température est le premier facteur environnemental à considérer pour le développement des bactéries lactiques. Elle agit sur les vitesses des réactions chimiques et biochimiques (réactions enzymatiques intracellulaires) et la perméabilité des membranes cellulaires. Elle doit être fixée autour de 30 °C pour les bactéries mésophiles ou de 42 °C pour les espèces thermophiles (**Béal et Helinck, 2019**).

II.4.1.2. Influence de l'activité de l'eau (aw)

L'activité de l'eau, qui est une mesure de la disponibilité de l'eau pour les réactions chimiques et microbiologiques, peut affecter l'acidification par les bactéries lactiques. Une faible activité de l'eau peut retarder la croissance des bactéries lactiques et l'acidification (**Béal et Helinck**, 2019).

II.4.2. Facteurs chimique

II.4.2.1. Influence de la composition du lait

La composition du lait joue un rôle essentiel dans le développement des bactéries lactiques. Bien que les teneurs initiales en lactose et en sels minéraux soient généralement adéquates dans le lait, ce n'est pas le cas de la fraction azotée libre facilement assimilable (acides aminés et oligopeptides) qui est donc un facteur de limitation. La composition en acides gras du lait agit aussi sur la croissance microbienne (**Béal et Helinck**, **2019**).

II.4.2.2. Influence du pH

Le pH est un facteur chimique essentiel qui influence la croissance des bactéries lactiques en affectant plusieurs aspects, tels que les vitesses d'activité enzymatique, la disponibilité en ions spécifiques qui se lient aux protons, ainsi que la perméabilité des membranes cellulaires (**Béal et Helinck**, **2019**).

II.4.3 Facteurs microbiologique

II.4.3.1. Influence de la souche de bactéries lactique utilisée

Le choix des souches de bactéries lactiques est d'une importance capitale pour obtenir les caractéristiques spécifiques de chaque produit. Ce choix est basé sur les fonctionnalités de chaque souche, telles que l'acidification, la production d'arômes, l'aptitude à former une texture particulière et la post-acidification, en tenant compte des exigences définies pour le produit final (**Béal et Helinck**, **2019**).

II.4.3.2. Taux d'ensemencement des bactéries lactiques dans le lait

Il influence fortement sa transformation. Plus il est élevé, plus la fermentation est rapide. Généralement, ce taux se situe autour de 10⁶ UFC/mL pour, simultanément, obtenir des durées de fabrication courtes et limiter le coût d'achat des ferments. Pour un ensemencement direct, cela correspond à un taux d'inoculation compris entre 2,5 g et 70 g de ferments pour 100 L de lait selon les espèces bactériennes considérées (**Béal et Helinck**, **2019**).

III. Lben

III.1. Définition

Le « Lben » est une boisson lactée préparée par la fermentation spontanée et la coagulation du lait cru entier, suivi de barattage, d'addition d'eau et d'élimination du beurre (El Marnissi et al., 2013 ; Mkadem et al., 2022). Parfois, on utilise du lait de chèvre seul ou en combinaison avec du lait de vache. Il est largement consommé dans certaines régions d'Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie et en Tunisie (Benkerroum, Tamime, 2004).

III.1.1. Lben traditionnel

Lben traditionnel est généralement préparé à petite échelle, à la maison ou dans des laiteries locales. Il est souvent obtenu à partir de lait cru non-pasteurisé (lait de chèvre, de brebis ou de vache), qui contient des bactéries naturelles qui sont les principaux agents responsables de l'acidification et de la conversion du lait en Lben (Oteng-Gyang, 1984; El Marnissi et al., 2013) tels que Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides et Lactobaccillus plantarum (Samet-Bali et al., 2012). Pour préparer le Lben traditionnel, le lait est traditionnellement versé dans un récipient en terre cuite (Figure 02) ou dans un sac en peau de chèvre (Figure 01). Il est ensuite laissé à température ambiante pendant une période allant de 24 à 48 heures afin de permettre son acidification et sa coagulation (Samet-Bali et al., 2012).



Figure 01 : peau de chèvre pour la fermentation et barattage du lait **(Camps et** *al.***,1986).**



Figure 02: Jarre en terre cuite et un instrument en bois pour la fermentation du lait (Tantaoui.E et al.,1989).

III.1.2.Lben industriel

L'ben industriel fabriqué dans les industries laitières à partir de lait reconstitué, qui peut être partiellement ou totalement écrémé. Ce lait reconstitué est ensuite ensemencé avec des cultures de ferments lactiques mésophiles, tels que *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *Diacetylactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *crémoirs* (Samet Bali et al., 2012).

L'opération industrielle du l'ben comprend l'ensemble des étapes présentées dans la figure (03) :

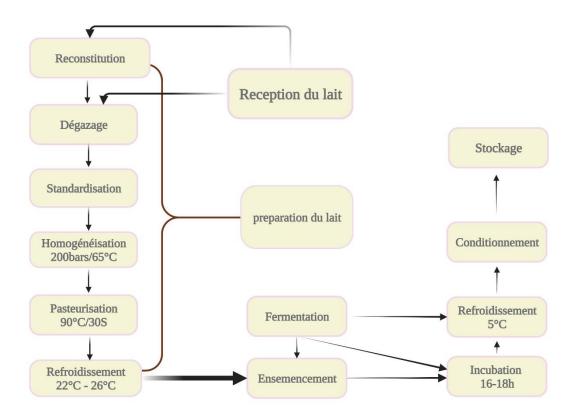


Figure 03 : Les différentes étapes de fabrication du Lben (Avezard et Lablee, 1990)

III.2. Principaux éléments de fabrication de Lben

III.2.1 Eau

Il est recommandé que les installations de transformation du lait disposent d'un approvisionnement en eau potable conforme aux normes établies par les autorités compétentes avant toute utilisation. De plus, il est important de procéder à des contrôles réguliers de la qualité de cette eau. L'eau récupérée en vue de sa réutilisation doit être traitée et maintenue de manière à ne présenter aucun risque pour la sécurité sanitaire et l'hygiène

des produits alimentaires élaborés avec cette eau. Ainsi, l'eau réutilisée destinée à être incorporée dans les denrées alimentaires doit au minimum satisfaire aux critères microbiologiques fixés pour l'eau potable (Codex Alimentarius, 2011).

III.2.2. Poudre de lait

Les poudres de lait sont des produits obtenus par une déshydratation quasi complète du lait, et elles sont classées en trois catégories : la poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé (**Lapointe-Vignola**, 2002)).

III.2.3. Amidon

L'amidon est le principal polysaccharide de stockage présent dans les plantes supérieures, telles que les grains de céréales et de légumineuses. Il s'agit d'un polymère fonctionnel extrêmement important dans les aliments en raison de ses propriétés gélifiantes, viscosifiantes et de fixation de l'eau (**Feillet, 2000**). Dans l'industrie laitière, l'amidon est utilisé comme épaississant et stabilisant (**Béal et Helinck, 2019**).



I. Objectif

Le présent mémoire se focalise sur l'étude du suivi de la post-acidification et de la flore lactique d'un produit laitier fermenté, le Lben. Cette étude a été menée au sein de l'organisme d'accueil, Tchin-Lait, dans le but de suivre la post-acidification et flore lactique du Lben tout au long de sa durée de conservation ainsi que d'analyser les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels associés.

II. Échantillonnage

L'échantillon de Lben utilisé dans cette étude a été un produit commercial disponible sur le marché (Figure 04). Le lait utilisé pour la préparation est du lait frais partiellement écrémé (100% Lait de vache). La date de fabrication des sachets de Lben était le 6 mars 2023. Il s'agit de 7 sachets de Lben, tous issus de la même production qui ont été stockés dans une chambre froide à une température entre 4°C et 6°C pour assurer leur conservation et maintenir leur qualité pendant la durée de l'étude.

Le suivi de l'acidification de Lben a été réalisé à différents intervalles de temps. Les échantillons ont été analysés au jour de réception des sachets(J0) et aux jours j1, j7, j14, j21, à la date limite de consommation (DLC) et 10 jours après la DLC.



