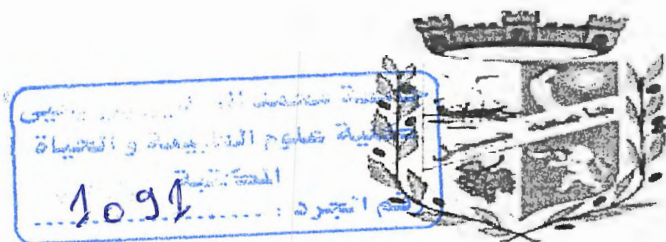


*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur*  
*et de la Recherche Scientifique*



CG. 06/07

**Université de Jijel**  
**Faculté des sciences**  
**Département de biologie cellulaire et moléculaire**  
**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention Du Diplôme d'Ingénieur**  
**d'état En Biologie**

*Option : Contrôle de qualité et analyses*

*Thème*

*Contrôle de la qualité d'une huile d'olive*  
*vierge, valorisation et exploration de ses*  
*constituants dans l'industrie fromagère*

Membres de jury :

Présidente : Mme BENHAMADA W.

Examineur : Mr HENDIS M.S.

Encadreur : Mr IDOUI T.

Réalisé par :

☞ AOUKA Sarah

☞ CHINE Djaouida

Promotion : 2007

# Remerciements

*Nous remercions DIEU le tout puissant qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour accomplir ce modeste travail. Nous tenons à formuler notre gratitude et notre profonde reconnaissance*

*A l'égard de notre promoteur Mr Idoui T qui nous a toujours accueilli avec bienveillance qui n'a ménagé ni son temps ni ses efforts pour nous guider.*

*Nos remerciements aux membres de jury qui ont accepté de juger notre travail.*

*Nos remerciements pour M<sup>me</sup> Nadjia Chine, pour M<sup>lle</sup> Saâdi Saida, et pour les personnels du laboratoire de Biochimie et microbiologie de l'université de Jijel pour leur aide précieuse.*

*Enfin nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les enseignants*

*qui ont contribué de près ou de loin pour le bon déroulement de ce travail.*

# *Sommaire*

## Sommaire

<b>Introduction:</b> .....	01
----------------------------	----

### I. Synthèse bibliographique

#### Chapitre I: Huile d'olive vierge

<b>I.1. Définitions</b> .....	02
I.1.1. L'huile d'olive.....	02
I.1.2. L'huile d'olive vierge .....	02
I.2. Critères de qualité de l'huile d'olive vierge .....	02
I.3. Classement de l'huile d'olive vierge .....	02
I.3.1. Huile d'olives vierge propre à la consommation en état .....	02
I.3.2. Huile d'olives vierge non propres à la consommation en état .....	03
I.4. Composition biochimique de l'huile d'olive vierge .....	03
I.4.1. Fraction saponifiable. ....	03
I.4.2. Fraction insaponifiable .....	04
I.5. Technologie de fabrication de l'huile d'olive vierge.....	05
I.5.1. La cueillette des olives: .....	05
I.5.2. Le stockage des olives .....	05
I.5.3. Procédé technologique d'extraction.....	05
I.5.3.1. préparation des olives à la pate .....	05
I.5.3.2. Préparation de la pâte .....	06
I.5.3.3. Extraction de l'huile d'olive vierge.....	07
I.5.3.4. Conditionnement et stockage .....	08
I.6. Altération de l'huile d'olive vierge.....	08
I.6.1. Altération biologique.....	08
I.6.2. Altération chimique .....	08
I.7. Facteurs influençant la qualité d'huile d'olive .....	09
I.7.1. Influence de l'état de la matière première .....	09
I.7.2. Influence de la technologie d'extraction.....	09
I.7.3. Autres facteurs .....	10
I.8. Evaluation organoleptique .....	10
I.8.1. Attributs négatifs.....	10
I.8.1. Attributs positifs .....	11
I.8.3. Autres attributs négatifs .....	11

#### Chapitre II: Les bactéries lactiques

II.1. Définition .....	12
II.2. Origine et propriétés générales .....	12
II.3. Classification.....	12
II.4. Rôle et intérêt des bactéries lactiques en industries agroalimentaires .....	13
II.5. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	14
II.5.1. Aptitude acidifiante.....	14
II.5.2. Aptitude aromatisante .....	14
II.5.3. Aptitude texturante.....	14

II.5.4. Aptitude protéolytique.....	14
II.5.5. Aptitude antagoniste.....	15
II.6. Levains lactiques .....	15
II.6.1. Définitions .....	15
II.6.2. Composition des ferments mésophiles.....	15
II.6.3. Types des levains mésophiles.....	16
II.6.3.1. Levains lixtes à variétés multiples .....	16
II.6.3.2. Levains mistes à souches multiples définies .....	16
II.6.3.3. Levains des souches pures .....	16
II.6.4. Préparation des levains mésophiles .....	16
II.2.5. Formes disponibles des levains mésophiles .....	16
II.2.6. Critères de choix .....	17

### **Chapitre III: Fromage frais**

III.1. Définitions .....	18
III.2. Critères du fromage frais.....	18
III.3. Types du fromage frais.....	18
III.4. Procédé de fabrication du fromage frais .....	19
III.4.1. Préparation du lait .....	19
III.4.2. Coagulation du lait .....	20
III.4.3. Egouttage .....	20
III.5. Défauts de fabrication du fromage frais.....	21
III.5.1. Défauts liés à l'égouttage et à la coagulation .....	21
III.5.2. Défauts de texture.....	21
III.5.3. Défauts de l'aspect.....	21
III.5.4. Défaut de saveur et d'arômes .....	22
III.6. Contrôle de la qualité du fromage frais.....	22
III.6.1. Contrôle physicochimique .....	22
III.6.2. Contrôle microbiologique .....	22

### **II. Matériel et Méthodes**

<b>II.1. Matériel .....</b>	<b>24</b>
II.1.1. Matériel biologique .....	24
II.1.2. Produits chimiques et réactifs .....	24
II.1.3. Milieux de culture .....	25
II.1.4. Appareillage .....	25
<b>II.2 Méthodes .....</b>	<b>26</b>
II.2.1 Contrôle de la qualité d'une huile d'olive vierge .....	26
II.2.1.1 Contrôle physicochimique.....	27
II.2.1.1.1. Critères chimiques.....	27
a - Acidité et indice d'acide .....	27

b - pH .....	28
c - Indice de peroxyde .....	28
d - Indice de saponification .....	28
e - Indice d'iode .....	29
f - Recherche du glycérol .....	30
II.2.1.1.2. Critères physiques .....	30
a - Teneur en eau et en matières volatiles .....	30
b - Teneur en impuretés insolubles .....	30
c - Densité .....	31
d - Point de fusion et de solidification .....	31
e - Point de fumée .....	32
II.2.1.1.3. Analyse de la composition .....	32
a- Dosage des composés phénoliques .....	32
b- Détermination de la composition en acides gras par GC-MS .....	33
II.2.1.2. Contrôle microbiologique .....	33
a- Préparation des dilutions décimales .....	34
b- Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile .....	34
c- Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants .....	34
d- Dénombrement des levures et moisissures .....	35
e- Dénombrement de la flore psychrophile .....	35
f- Dénombrement de la flore lipolytique .....	35
g- Dénombrement de la flore lactique .....	35
II.2.1.3. Contrôle organoleptique .....	36
a- Analyse visuelle .....	36
b- Analyse olfactive .....	36
c- Analyse gustative .....	36
II.2.2. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de l'huile d'olive vierge .....	37
II.2.2.1. Préparation des dilutions .....	37
II.2.2.2. Isolement et purification .....	37
II.2.2.3. Techniques d'identification .....	38
a- Examen microscopique .....	38
b- Tests physiologiques et biochimiques .....	38
c- Identification par logiciel .....	41
II.2.3 Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	42
II.2.3.1 Aptitude acidifiante .....	42
II.2.3.2 activité protéolytique .....	42
II.2.3.3 Pouvoir texturant .....	43
II.2.3.4 Pouvoir antagonistique .....	43
II.2.4 Reconstitution des levains .....	43
II.2.4.1 Aptitude acidifiante .....	44
II.2.4.2 Aptitude texturante .....	44

II.2.4.3 Aptitude aromatisante .....	44
II.2.5 Application en industrie fromagère .....	46
II.2.5.1 Fabrication d'un fromage frais .....	46
a- Préparation de la matière première.....	46
b- Maturation-caillage .....	46
c- Obtention du coagulum.....	47
d- Egouttage .....	47
d- préparation finale et conditionnement.....	48
e- Stockage et conservation .....	48
g- calcul du rendement .....	48
II.2.5.2 Contrôle de la qualité .....	48
a. Contrôle au cours de la fabrication.....	48
b. Contrôle au cours du stockage .....	49
b <sub>1</sub> . Contrôle physicochimique .....	50
b <sub>2</sub> . Contrôle microbiologique .....	50
b <sub>3</sub> . Contrôle organoleptique .....	51