Figure 04: Figure illustrative d'un sachet de Lben (RAMDY).

III. Analyses

Lorsque le Lben est produit industriellement, il est important de réaliser une série d'analyses pour garantir sa qualité, sa sécurité alimentaire et sa conformité aux normes réglementaires. Ces analyses peuvent être regroupées en trois catégories principales : les analyses physico-chimiques, les analyses microbiologiques et les analyses sensorielles.

III.1. Analyses physico-chimiques

III.1.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est une mesure utilisée pour quantifier l'acidité ou la basicité d'une solution. Il représente la concentration des ions d'hydrogène (H+) présents dans une solution (**Buck et al., 2002**).



Figure 05: pH-mètre ionique SevenCompact S220.

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre électronique (**le modèle SevenCompact pH-mètre S220**) (Figure 05). Avant de procéder à la mesure, l'électrode du pH-mètre a été rincée avec de l'eau distillée et séchée avec du papier absorbant. Pour effectuer la mesure, le bout de l'électrode a été introduit dans l'échantillon de Lben jusqu'à ce que la valeur du pH se stabilise et s'affiche sur l'écran du pH-mètre. Avant de réaliser une nouvelle mesure, l'électrode a été à nouveau nettoyée puis rincée selon la procédure précédente.

Matériel et méthodes

III.1.2. Acidité titrable

L'acidité titrable mesurée en degrés Dornic (°D) est une méthode couramment

utilisée pour évaluer l'acidité dans les produits laitiers, notamment le lait. Un degré Dornic

correspond à 0,1 ml de soude 1/9 N, c'est-à-dire à 0,1 g d'acide lactique par kg de lait

(Accolas, 1977).

Une fiole a été préparée sur une balance. Ensuite, 10 ml d'échantillon de Lben ont été

ajoutés dans la fiole à l'aide d'une seringue. Pour diluer l'échantillon, 10 ml d'eau distillée

ont été ajoutés par la suite. Trois gouttes (0.1 ml) de phénolphtaléine (1%) ont été ajoutées

à la fiole pour servir d'indicateur de pH et aider à déterminer le point d'équivalence. Une

burette graduée a été préparée avec une solution de NaOH 1/9 N, en veillant à ce qu'elle soit

propre et que le robinet soit fermé. Le titrage a commencé en faisant couler lentement la

solution de NaOH depuis la burette dans la fiole contenant l'échantillon dilué en agitant

constamment, jusqu'à ce que le mélange atteigne une teinte légèrement rosée. Cette teinte

rose pâle a indiqué l'atteinte du point d'équivalence, ce qui signifie que la quantité d'acide

lactique dans l'échantillon de Lben a été exactement neutralisée par la quantité de soude

ajoutée.

La quantité de solution de NaOH utilisée depuis la burette pour atteindre le point

d'équivalence a été notée, ce qui permettra de calculer la quantité d'acide lactique présente

dans l'échantillon.

Le titrage a ainsi permis de déterminer l'acidité titrable de l'échantillon de Lben. La

formule utilisée pour calculer l'acidité est :

 $Acidité = Cb \times 10 \times F$

Cb: La chute de la burette de NaOH 0,1 N (valeur en ml)

10 : Le volume d'échantillon

F: Le facteur de correction de la solution NaOH qui est égale à 0,9

III.1.3 Taux de matière grasse

La matière grasse est parmi les composants les plus important dans le lait en ce qui

concerne son coût, sa valeur nutritionnelle, ainsi que les caractéristiques physiques et

sensorielles qu'elle confère aux produits laitiers (Park et al., 2007). Elle est mesurée par le

23

test de Gerber qui est une méthode chimique simple, rapide et peu coûteuse (**Kleyn et** *al.*, **2001**). Elle est utilisée dans le monde entier et elle a été développée et brevetée par le Dr Niklaus Gerber de Suisse en 1891 (**Shah et** *al.*, **2015**).

La teneur en matière grasse a été déterminée en préparant un butyromètre avec une échelle de 6% (Figure 6). Ensuite, 10 ml d'acide sulfurique de concentration 1,82 N ont été mesurés et ajoutés au butyromètre, suivi de l'ajout de 11 ml de Lben à l'aide d'une pipette de manière que la pipette soit placée en contact avec la paroi du butyromètre. Pour compléter le mélange, 1 ml d'alcool iso-amylique a été ajouté. Le butyromètre a été fermé avec un bouchon de verrouillage et agité manuellement en portant des gants jusqu'à ce qu'une couleur rouge acajou soit obtenue. Ensuite, le butyromètre a été centrifugé à 1100 tr /min pendant 10 minutes à 65 °C dans une centrifugeuse (**Modèle Funke Gerber NovaSafety**). Après la centrifugation, la matière grasse s'est séparée de la phase aqueuse et s'est rassemblée dans la partie supérieure du butyromètre. La quantité de matière grasse présente a pu être mesurée en pourcentage en lisant l'échelle graduée sur le col du butyromètre.



Figure 06 : Butyromètre

III.1.4. Matière sèche

La matière sèche fait référence à la quantité de substances solides restantes après l'évaporation de l'eau. Elle est composée principalement de protéines, de matières grasses, de glucides, de minéraux et de vitamines. La détermination de la matière sèche est une mesure importante pour évaluer la qualité et la composition du lait fermenté (**Martelli**, 1963).

La matière sèche a été déterminée en prélevant 2g de Lben avec une spatule, en les étalant sur une coupelle. Ensuite, cette dernière a été placée sur le dessiccateur (Figure 07) et le couvercle a été fermé. L'appareil a été réglé à une température de 105°C jusqu'à ce que l'appareil sonne, ce qui a pris environ 15 minutes. La mesure a été effectuée à l'aide d'un dessiccateur (**Sertorius MA 35**). L'appareil s'est arrêté automatiquement à la fin de l'analyse, et le résultat a été affiché sur l'appareil.

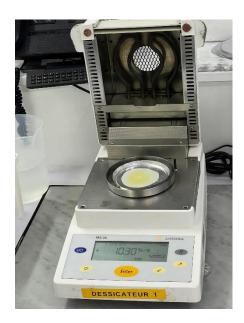




Figure 07: Dessiccateur « Sartorius MA 35 ».

III.2. Analyses microbiologiques

La réglementation exige la recherche de la flore lactique (bactéries lactiques mésophiles) (ISO 15214 :1998(F)) seulement dans le produit fini. Les analyses microbiologiques du Lben mettent en évidence sa présence dominante, elle joue un rôle essentiel dans la transformation du lait en Lben en contribuant à la coagulation, à la fermentation lactique de ce produit laitier.

III.2.1. Analyse et dénombrement de la flore lactique

L'analyse de la flore lactique du Lben a été réalisée sur les sachets de Lben à j0, j1, j7, j14, j21, DLC et DLC + 10 jours. Des échantillons de Lben ont été prélevés et dilués en série jusqu'à la dilution 10⁻⁷. Les dilutions 10⁻⁵, 10⁻⁶ et 10⁻⁷ ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant du milieu de culture MRS (Man, Rogosa and Sharpe) (Figure 07). Les boîtes ont été incubées à une température de 30°C pendant 72 heures et les colonies

bactériennes ont été dénombrées pour évaluer la présence et l'abondance des bactéries lactiques dans le Lben. Le dénombrement a été effectué afin de vérifier qu'ils répondent aux normes réglementaires (plus de 10⁷ UFC / g à la date de péremption) (**Béal et Helinck**, **2019**).

III.2.1.1. Préparation des dilutions

Une série de dilutions décimales a été préparée. La solution mère été effectué en introduisant 10ml de Lben dans 90ml de la solution de Ringer. 1 ml de la solution mère (10⁻¹) été ajouté dans le premier tube contenant 9ml de l'eau peptonée pour obtenir la deuxième dilution (10⁻²) et ainsi de suite jusqu'à l'obtention la dernière dilution souhaitée (10⁻⁷) (Figure 08).

III.2.1.2. Ensemencement et incubation des boites de Pétri

L'ensemencement a été réalisé uniquement pour les trois dernières dilutions (10⁻⁵, 10⁻⁶,10⁻⁷) (Figure 08). Deux boîtes de Pétri ont été utilisées pour chacune de ces dilutions. Pour chaque dilution, 1 ml a été prélevé et ajouté aux boîtes correspondantes. Ensuite, ensemencées sur milieu MRS (Man Rogosa Sharpe) ont été ajoutés dans chaque boite et mélangés avec des mouvements circulaires. Les boîtes ont été laissées à solidifier (Figure 10) et placées dans une jarre étanche pour créer un environnement anaérobie, c'est-à-dire un environnement exempt d'oxygène. Ce favorise la croissance des micro-organismes anaérobies (Figure 09). Il était également possible d'utiliser une double couche MRS pour créer des conditions anaérobies. Les boîtes ont ensuite été incubées à 30°C pendant 72 heures (Annexe II, Figure 04).

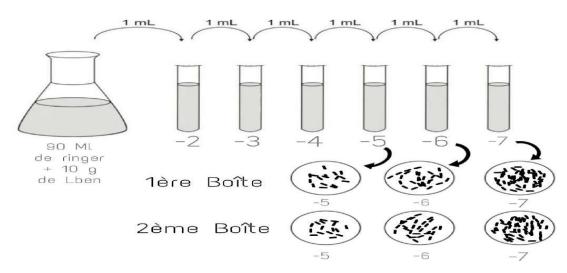


Figure 08: Technique des dilutions et d'ensemencement



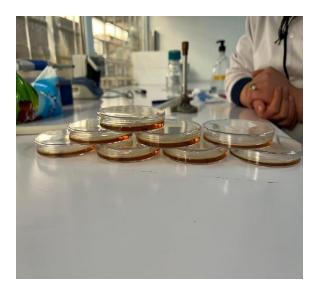


Figure 09: Jarre d'anaerobiose « Oxide ». **Figure 10**: Solidification de la gélose MRS.

III.2.1.3. Comptage des colonies bactériennes

Après l'incubation, les boîtes de Pétri ont été retirées de l'étuve et les colonies bactériennes ont été dénombrées, et le nombre des bactéries mésophiles présentes dans l'échantillon était calculer, à l'aide de l'équation suivante (ISO 15214 :1998(F)) :

$$N = \frac{\sum c}{v(n_1 + 0.1 \ n_2 \)d}$$

Où:

 Σc : est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont une au moins contient au moins 15 colonies ; et moins de 300 colonies.

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

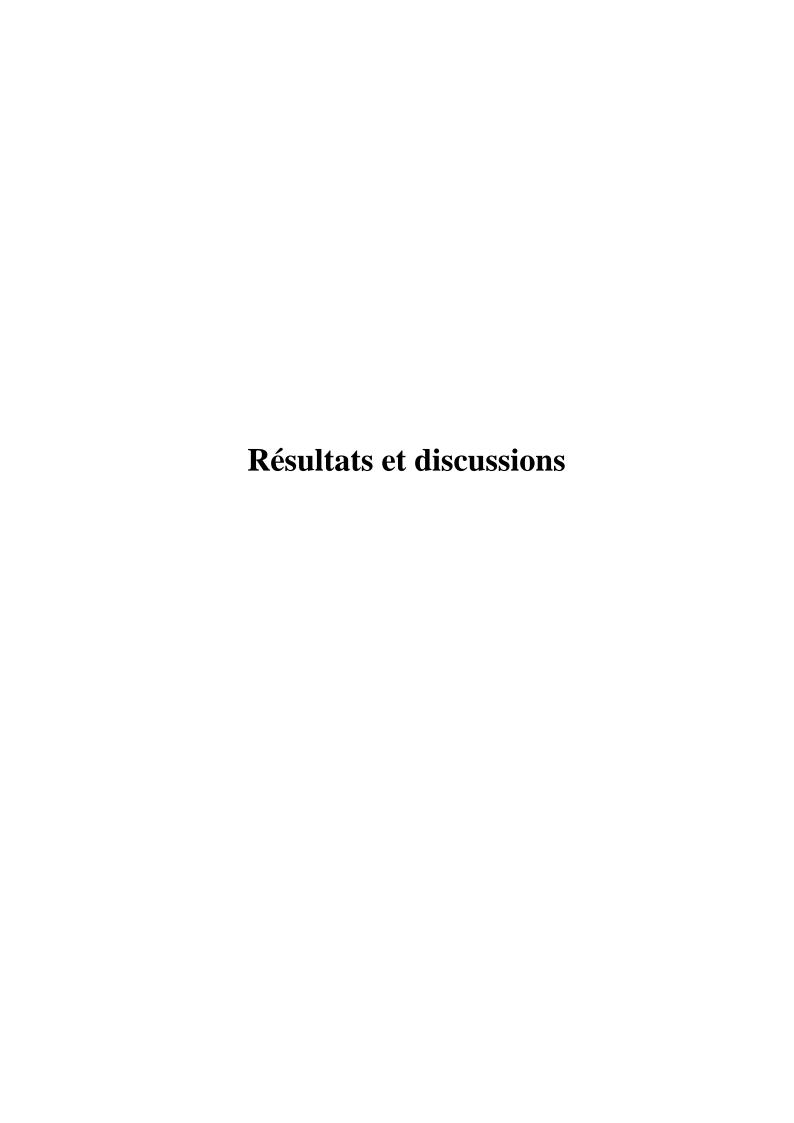
n₁ : est le nombre de boîtes retenues à la première dilution;

n₂: est le nombre de boîtes retenues à la première dilution;

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

III.3. Analyses sensorielles

Le produit été régulièrement évalués par deux personnes du personnel de laboratoire afin de vérifier leur acceptabilité par les consommateurs. L'évaluation sensorielle porte principalement sur l'apparence du produit (la couleur, la texture, l'odeur et l'arôme qu'il dégage, ainsi que son goût).



I. Analyses

I.1. Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon du Lben industriel à base 100% lait de vache) qu'on a obtenu pendant 38j de stockage sont représentées dans le tableau II.

Tableau II : Résultats du Test de Stabilité (pH, acidité titrable, matière grasse, matière sèche).

Jours de la	pН	Acidité dornoic	Matière	Matière
conservation		(° D)	grasse	sèche
J+0	4,63	67,50	10,11 %	2,1 %
J+1	4,63	67,50	/	/
J+7	4,58	68,40	/	/
J+14	4,56	68,50	/	/
J+21	4,54	68,52	/	/
DLC	4,52	68,65	/	/
DLC +10J	4,47	69,30	/	/

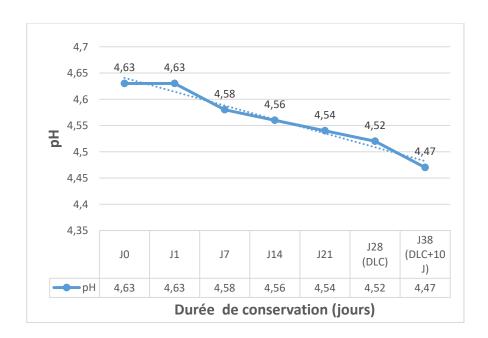


Figure 11 : Évolution du pH en fonction du temps de conservation.