### **III. Résultats et discussion**

III.1 Contrôle de la qualité d'une huile d'olive vierge .....	52
III.1.1 Contrôle physicochimique .....	52
III.1.1.1. pH, acidité et indice d'acide.....	52
III.1.1.2. Indice de peroxyde.....	53
III.1.1.3. Indice de saponification .....	54
III.1.1.4. Indice d'iode.....	55
III.1.1.5. Recherche du glycérol.....	55
III.1.1.6. Teneur en eau et en impuretés insolubles .....	56
III.1.1.7. Densité, point de fusion et de solidification et point de fumée.....	57
III.1.2. Analyse de la composition .....	58
III.1.2.1. Teneur en polyphénols .....	58
III.1.2.2. Composition en acides gras.....	61
III.1.2 Contrôle microbiologique de l'huile d'olive vierge .....	64
III.1.3 Contrôle organoleptique de l'huile d'olive vierge .....	66
III.2. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de l'huile d'olive .....	70
III.2.1 Examen macroscopique et microscopique.....	70
III.2.2. Tests physiologiques et biochimiques .....	71
III.2.3. Identification des souches par logiciel API LAB .....	74
III.3. Etude de quelques aptitudes technologiques .....	78
III.3.1 Pouvoir acidifiant .....	78
III.3.2. Pouvoir protéolytique .....	82

III.3.3. Pouvoir texturant .....	83
III.3.4. Pouvoir antagonistique .....	84
III.4. Reconstitution des levains .....	85
III.4.1 Aptitude acidifiante .....	85
III.4.2. Aptitude texturante .....	86
III.4.3. Aptitude aromatisante .....	86
III.5. Application en industrie fromagère.....	87
III.5.1. Fabrication d'un fromage frais .....	87
III.5.2. Contrôle de la qualité.....	88
III.5.2.1. Contrôle au cours de la fabrication.....	88
III.5.2.2. Contrôle au cours du stockage .....	90
a- Contrôle physicochimique .....	90
b- Contrôle microbiologique.....	92
c- Contrôle organoleptique .....	94
<b>Conclusion .....</b>	<b>96</b>

## **Annexe**

## **Bibliographie**



## Liste des abréviations :

A° : acidité ;

ADH : Arginine dihydrolase ;

Ba : Bacille ;

BM : Bleu de méthylène ;

°C : Degrés Celsius ;

Co : Cocci ;

D : Densité ;

°D : degrés dornic ;

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (en anglais, Food and Agriculture Organization) ;

g : gramme ;

GC-MS : Gas Chromatographic – mass spectroscopic ;

h : heure ;

H : Huile ;

HC : Huile d'olive vierge prélevée de la région Cinquième Poste ;

HT : Huile d'olive vierge prélevée de la région Tassoust ;

HTH : Huile d'olive vierge prélevée de la région Taher ;

HOV : huile d'olive vierge ;

I.a : Indice d'acide ;

I.i : Indice d'iode ;

I.p : Indice peroxyde ;

I.s : Indice de saponification ;

Lb : *Lactobacillus* ;

Lc : *Lactococcus*

Leu : *Leuconostoc* ;

mm : millimètre

M : Masse ;

MF : Masse du fromage ;

ML : Masse du lait ;

M.I<sup>aire</sup> : Matière première ;

MM : Matière minérale ;

MO : Matière organique ;

MS : Matière sèche ;

P : Prise d'essai ;

ppm : partie par million ;

t : temps ;

PF : Produit fini ;

PP : Polyphénols ;

R : Rendement ;

t : temps ;

UFC : Unité formant colonie ;

V : Volume ;

W : teneur en eau et en matières volatiles.

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition biochimique de l'huile d'olive.....	3
Tableau 2 : Valeur du pH, acidité et indice d'acide des échantillons étudiés .....	52
Tableau 3 : Valeurs de l'indice de peroxyde des échantillons étudiés. ....	53
Tableau 4 : Indice de saponification des huiles étudiées.....	54
Tableau 5 : Valeurs de l'indice d'iode des huiles étudiées.....	55
Tableau 6 : Teneur en eau et en impuretés des échantillons.....	56
Tableau 7 : Paramètres physiques des huiles étudiées.....	57
Tableau 8 : Résultats du dosage colorimétrique des polyphénols.....	59
Tableau 9 : Comparaison des valeurs de l' $I_p$ , $I_a$ et de la teneur en Polyphénols.....	60
Tableau 10 : Qualité microbiologiques des huiles d'olives étudiées.....	64
Tableau 11: Résultats donnés par le dégustateur 1.....	66
Tableau 12: Résultats donnés par le dégustateur 2 .....	67
Tableau 13: Résultats donnés par le dégustateur 3.....	67
Tableau 14: Résultats donnés par le dégustateur 4 .....	68
Tableau 15: Résultats donnés par le dégustateur 5.....	68
Tableau 16 : Profil biochimique des souches isolées.....	72
Tableau 17 : Profil fermentaire des sucres.....	73
Tableau 18 : Résultats de l'identification par le logiciel.....	74
Tableau 19: Répartition de la collection lactique selon les espèces identifiées.....	77
Tableau 20: Activité protéolytique des souches étudiées sur milieu YMA.....	82

Tableau 21: Résultats du test de l'aptitude texturante.....	83
Tableau 22: Résultats des interactions entre les souches étudiées.....	84
Tableau 23 : Evolution du pH et de l'acidité au cours de la fabrication.....	89
Tableau 24: Evolution de la teneur en MS, MM et MO au cours de la Fabrication.....	89
Tableau 25 : Evolution du pH et de l'acidité pendant le stockage.....	91
Tableau 26: Résultats de la détermination de la MS, MM, MO durant le Stockage.....	92
Tableau 27 : résultats de l'analyse microbiologiques des fromages frais étudiés pendant 15 jours de stockage.....	93
Tableau 28 : Résultats de l'analyse organoleptique des fromages étudiés.....	94

## Liste des figures

Figure 1 : Extraction liquide/liquide des aromes.....	45
Figure 2 : Comparaison de la teneur en polyphénols, l'Ip et l'Ia.....	60
Figure 3 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région Taher.....	62
Figure 4 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région Tassoust....	62
Figure 5 : Chromatogramme de l'huile de la région Cinquième Poste.....	63
Figure 6 : Répartition des souches de notre collection.....	77
Figure 7 : Evolution de l'acidité des souches isolées de l'huile codée C pendant 24h.....	79
Figure 8 : Evolution de l'acidité des souches isolées de l'huile codée T pendant 24h .....	79
Figure 9 : Evolution de l'acidité des souches isolées de l'huile codée TH Pendant 24h.....	79
Figure 10 : Evolution du pH des souches isolées de l'huile codée C pendant 24h.....	80
Figure 11 : Evolution du pH des souches isolées de l'huile codée T pendant 24h.....	80
Figure 12 : Evolution du pH des souches isolées de l'huile codée TH pendant 24h.....	80
Figure 13 : Cinétique d'acidification du ferment étudié.....	85
Figure 14 : Aromatogramme du ferment étudié.....	86
Figure 15 : Evolution de l'acidité et du pH du fromage au cours de la Fabrication.....	89
Figure 16 : Evolution de l'acidité et du pH du fromage au cours du Stockage.....	91
Figure 17 : Evolution de la MS, MM et MO du fromage frais au cours du stockage.....	92

## Liste des photos :

Photo 1 : Mise en évidence du glycérol.....	1
Photo 2 : Mise en évidence de l'activité lipolytique.....	65
Photo 3 :Aspect visuel des huiles étudiées.....	69
Photo 4 : Fromage frais emballé. ....	87

# *Introduction*

## Introduction

L'oléiculture représente une des plus anciennes activités dans le bassin méditerranéen (Bressan *et al.*, 2004), pour ces pays, la production de ces huiles d'olives est une fortune économique transmise sur plusieurs générations (Uccella, 2001).

Parmi ces pays, l'Algérie est entraînée d'acquérir une place de choix dans le domaine oléicole, cependant, le conseil oléicole international estime que l'Algérie n'exporte pas d'huile d'olive, faisant que la totalité de sa production est absorbée par le marché intérieur (Baccioni, 2002). L'huile d'olive occupe donc une place particulière en raison de son image, son prix et sa consommation notamment à l'état vierge (Karleskind *et al.*, 1992), ces caractéristiques sont responsables du succès commercial du produit, surtout que le consommateur moderne est plus éclairci sur la nature de son alimentation, aujourd'hui, l'un de ses besoins en matière de qualité s'inscrit dans une vague de retour vers une alimentation naturelle (Ghattas, 2004).