I.1.1 Évolution du pH en fonction du temps

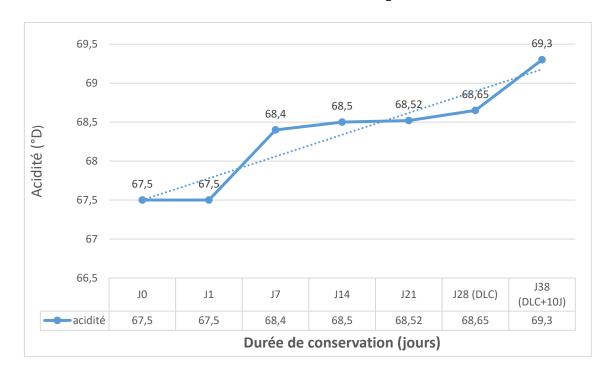
Les résultats de pH peuvent être interprétés en fonction des différentes phases de la période d'étude (figure 11) :

Phase 1 (j0-j1): Pendant cette phase initiale, le pH du Lben reste constant à 4,63. Aucun changement significatif n'est observé, indiquant une stabilité du pH pendant cette période précoce.

Phase 2 (j1-DLC): une légère diminution du pH est observée, passant de 4,63 à J+1 à 4,52 à J28 (DLC). Cette diminution progressive du pH indique une poursuite de la fermentation lactique pendant cette période.

Phase 3 (**DLC-DLC** +**10j**) : le pH continue de diminuer, atteignant une valeur de 4,47 à DLC+10J. Cette baisse supplémentaire du pH indique une acidification plus prononcée du Lben au fur et à mesure de son vieillissement.

Les résultats montrent une diminution graduelle légère du pH du Lben tout au long des différentes phases de la période d'étude, indiquant une augmentation progressive de l'acidité pendant la fermentation ce qui été également rapportée par **Peerkhan et Nair** (2021), qui spécifie les effets modérés et prononcés du temps et de la culture de démarrage sur la production d'acide. Nos résultats étaient similaires à ceux rapportés par **El Marnissi** et *al.*,(2013) avec une valeur pH= 4,5. Ils ont démontré que les pH acides du « Lben » s'expliquent par l'activité acidifiante des bactéries lactiques.



I.1.2. Évolution du l'acidité en fonction du temps

Figure 12 : Évolution de l'acidité en fonction du temps de conservation.

Interprétation des résultats de l'acidité pour chaque phase (figure 12) :

Phase 1 (j0-j1):

Lors de la phase initiale de la fermentation, de Jour 0 à Jour 1, il n'y a pas de changement significatif dans l'acidité dornic du lait fermenté (Lben). Les valeurs d'acidité dornic restent constantes à 67,50 °D. Cela suggère que la fermentation lactique n'a pas encore débuté ou que le processus est à un stade précoce. Les bactéries lactiques présentes dans le Lben commencent à métaboliser le lactose en acide lactique, mais leur activité est encore limitée.

Phase 2 (j1-DLC):

La valeur d'acidité dornic passe de 67,50 °D à 68,65 °D à la DLC. Cette augmentation indique que la fermentation lactique progresse et que les bactéries lactiques continuent de métaboliser le lactose en acide lactique. Cependant, l'augmentation de l'acidité est relativement faible, ce qui suggère que la fermentation est lente ou que les bactéries lactiques sont présentes en faible quantité.

Phase 3 (DLC-DLC +10j):

L'acidité dornic augmente plus significativement. La valeur d'acidité dornic atteint 69,30 °D à la DLC +10 jours, ce qui représente une augmentation par rapport à la DLC (68,65 °D). Cette augmentation plus prononcée de l'acidité indique une activité métabolique accrue des bactéries lactiques. Les bactéries lactiques continuent de convertir le lactose en acide lactique à un rythme plus rapide, ce qui conduit à une augmentation de l'acidité dornic.

En résumé, les résultats d'acidité indiquent une légère augmentation progressive tout au long des différentes phases de la période d'étude. Cela est cohérent avec le processus de fermentation du Lben et suggère que l'acidité du produit continue d'augmenter même après la DLC.

L'acidité titrable du Lben dans cette étude est de 69°D et celle mesurée par El Marnissi et al (2013), est de 80°D ce qui témoigne d'une fermentation lactique importante dans ce produit. Nos résultats sont comparables à leur étude ou ils ont mentionné que les variabilités du pH et de l'acidité titrable sont liées aux conditions hygiéniques lors de la traite, à la flore microbienne totale ainsi à son activité métabolique.

I.1.3. Évolution de l'acidité en fonction du pH

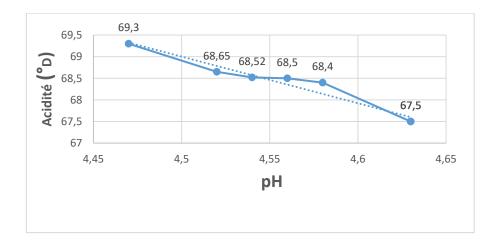


Figure 13 : Évolution de l'acidité en fonction du pH.

Les résultats de cette étude suggèrent un inversement proportionnel entre l'évolution de l'acidité dornic et le pH dans le Lben fermenté. Cela signifie que lorsque le pH diminue,

l'acidité dornic augmente, et vice versa (Figure 13). Cette relation inverse entre ces deux paramètres est cohérente avec le processus de fermentation lactique, où la production d'acide lactique par les bactéries lactiques entraîne une baisse du pH et une augmentation de l'acidité. Les résultats de cette étude étaient similaires à ceux rapportés par **Tamagnini et al.**, (2006) et **Sarhir et al.**, (2023).

En général, les données fournies suggèrent que l'acidité dornoic diminue globalement lorsque le pH augmente, bien que des variations mineures puissent être observées à des pH similaires.

I.1.4. La matière sèche et la matière grasse

Les résultats indiquent un taux de matière grasse de 2,1% et une matière sèche de 10,11%.

La matière grasse et la matière sèche de ce produit fini ne subissent pas de changements significatifs au fil du temps jusqu'à la DLC +10J. Les variations de ces composants sont peu susceptibles d'affecter la qualité du produit, il peut être acceptable de ne réaliser ces analyses qu'au début pour des raisons de praticité et de réduction des coûts.

I.2. Analyses microbiologiques

Lors de l'analyse de la flore lactique du Lben, les colonies bactériennes ont été observées comme petites colonies blanches (figure 14), visibles à l'œil nu, incrustées sur la gélose MRS. Elles ont présenté une forme régulière ou irrégulière selon les phases d'échantillonnage, ainsi qu'une texture opaque.

Cette description est basée sur les caractéristiques générales des bactéries lactiques et peut varier en fonction des souches bactériennes spécifiques présentes dans le Lben étudié, les résultats observés dans le tableau III.

Une étude sur l'efficacité de la flore microbienne impliquée dans la fermentation du Lben a été réalisée par **SAMET-BALI** et *al.*, (2012), et ils ont rapporté que les LAB mésophiles étaient la principale flore microbienne responsable de la fermentation lactique et du développement de l'arôme dans le Lben, et que leur compte dans le lait fermenté (plus de 10^5 UFC/ml) augmentait à plus de 10^8 UFC/ml après 18 à 24 heures (**Benkerroum** et **Tamime**, 2004).

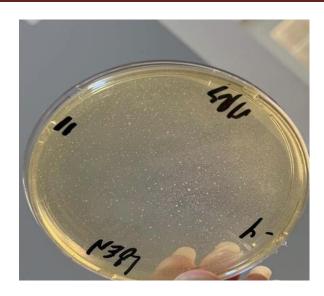


Figure 14 : Colonies formées après incubation

Tableau III : Population de la flore lactique à différentes étapes de l'étude

Durée de stockage	Flore lactique		
	N (UFC/ml)		
J+0	/		
J+1	1.5 x 10 ⁸ UFC/ml		
J+7	3,36 x 10 ⁷ UFC/ml		
J+14	2,5 x 10 ⁷ UFC/ml		
J+21	1,09 x 10 ⁷ UFC/ml		
DLC	3 x 10 ⁷ UFC/ml		
DLC +10J	9,99 x 10 ⁶ UFC/ml		
(/: Teste on effectué)			

I.2.1 Évolution de la population de la flore lactique au fil du temps

Phase 1 (J1-J21):

Au cours de cette phase initiale, le dénombrement de la flore lactique connaît une diminution progressive. À j1, le dénombrement est élevé, atteignant 1,5 x 10⁸ UFC/mL. Au fil des jours, le nombre de flore lactique diminue, atteignant 1,09 x 10⁷ UFC/mL à j21. Cette diminution peut être attribuée à divers facteurs tels que la consommation des sucres disponibles dans le lait, la compétition entre les souches microbiennes et les éventuels changements de l'environnement.

Phase 2 (J21- DLC):

Dans cette phase, la concentration de la flore lactique est passée de $1,09 \times 10^7$ au jour $21 \text{ à } 3 \times 10^7$, ce qui indique une augmentation de la population de la flore lactique à ce stade spécifique. Cette augmentation peut être due à divers facteurs, tels que la disponibilité accrue de nutriments ou des conditions environnementales favorables. (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

Phase 3 (J21-DLC):

Dans cette phase, la concentration de la flore lactique est passée de $1,09 \times 10^7$ au jour $21 \text{ à } 3 \times 10^7$, ce qui indique une augmentation de la population de la flore lactique à ce stade spécifique. Cette augmentation peut être due à divers facteurs, tels que la disponibilité accrue de nutriments ou des conditions environnementales favorables.

Phase 4 (DLC - DLC+10j):

De la DLC à la DLC+10j, cette phase est considérée comme la phase de dépassement de la date limite de consommation, le dénombrement de la flore lactique continue de diminuer, passant de 3 x 10⁷ à 9,99 x 10⁶. Cela montre une diminution supplémentaire de la flore lactique pendant cette période.

En résumé, les résultats suggèrent que la flore lactique dans ce produit (Lben) présente une augmentation initiale pendant la phase de fermentation (phase 1, suivie d'une diminution progressive au cours de la phase intermédiaire. À un stade ultérieur, une nouvelle augmentation de la population peut se produire, mais une fois la date limite de consommation dépassée, la concentration de la flore lactique diminue davantage. Ces changements peuvent être influencés par des facteurs tels que :

> Épuisement des nutriments :

La flore lactique se nourrit des nutriments présents dans le produit laitier fermenté, tels que les sucres. Au fur et à mesure que la fermentation progresse, ces nutriments peuvent être consommés et épuisés, ce qui entraîne une diminution de la population de la flore lactique (Sarhir et *al.*, 2023).

Résultats et discussion

Accumulation de métabolites :

Pendant la fermentation, la flore lactique produit des métabolites tels que l'acide lactique. L'accumulation de ces métabolites peut avoir des effets inhibiteurs sur la croissance de la flore lactique elle-même. Cela peut contribuer à la diminution observée dans les dénombrements (**Benkerroum et Tamime**, 2004).

> Concurrence microbienne :

Au cours de la fermentation, d'autres micro-organismes présents dans le produit laitier peuvent également se développer et concurrencer la flore lactique pour les nutriments et l'espace. Cette concurrence peut entraîner une diminution de la population de la flore lactique au fil du temps (Benkerroum et Tamime, 2004).

Facteurs environnementaux :

Les conditions environnementales, telles que la température, le pH et l'activité de l'eau, peuvent également influencer la croissance de la flore lactique. Des variations dans ces paramètres peuvent favoriser la croissance d'autres micro-organismes ou limiter la croissance de la flore lactique, ce qui conduit à sa diminution (**Benkerroum et Tamime**, 2004).

Ces bactéries lactiques sont capables de coaguler le lait, d'inhiber la croissance de microorganismes nuisibles, d'assurer une prolongation de la durée de conservation du produit grâce à leur pouvoir acidifiant, et elles contribuent également à des améliorations des propriétés nutritionnelles et sensorielles telles que la fraîcheur, la texture, la douceur et la saveur (Sarhir et al., 2019).

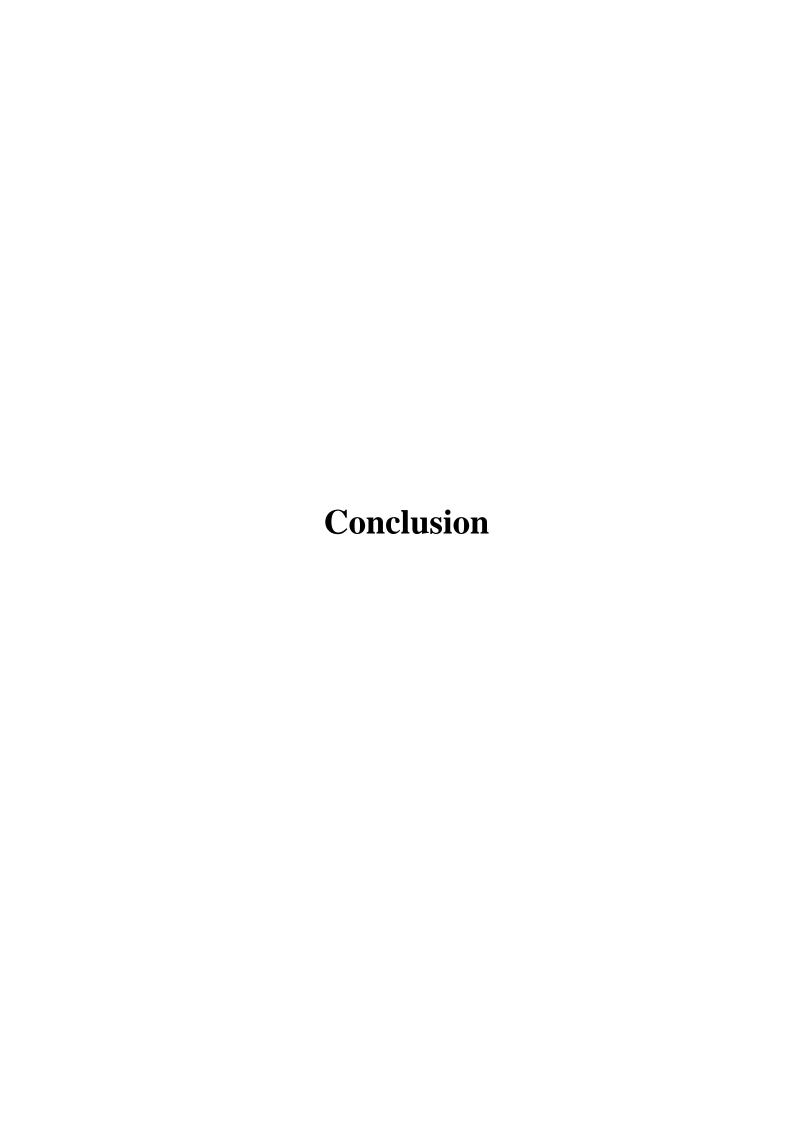
I.3. Analyses sensoriels

Les résultats des analyses sensorielles pour Lben en termes de goût et de texture, lors d'un suivi sur 38 jours, réparti en différentes phases :

	Gout	odeur	texture
Phase 1 (j0-j1):	légèrement acidulé,	douce et légèrement	Encore similaire à
	mais pas très	acide avec des notes	celle du lait, avec
	prononcé à ce stade	de lait frais.	une consistance
	précoce de la		liquide.
	fermentation.		
Phase 2 (j1-DLC)	plus acidulé et	plus prononcée,	légèrement plus
	légèrement	avec des notes	ferme et cohérente,
	aigre-doux,	acidulées et	avec une légère
		légèrement plus	formation de gel ou
		fermentées.	de cohésion.
Phase 3 (DLC-DLC	plus acidulé	plus prononcée,	reste globalement la
+10j)		avec des notes	même que lors de la
		acides et fermentées	phase précédente.
		plus intenses.	

Au fil des 38 jours de suivi, le Lben évolue du stade initial légèrement acide vers une saveur équilibrée et douce, avec une texture de plus en plus crémeuse et ferme. Ces changements sont caractéristiques de la maturation du Lben et contribuent à son profil sensoriel final agréable et satisfaisant comme l'ont souligné **Sarhir et al.**, (2019).