Actuellement, avec la promotion des vertus bénéfiques de l'huile d'olive pour la santé humaine, sa demande ne cesse d'augmenter et par conséquent la production coûte constamment au dépens de l'environnement (Deiana *et al.*, 2002) vu l'énormes quantités des sous produits qui se génèrent (Fiorentino *et al.*, 2003). Une valorisation de ces sous produits s'avère plus judicieuse et porte les meilleures solutions pour s'opposer à des problèmes d'environnement ou d'économie ; cependant, la valorisation peut avoir lieu également pour des buts technologiques, en fait, plusieurs travaux ont pu prouver la présence comme flore initiale dans l'huile d'olive, les bactéries lactiques ; d'autres part, la caractérisation de ces bactéries allait développer et apporter son appui au technologie pour mettre à profit les connaissances nouvelles au fur et à mesure de leurs acquisitions en vue d'améliorer la qualité et la régularité des produits fermentés (Poullain, 1994), c'est dans le domaine laitier, plus précis, en fromagerie que des principaux progrès en matières de ferments ont été réalisés.

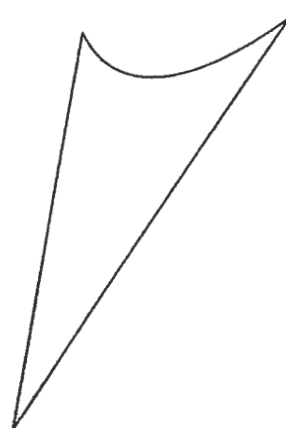
Le présent travail a pour objectif de contribuer à l'apport de nouvelles données sur l'huile d'olive vierge algérienne, sa qualité et la possibilité d'exploiter sa flore dans le domaine agroindustriel.

Dans la première partie, une synthèse bibliographique portera sur l'huile d'olive, les bactéries lactiques et les fromages frais. Dans la deuxième partie expérimentale, on va d'abord contrôler la qualité des échantillons de l'huile d'olive issus de trois régions de la wilaya de Jijel, déterminer la composition de cette huile puis mettre en place une collection de bactéries lactiques à partir de cette niche écologique pour en finir à une application en industrie fromagère à l'échelle de laboratoire.

*Synthèse  
bibliographique*



# *Chapitre I*



## I. Huile d'olive vierge

### I.1. Définitions :

Chaque huile a sa propre définition

**I.1.1. L'huile d'olive:** C'est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier, *Olea europaea* appartient à la famille des oléacées, à l'exclusion des huiles obtenues par solvants ou par des procédés de re-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2003).

**I.1.2. L'huile d'olive vierge:** C'est l'huile obtenue à partir du fruit de l'olivier, uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (C.O.I., 2003).

Tout au long du processus d'élaboration, la température ne doit pas dépasser 50°C. Tout autre traitement (neutralisation, décoloration ou injection de vapeur) est interdit. L'huile d'olive vierge est donc le jus huileux d'un fruit: l'olive; c'est la seule huile qui peut être consommée directement telle qu'elle sort du fruit (Lushetti, 2000).

### I.2. Critères de qualité de l'huile d'olive vierge:

Depuis 1991, le règlement 2568/91 de la Communauté Européenne (CE) intègre l'analyse organoleptique aux caractéristiques des huiles d'olives vierges (HOV) au même titre que les caractéristiques physicochimiques. Pour chacune des catégories des HOV, il existe une note organoleptique minimale que doit atteindre l'échantillon concerné pour appartenir à telle ou telle catégorie (Pinatel *et al.*, 2004).

De ce fait, la classification des huiles d'olives vierges repose sur les critères de qualité, sur le plan physicochimiques, ils sont représentés par :

- L'acidité libre ;
- L'indice de peroxyde ;
- Absorbance dans l'UV à 270 nm et le rapport E 232 / E 270.

L'autre série de critères de qualité concerne les caractéristiques organoleptiques : Odeur, saveur, couleur et aspect.

### I.3. Classement des huiles d'olive vierges:

Les huiles d'olives font l'objet d'une classification distincte dans laquelle figurent des précisions sur les méthodes de production et sur des éléments essentiels tels que les degrés d'acidité, classification utilisées à des fins réglementaires (C.E., 2002).

Généralement, cette classification s'organise comme suit:

#### I.3.1. Huiles d'olives vierges propre à la consommation en état :

Elles comprennent les classes suivantes :

**I.3.1.1. Huile d'olive vierge extra:** Huile d'olive de catégorie supérieure dont l'acidité libre exprimé en acide oléique est au maximum de 0.8 g/100g, et dont la saveur et l'odeur sont absolument irréprochables ; fruitée.

**I.3.1.2. Huile d'olive vierge fine:** La saveur et l'odeur sont irréprochables, fruitées. L'acidité exprimée en acide oléique est au maximum de 2% (2g d'acide oléique pour 100g d'huile).

**I.3.1.3. Huile d'olive vierge courante:** C'est l'huile d'olive vierge de bonne saveur et d'odeur acceptable et dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3.3g pour 100g d'huile.

### **I.3.2. Huile d'olive vierge non propre à la consommation en état:**

Dénommée huile d'olive vierge **lampante**, c'est l'huile d'olive vierge dont l'acidité exprimée en acide oléique est supérieure à 3.3 % et /ou dont les caractéristiques organoleptiques présentent des défauts. Elle n'est pas apte à la consommation directe et est destinée aux industries de raffinage ou à des usages techniques.

### **I.4. Composition biochimique de l'huile d'olive:**

L'huile d'olive est un mélange complexe des substances naturelles que l'on a pour habitude de les classer en deux grandes familles (Ollivier et al., 2000) :

- Les substances saponifiables;
- Les substances insaponifiables.

**I.4.1. La fraction saponifiable:** Elle représente 99% de l'huile; c'est cette fraction qui confère à l'huile la plupart de ses caractéristiques physiques, chimiques et métaboliques (Jacotot et Richard, 1989 ; Karleskind et al., 1992). Elle est constituée généralement de 97 à 99.5 % de triglycérides et de 1 à 2 % d'acides gras libres, ainsi que des composés mineurs tels que des cires, des stérols libres ou estérifiés, des glycérides partiels et des phospholipides (Olivier et al., 2000).

La composition en acides gras de l'huile d'olive déterminée par la CPG et fixée par le COI est représentée dans le tableau suivant (COI / T.15 / NC n°3, 2003).

**Tableau 1: Composition biochimique de l'huile d'olive**

<b>Acide gras</b>	<b>% (m /m) d'esters méthyliques</b>
Acide Myristique (C14:0)	≤0.05
Acide Palmitique (C 16: 0)	7.5 – 20
Acide Palmitoléique (C16:1)	0.3 – 3.5
Acide Heptadécanoïque (C17:0)	≤0.3
Acide Heptadécénoïque (C17:1)	≤0.3
Acide Stéarique (C18:0)	0.5 – 5
Acide Oléique (C18:1)	55 – 83
Acide Linoléique (C18:2)	3.5 – 21
Acide Linoléique (C18:3)	≤0.9
Acide Arachidique (C20:0)	≤0.6
Acide Gadoléique (C20:1)	≤0.4
Acide Béhénique (C22:0)	≤0.2
Acide Lignocérique (C24:0)	≤0.2

**I.4.2. Fraction insaponifiable:** La teneur en insaponifiable, la nature et la teneur en ses composants ont également été très étudiées et discutées. Cela s'explique en raison de leur importance au plan de l'authenticité de l'huile vierge et des caractères sensoriels de cette dernière.

Elle représente 0.4 à 0.3 % pour l'huile d'olive vierge et comprend de nombreux composés mineurs à fonction diverse (Ollivier et al., 2000). Parmi les composés, on peut citer:

**a. Les composés phénoliques:** Elles sont localisées dans la pulpe d'olive, lors du processus d'élaboration de l'huile, les polyphénols sont hydrolysés en Orthodiphénols, composés dotés d'une activité antioxydante supérieure aux polyphénols (Roncero, 1978).

La teneur en polyphénol de l'huile d'olive vierge varie de 25 à 500 mg/kg d'huile exprimée en acide caféique, les plus importants sont: Tyrosol et 3,4-dihydroxytyrosol éthanol (Kiritsakis, 1993). Par ailleurs, des études ont montré la présence dans l'huile d'olive vierge des composés phénoliques plus complexes, c'est le cas des lignines et flavonoïdes (Owen et al., 2000).

**b. Les pigments colorés:** L'huile d'olive vierge contient deux types de pigments, les caroténoïdes et les chlorophylles (Fakourelis, 1987). Les chlorophylles ou phéophytines sont essentiellement responsables de la couleur caractéristique de l'huile d'olive vierge (Karleskind et al., 1992). Toutefois, cette teneur en chlorophylle diminue au fur et à mesure de la maturation des fruits (Ryan et al., 1998).