Ces résultats sont basés sur des caractéristiques sensorielles typiques du Lben, mais ils peuvent varier en fonction des procédés de fabrication spécifiques et des conditions de stockage.



Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif de réaliser un suivi de l'évolution de pH et l'acidité de Lben industriel au niveau de la laiterie «TCHIN LAIT/ RAMDY» AKBOU au cours du stockage pendant 38 jours, suivi par d'autres analyses telles que la teneur en matière grasse et sèche ainsi les analyses microbiologiques et sonsorielles. Tous cela pour fournir un produit de qualité qui répond aux critères hygiéniques, nutritionnels, et organoleptiques attendues par le consommateur.

Les résultats d'analyses obtenus pour ce produit laitier fermenté «Lben », fournissent des informations précieuses sur son évolution au fil du temps.

Sur le plan physico-chimique, nous avons observé une diminution progressive du pH tout au long de la période de suivi de 4,63 jusqu'à 4,47, ce qui est cohérent avec le processus de fermentation. Cette acidification est soutenue par une légère augmentation de l'acidité mesurée en degrés Dornic de 67 vers 69,3 °D. Les teneurs en matière grasse et en matière sèche sont restées constantes, avec une teneur en matière grasse de 2,1% et une teneur en matière sèche de 10,11%.

Du point de vue microbiologique, les dénombrements de la flore lactique ont montré des variations tout au long de l'étude. Les concentrations les plus élevées ont été observées au jour 1, suivi d'une diminution progressive jusqu'à la DLC +10j. Ces résultats indiquent une activité fermentaire initiale importante, suivie d'une diminution progressive de la flore lactique au fur et à mesure de l'avancement de la fermentation.

En conclusion, cette étude démontre que le Lben subit une post-acidification attendue, accompagnée d'une diminution de la flore lactique au fil du temps ce qui est favorable pour sa qualité et sa conformités. Ces résultats fournissent une compréhension approfondie des changements physico-chimiques et microbiologiques qui se produisent dans Lben pendant sa fermentation. Ils sont essentiels pour évaluer la stabilité et l'évolution de ce produit laitier fermenté, ainsi que pour garantir sa qualité et sa sécurité alimentaire. Mon mémoire contribue ainsi à l'amélioration des connaissances dans le domaine de la post-acidification et de la flore lactique des produits laitiers fermentés, en offrant des informations pertinentes pour l'industrie laitière et les consommateurs.

Pour finir, quelques perspectives possibles pour formuler des recommandations concrètes pour améliorer les aspects clés du Lben industriel et ouvrir de nouvelles possibilités de développement dans l'industrie :

Conclusion et perspectives

- ➤ Optimisation des procédés de production : L'étude des différentes étapes de production du Lben industriel peut révéler des opportunités d'optimisation. Des recommandations peuvent être formulées pour automatiser certaines tâches, améliorer l'efficacité énergétique, optimiser les temps de traitement et utiliser des technologies innovantes pour accélérer la production tout en maintenant la qualité.
- ➤ Développement de nouveaux produits : L'exploration de nouvelles variantes à base de Lben industriel peut être suggérée, telles que des produits aromatisés ou une expansion de la gamme de produits dérivés. Des recherches sur les préférences des consommateurs, l'analyse des tendances du marché et des études de faisabilité peuvent être nécessaires.
- ➤ Prolongation de la durée de conservation : Des recherches peuvent être menées pour développer des méthodes visant à prolonger la durée de conservation du Lben industriel, en explorant des techniques telles que la modification des conditions d'emballage, l'utilisation de conservateurs naturels ou l'application de traitements innovants pour préserver la fraîcheur du produit sur une période plus longue.
- Mise en place d'un programme de prévention des risques : Il est recommandé d'établir un programme de prévention des risques afin d'assurer la sécurité et la qualité du Lben industriel tout au long du processus de production. Cela peut inclure des protocoles de surveillance et de contrôle plus stricts, des formations approfondies du personnel sur les bonnes pratiques de fabrication, ainsi que la mise en place de systèmes d'alerte précoce pour détecter et résoudre rapidement les problèmes éventuels.
- Communication et sensibilisation : Une perspective importante consisterait à développer des stratégies de communication et de sensibilisation pour informer les consommateurs sur les avantages du Lben industriel, ses caractéristiques nutritionnelles, son processus de fabrication et son impact environnemental. Cela peut être réalisé à travers des campagnes publicitaires, des collaborations avec des influenceurs ou des partenariats avec des organisations de santé.

Références bibliographiques

-A-

- Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production—producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10), e04974.
- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology advances*, *31*(6), 877-902.
- Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S. R., Chakraborty, B., Wen, Z. T., ... & Lemos, J. A. (2018). Biology of oral streptococci. Microbiology spectrum, 6(5), 10-1128.
- Accolas, J. P., Bloquel, R., Didienne, R., & Regnier, J. (1977). Propriétés acidifiantes des bactéries lactiques thermophiles en relation avec la fabrication du yoghourt. Le lait, 57(561-562), 1-23.
- Ağagündüz, D., Yılmaz, B., Şahin, T. Ö., Güneşliol, B. E., Ayten, Ş., Russo, P., ... & Özogul, F. (2021). Dairy lactic acid bacteria and their potential function in dietetics: The food—gut-health axis. Foods, 10(12), 3099.
- Aguirre, M., & Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. Journal of Applied Bacteriology, 75(2), 95-107.
- Avezard .C.L, et Lablee. J, 1990 : Laits et produits laitiers recombinés, In LUQUEE F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 637 pages.

-B-

- Béal, C., & Helinck, S. (2019). Fabrication des yaourts et des laits fermentés.
- Bello, S., Rudra, B., & Gupta, R. S. (2022). Phylogenomic and comparative genomic analyses of Leuconostocaceae species: identification of molecular signatures specific for the genera Leuconostoc, Fructobacillus and Oenococcus and proposal for a novel genus Periweissella gen. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 72(3), 005284.
- Benkerroum, N., & Tamime, A. Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. Food Microbiology, 21(4), 399-413.
- Brown, A. C., & Valiere, A. (2004). Probiotics and medical nutrition therapy. Nutrition in clinical care: an official publication of Tufts University, 7(2), 56.
- Buck, R. P., Rondinini, S., Covington, A. K., Baucke, F. G. K., Brett, C. M., Camoes, M. F., ... & Wilson, G. S. (2002). Measurement of pH. Definition, standards, and procedures (IUPAC Recommendations 2002). Pure and applied chemistry, 74(11), 2169-2200.

- Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., & Barros-Velazquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. Food and Bioprocess Technology, 1, 43-63.
- Camps, G., Morel, J. P., Hanoteau, G., Letourneux, A., Nouschi, A., Fery, R., ... & Gast, M. (1986). Alimentation. *Encyclopédie berbère*, (4), 472-529.
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. Critical reviews in microbiology, 28(4), 281-370.
- Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021). Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. Foods, 10(11), 2639.
- Chalita, M., Ha, S. M., Kim, Y. O., Oh, H. S., Yoon, S. H., & Chun, J. (2020). Improved metagenomic taxonomic profiling using a curated core gene-based bacterial database reveals unrecognized species in the genus Streptococcus. Pathogens, 9(3), 204.
- Champagne, C. P., da Cruz, A. G., & Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, 22, 160-166.
- Codex Alimentarius, 2011. Lait et produits laitiers (2ème édition). FAO et OMS. 257 p.
- Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. Food research international, 40(5), 539-558.

-D-

- De Roissart, H., & Luquet, F. M. (1994). Bactéries lactiques. I & II, Lorica (Chemin de Saint Georges, F-38410, France), 1219.
- Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: utilisation et innocuité. *Cahiers agricultures*, *5*(5), 331-343.
- Drouault, S., & Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. Veterinary research, 32(2), 101-117.
- Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 13(1).

-E-

El Marnissi, B., Belkhou, R., & Bennani, L. (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). Les technologies de laboratoire, 8(33).