Les caroténoïdes sont responsables d'activité oxydative de l'huile d'olive en raison de leur nature antioxydant dans l'obscurité et prooxydante à la lumière (Ryan et al., 1998).

**c. Les composés aromatiques:** L'huile d'olive vierge est le siège des composés volatils qui sont présents en très faibles concentrations mais qui sont responsables de ses spécificités organoleptiques (Ollivier et al., 2005).

Dans ce sens, plus de 150 composés ont été identifiés, et sont présents à une teneur totale < 2 mg/kg dont les principaux sont: Hexanol, trans-2-hexéanal, 1-hexanol à côté des aldéhydes, des cétones, des hydrocarbures et des esters (Ollivier et al., 2000).

La fraction insaponifiable de l'huile d'olive vierge contient également des hydrocarbures insaturés dont le squalène, des tocophérols, des alcools et des stérols.

Enfin, comme tout corps gras, l'huile d'olive contient naturellement des phospholipides, mais moins que dans les huiles de graines, des cires et des produits d'altérations: acides gras libres, glycérides partiels, acides oxydés,... (Karleskind et al., 1992).

## **I.5. Technologie de fabrication de l'huile d'olive vierge:**

L'huile d'olive vierge est le résultat d'une série d'opérations, d'une chaîne de qualité au cours de laquelle on prête une attention particulière à tous les détails intermédiaires: une culture soignée de l'olivier sur le terrain, une technique oléicole précise au moulin et un stockage correct permettent de tirer parti au mieux de ce cadeau de la nature (Lushetti, 2000).

**I.5.1. La cueillette des olives:** La date optimale de récolte des olives est basée sur la concentration maximale des polyphénols, au stade semi noir revêt un intérêt primordial pour l'obtention de huile d'olive de bonne qualité, étant donné que ces polyphénols interviennent comme antioxydants naturels et confèrent à l'huile ses propriétés organoleptiques (Chimi, 2001).

Pour cela, la récolte débute au début de décembre pour s'achever en février ou parfois mars selon les régions (Moussouni, 2002).

D'une façon générale, les méthodes de récolte sont traditionnelles, elles se pratiquent généralement à l'aide de bâches de récupération, par le gaulage ou on les ramassent par terre lorsqu'elles sont tombées (Chimi, 2001).

En effet, les olives ramassées par terre ont une acidité et un indice de peroxydes beaucoup plus élevés (Barnouin et Laurent, 2000).

**I.5.2. Stockage des olives:** Lorsque les olives sont cueillies dans des bonnes conditions, les efforts ne doivent pas s'arrêter puisque le stockage peut être à l'origine du chôme ou du moisi. Il est important de conserver les olives le moins longtemps possible que ce soit chez l'oléiculteur ou chez le moulinier et d'éviter le stockage en sac ou en gros tas qui augmente l'acidité et favorise la fermentation (défaut de chôme) (Barnouin et Laurent, 2000).

En effet, le stockage des olives, limité de 1 à 2 journées n'est à l'origine que d'une légère détérioration de la qualité de l'huile (Bouskou, 1996)

**I.5.3. Procédé technologique d'extraction de huile d'olive:** Environ 20 à 25 % d'huile est présente dans les cellules du mésocarpe de la drupe; pour l'extraction de l'huile à l'aide de procédés mécaniques; il est nécessaire de la libérer des tissus de manière à permettre aux gouttelettes de se réunir en des gouttes plus grosses jusqu'à former des "poches" susceptibles de se séparer dans une phase liquide continue (Di-Giovacchino, 1991).

### **I.5.3.1. Préparation des olives pour l'extraction:**

**a. L'effeuillage:** La présence des impuretés est nuisible du point de vue rendement. Ainsi, on pratique l'effeuillage, opération nécessaire pour éviter non seulement une charge importante des impuretés mais également une coloration trop verdâtre de l'huile, se traduisant par un excès d'amertume et par une moindre aptitude à la conservation de l'huile. A défaut de disposer d'un système mécanique, cette opération peut être effectuée manuellement (Chimi, 2006).

**b. Lavage et nettoyage:** Ces opérations ont pour but de débarrasser les fruits de toutes leurs impuretés, qu'elles soient d'origine végétale comme les feuilles et les brindilles ou minérale, et d'autres matières solides (la terre) qui peuvent provoquer le dérèglement de la machine ; elles représentent un moyen tout aussi utile qu'efficace pour contribuer à l'élimination totale des produits phytosanitaires éventuellement présents sur les drupes (Di-Giovacchino, 1999).