-F-

Feillet P, 2000. Le grain de blé : composition et utilisation, Edition Quae. 308 p.

-G-

- Gaudu, P., Yamamoto, Y., Jensen, P. R., Hammer, K., Lechardeur, D., & Gruss, A. (2019).

 Genetics of lactococci. Microbiology Spectrum, 7(4), 7-4.
- Gill, H. S., Rutherfurd, K. J., Prasad, J., & Gopal, P. K. (2000). Enhancement of natural and acquired immunity by Lactobacillus rhamnosus (HN001), Lactobacillus acidophilus (HN017) and Bifidobacterium lactis (HN019). British Journal of Nutrition, 83(2), 167-176.
- Gilliland, S. E., Staley, T. E., & Bush, L. J. (1984). Importance of bile tolerance of Lactobacillus acidophilus used as a dietary adjunct. *Journal of dairy science*, 67(12), 3045-3051.
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & Kim, N. (2012). World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics october 2011. Journal of clinical gastroenterology, 46(6), 468-481.
- Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod.

-H-

- Hammes, W. P., & Hertel, C. H. R. I. S. T. I. A. N. (2006). The genera lactobacillus and carnobacterium. Prokaryotes, 4, 320-403.
- Hatakka, K., Savilahti, E., Pönkä, A., Meurman, J. H., Poussa, T., Näse, L., ... & Korpela, R. (2001). Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *Bmj*, 322(7298), 1327.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., & in't Veld, J. H. H. (1998). Overview of gut flora and probiotics. International journal of food microbiology, 41(2), 85-101.
- Hossain, Z. (2014). Bacteria: Streptococcus.
- Hotel, A. C. P., & Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Prevention, 5(1), 1-10.
- Hugenholtz, J. (2013). Traditional biotechnology for new foods and beverages. Current opinion in biotechnology, 24(2), 155-159.

-J-

Jeevaratnam, K., Jamuna, M., & Bawa, A. S. (2005). Biological preservation of foods—Bacteriocins of lactic acid bacteria.

-K-

- Kleyn, D. H., Lynch, J. M., Barbano, D. M., Bloom, M. J., Mitchell, M. W., & Collaborators: Cooper LS Cusak E Fick M Hanks T Hesen MK Johnson J Kleyn DH Mercer F Monahan D Peat B Petit M. (2001). Determination of fat in raw and processed milks by the Gerber method: collaborative study. Journal of AOAC international, 84(5), 1499-1508.
- König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine, 3-41.

-I_-

- Lapointe-Vignola, C. (2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science & Technology, 15(2), 67-78.
- Letaconnoux, N. (2019). Les produits fermentés: une tendance du marché de l'alimentaire et des opportunités à saisir. La revue de l'observatoire des IAA de Bretagne, (134), 13-18.
- Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS microbiology reviews*, 7(1-2), 149-163.
- Liu, S. N., Han, Y., & Zhou, Z. J. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. Food Research International, 44(3), 643-651.

-M-

- Malo, P. and Urquhart, E. (2016) Fermented Foods: Use of Starter Cultures. In: Encylopedia of Food and Health, Academic Press, Cambridge, 681-685.
- Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. Nutrients, 12(6), 1679.
- Marco, M. L., Pavan, S., & Kleerebezem, M. (2006). Towards understanding molecular modes of probiotic action. Current opinion in biotechnology, 17(2), 204-210.

Références bibliographiques

- Martelli, M. (1963). Étude d'une méthode de référence pour la détermination de la matière sèche dans les fromages: comparaison avec les méthodes actuellement en usage. Le Lait, 43(421-422), 22-30.
- Masood, M. I., Qadir, M. I., Shirazi, J. H., & Khan, I. U. (2011). Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. Critical reviews in microbiology, 37(1), 91-98.
- Mkadem, W., Belguith, K., Ben Zid, M., & Boudhrioua, N. (2022). Fortification of Traditional Fermented Milk "Lben" with Date Powder: Physicochemical and Sensory Attributes. *Engineering Proceedings*, 19(1), 43.
- Mokoena, M. P., Omatola, C. A., & Olaniran, A. O. (2021). Applications of lactic acid bacteria and their bacteriocins against food spoilage microorganisms and foodborne pathogens. Molecules, 26(22), 7055.

-N-

Nair, P. S. & Surendran, P. K. 2005. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from fish and prawn. Journal Of Culture Collections 4, 48-52.

-O-

- O'Callaghan, J., & O'Toole, P. W. (2011). Lactobacillus: Host–microbe relationships. Between Pathogenicity and Commensalism, 119-154.
- Oteng-Gyang, 1984: Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds .Ed. Tec et Doc Lavoisier, paris, pp87-89.
- Ouwehand, A. C., & Salminen, S. J. (1998). The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. International Dairy Journal, 8(9), 749-758.

-P-

- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small ruminant research, 68(1-2), 88-113.
- Patil, M. M., Pal, A., Anand, T. & Ramana, K. 2010. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from curd and cucumber. Indian Journal of biotechnology . 9: 166-172.
- Peerkhan, N., & Nair, S. (2021). Optimization of wheat dextrin yogurt formulation using response surface methodology. Journal of Food Science and Technology, 58(5), 1740-1749
- Pelletier, J. F., Faurie, J. M., François, A., & Teissier, P. (2007). Lait fermenté: la technologie au service du goût. Cahiers de Nutrition et de Dietetique, 42, 15-20.

- Ranadheera C S, Naumovski N and Ajlouni S (2018) Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: recent developments and innovations. Current Opinion in Food Science, 22:109–114.
- Reddy, G., Altaf, M. D., Naveena, B. J., Venkateshwar, M., & Kumar, E. V. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. Biotechnology advances, 26(1), 22-34.
- Renye Jr, J. A., & Somkuti, G. A. (2015). Bacteriocins of food grade lactic acid bacteria in hurdle technology for milk and dairy products. Emerging dairy processing technologies: opportunities for the dairy industry, 267-306.
- Rokop, Z. P., Horton, M. A., & Newton, I. L. G. (2015). Interactions between cooccurring lactic acid bacteria in honey bee hives. Applied and Environmental Microbiology, 81(20), 7261-7270.

-S-

- Saithong, P., Panthavee, W., Boonyaratanakornkit, M., & Sikkhamondhol, C. (2010). Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaa-som, a Thai fermented fish. Journal of bioscience and bioengineering, 110(5), 553-557.
- Samet-Bali, O., Ayadi, M. A., & Attia, H. (2012). Development of fermented milk "Leben" made from spontaneous fermented cow's milk. African Journal of Biotechnology, 11(8), 1829-1837.
- Santivarangkna, C., Kulozik, U., & Foerst, P. (2007). Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures. Biotechnology progress, 23(2), 302-315.
- Sarhir, S. T., Amanpour, A., Bouseta, A., & Selli, S. (2019). Key odorants of a Moroccan fermented milk product "Lben" using aroma extract dilution analysis. Journal of food science and technology, 56(8), 3836-3845.
- Sarhir, S. T., Belkhou, R., Bouseta, A., & Hayaloglu, A. A. (2023). Evaluation of technofunctional and biochemical characteristics of selected lactic acid bacteria (Lactococcus lactis subsp. lactis and Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides) used for the production of Moroccan fermented milk: Lben. International Dairy Journal, 140, 105592.
- Savadogo, A., & Traore, A. S. (2011). La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 5(5), 2057-2075.
- Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. International dairy journal, 17(11), 1262-1277.

Références bibliographiques

- Sharma, R. O. H. I. T., Sanodiya, B. S., Bagrodia, D. E. E. P. I. K. A., Pandey, M. U. K. E. S. H. W. A. R., Sharma, A. N. J. A. N. A., & Bisen, P. S. (2012). Efficacy and potential of lactic acid bacteria modulating human health. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 3(4), 935-948.
- Smid, E. J., & Kleerebezem, M. (2014). Production of aroma compounds in lactic fermentations. Annual Review of Food Science and Technology, 5, 313-326.
- Stackebrandt, E., & Teuber, M. (1988). Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. Biochimie, 70(3), 317-324.
- Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. International journal of food microbiology, 36(1), 1-29
- Soomro, A. H., Masud, T., & Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. Pakistan Journal of Nutrition, 1(1), 20-24.

-T-

- Tamang, J. P., Watanabe, K., & Holzapfel, W. H. (2016). Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*, 7, 377.
- Tamagnini, L. M., De Sousa, G. B., Gonzalez, R. D., & Budde, C. E. (2006). Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research*, 66(1-3), 175-180.
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology. Elsevier.
- Taylor, J. R. N., & Emmambux, M. N. (2008). Products containing other speciality grains: sorghum, the millets and pseudocereals. In Technology of functional cereal products (pp. 281-335). Woodhead Publishing.
- Toit, M. D., Huch, M., Cho, G. S., & Franz, C. M. (2014). The family streptococcaceae. Lactic acid bacteria: Biodiversity and taxonomy, 445-446.

-V-

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., ... & Whitman, W. B. (Eds.). (2011). Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

-W-

- Wang, X., Luo, H., Wang, D., Zheng, Y., Zhu, W., Zhang, W., ... & Shao, J. (2023). Partial Substitution of Fish Meal with Soy Protein Concentrate on Growth, Liver Health, Intestinal Morphology, and Microbiota in Juvenile Large Yellow Croaker (Larimichthys crocea). Aquaculture Nutrition, 2023.
- Widyastuti, Y., & Febrisiantosa, A. (2014). The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. Food and Nutrition Sciences, 2014, p 4

-Z-

- Zhai, Y., & Pérez-Díaz, I. M. (2020). Contribution of Leuconostocaceae to CO2-mediated bloater defect in cucumber fermentation. Food microbiology, 91, 103536.
 - Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., ... & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 70(4), 2782-2858.
 - Zuniga, M., Pardo, I., & Ferrer, S. (1993). An improved medium for distinguishing between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 18(1), 37-42

Références numériques

Orchidali (2020). https://science-nutrition.com/2020/09/24/changement-de-taxonomie-du-genre-lactobacillus/ (Consulter le 19 juin 2023).

Annexes

Annexe I:

Tableau I : Bactéries lactiques (LAB) et leurs caractéristiques les plus courantes (**Ağagündüz** et *al.*, 2021).

LAB	Family	Genus	Gram -/+	Growth Conditions		Type of Lactic Acid	
				Heat- Stable (45 °C)	Salt- Tolerant (18% NaCl)	Acid- Resistant (pH 4.4)	
Dairy	_		_	_	_	_	
	Lactobacillaceae	Lactobacillus	+	Changeable	-	Changeable	D, L, DL
		Pediococcus	+	Changeable	-	+	L, DL
	Streptococcaceae	Streptococcus	+	Changeable	-	-	L
		Lactococcus	+	-	-	Changeable	L
	Propionibacteriaceae	Propionibacterium	+	-	-	-	
	Enterococcaceae	Enterococcus	+	+	-	+	L
	Leuconostocaecae	Leuconostoc	+	-	-	Changeable	D
Nondairy			_	_	_	_	
	Aerococcaceae	Aerococcus	+	-	-	-	L
	Carnobacteriaceae	Carnobacterium	+	<u>-</u>	-	NA	L
	Enterococcaceae	Tetragenococcus	+	-	+	Changeable	L
	Enterococcaceae	Vagococcus	+	-	-	NA	L
		Fructobacillus	+	NA	-	NA	D
	Leuconostocaecae	Oenococcus	+	-	-	Changeable	D
		Weissella	+	-	-	Changeable	D, L

NA: Not available, D: Dextrorotary; optical rotation to the right (+), L: Levorotary; optical rotation to the left (-).

Annexes

Tableau II : Bactéries lactiques homofermentaires et hétérofermentaires (abdel-Rahman et al., 2019).

Caractérisation	LAB Homofermentaire	LAB Hétérofermentaire
Produits	Acide lactique	Acide lactique, éthanol, diacétyle, formate, acétoïne ou acide acétique, et dioxyde de carbone
Voies métaboliques	 Voie d'Embden-Meyerhof pour l'hexose. Voie des pentoses phosphates pour le pentose. 	 Voie du phosphogluconate et de la phosphokétolase pour l'hexose. Voie de la phosphokétolase pour le pentose.
Rendement théorique de l'acide lactique par rapport aux sucres.	- Hexose: 1,0 g/g (2,0 mol/mol). - Pentose : 1,0 g/g (1,67 mol/mol)	- Hexose: 0.5 g/g (1.0 mol/mol). - Pentose: 0.6 g/g (1.0 mol/mol)
Genre	Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Enterococcus, certains Lactobacillus Leuconostoc,	Leuconostoc, Oenococcus, certaines espèces de Lactobacillus
Disponibilité pour la production commerciale d'acide lactique	Disponible en raison de sa grande sélectivité.	Non disponible en raison de la formation élevée de sous-produits.

Annexe II



Figure 01 : Préparation du milieu MRS.

Digestat enzymatique de caséine	10,0 g
Extrait de viande	10,0 g
Extrait de levure	4,0 g
Citrate de triammonium [(NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇]	2,0 g
Acétate de sodium (CH ₃ COONa)	5,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ -7H ₂ O)	0,2 9
Sulfate de manganèse tétrahydraté (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	0,05 g
Monohydrogénophosphate de potassium (K2HPO4)	2,0 g
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20,0 g
Monooléate de polyoxyéthylènesorbitane (Tween 80)	1,08 g
Agar-agar	12 gà 18 g1)
Eau	1 000 ml
1) Selon le pouvoir gétifiant de l'agar-agar.	1

Figure 02 : La composition du milieu MRS (ISO 15214 :1998(F))



Figure 03 : Incubation des boites de Pétri à l'étuve.



Figure 04 : Comptage des colonies sur boite Pétri J7

Résumé: Cette étude évalue la post-acidification et la flore lactique d'un lait fermenté industriel « Lben ». Pendant 38 jours, les caractéristiques physico-chimiques (pH, acidité, matière grasse, matière sèche) et microbiologiques du Lben conditionné dans des sachets issus de la même production ont été suivies.

Les résultats physico-chimiques ont montré une diminution graduelle du pH (4,63-4,47), indiquant une augmentation progressive de l'acidité pendant la fermentation (67,5°D-69,3°D).

Les analyses microbiologiques ont révélé la présence de la flore lactique, dont la quantité a diminué au fil du temps (1,5 x 10⁸- 9,99x10⁶). Les analyses sensorielles ont montré que le Lben a évolué d'une saveur légèrement acide vers une saveur équilibrée et douce, avec une texture plus crémeuse et ferme. Ces résultats contribuent à une meilleure compréhension de la fermentation lactique du Lben et peuvent guider l'industrie laitière dans l'amélioration de la qualité de ce produit industriel.

Mots clés : Lait fermenté, Lben, bactéries lactique, fermentation lactique, acidification, flore lactique.

Abstract: This study evaluates the post-acidification and lactic flora of an industrial fermented milk called "Lben". Over a period of 38 days, the physicochemical characteristics (pH, acidity, fat content, dry matter) and microbiological properties of Lben packaged in sachets from the same production batch were monitored.

The physicochemical results showed a gradual decrease in pH (from 4.63 to 4.47), indicating a progressive increase in acidity during fermentation (from 67.5°D to 69.3°D).

Microbiological analyses revealed the presence of lactic flora, the quantity of which decreased over time (from 1.5×10^8 to 9.99×10^6). Sensory analyses showed that Lben evolved from a slightly acidic flavor to a balanced and sweet flavor, with a creamier and firmer texture.

These results contribute to a better understanding of the lactic fermentation of Lben and can guide the dairy industry in improving the quality of this industrial product.

Keywords: Fermented milk, Lben, lactic acid bacteria, lactic fermentation, acidification, lactic flora.