#### I.5.3.2. Préparation de la pâte:

**a. Broyage:** Le broyage, opération plus importante lors de l'extraction de l'huile d'olive vierge, permet de (Chimi, 2001) :

- Récupérer l'huile se trouvant dans la pulpe des olives;
- Dilacérer les cellules et libérer la plus grande quantité de l'huile existante dans l'olive;
- Rapprocher les petites gouttelettes d'huile pour former de grosses gouttelettes.

Dans les moulins travaillant avec le système de la pression, la mouture est effectuée par des broyeurs à meules pendant 20 à 30 minutes, assurant ainsi une meilleure préparation de la pâte avec de bons rendements à l'extraction (Di-Giovacchino, 1996), mais qui donne des huiles amères et piquantes dues à la teneur élevée en substances phénoliques (Amirante et al., 2002).

Par contre, les huileries utilisant le système de centrifugation, la mouture des olives est réalisée à l'aide de broyeurs métalliques qui se caractérisent par une capacité de travail très élevée et, grâce à leur action, ils réalisent la mouture des olives d'une façon plus violente et provoque une rupture plus poussée des cellules contenant l'huile, tout en assurant un bon rendement à l'extraction (Di-Giovacchino, 1996), en effet, ce système de mouture donne des huiles plutôt douces (Amirante et al., 2002).

**b. Malaxage:** cette opération complète l'effet de cisaillement du broyage et réunit en une seule phase continue les petites gouttes d'huiles dispersées dans la pâte, ce qui facilite son extraction postérieure (Lushetti, 2000).

Les principaux facteurs dont il y a lieu de tenir compte pour cette opération sont: la durée, la température et les matériaux de revêtement des parois intérieures des malaxeurs qui peuvent avoir une incidence sur le degré d'oxydation (Michelakis, 1992). Ces facteurs n'influencent pas les critères de qualité de l'huile mais jouent un rôle sur leur teneur en polyphénols. En effet, celui ci diminue au fur et à mesure que le temps de malaxage augmente. Le malaxage permet toutefois d'obtenir des arômes plus intenses (Barnouin et Laurent, 2000).

### I.5.3.3. Extraction de l'huile:

Les systèmes d'extraction sont multiples et les plus employés sont la pression et la centrifugation, cependant il existe un 3<sup>ème</sup> type, la percolation (Barnouin et Laurent, 2000).

**a. Extraction par le système classique (pression):** La pression est le procédé le plus ancien d'extraction. La séparation de l'huile par ce système intervient d'une façon non dynamique (Montedoro, 1989).

Elle est basée sur le fait que dans des conditions appropriées et sous l'action de la pression, la pâte d'olive dégage le moût huileux ( phase liquide); ce dernier se sépare de la phase solide également par suite de l'action de drainage exercée par les courtins (Di-Giovacchino, 1991).

Les types de presse ont évolué avec le temps jusqu'aux presses hydrauliques actuelles. Dans ce type d'extraction, les contenus qui préexistaient dans le fruit demeurent intacts dans les huiles extraites. Ces huiles sont donc généralement plus "franches" et "typiques" (Montedoro, 1989).

**b. Extraction par centrifugation:** Ce système est caractérisé par l'apparition d'une ample interface eau -huile de courte durée et une température et fluidité élevées de la pâte en raison de l'ajout nécessaire d'eau chaude. Ce qui provoque un échange rapide entre les différents constituants hydrophiles et lipophiles ce qui fait que l'huile est certainement plus pauvre en mucilage, mais elle l'est également en couleur et en constituants phénoliques et aromatiques. De telles huiles ont donc tendance à être plus "plates" (Montedoro, 1989). La centrifugation est réalisée dans une centrifugeuse horizontale, ou décanteur, qui peut être:

A trois phases: le grignon, les margines et l'huile

A deux phases: grignons humides et huile (Lushetti, 2000).

Au nombre des causes susceptibles d'avoir une influence sur le contenu en substances phénoliques des huiles, il y a lieu de citer la séparation de l'huile du moût huileux par centrifugation (Solinas et al., 1978).

**c. La séparation par tension superficielle ( percolation):** Elle se base sur le fait que l'huile a une tension superficielle inférieure à celle de l'eau de végétation, de ce fait, ce système est caractérisé par une interface eau -huile remarquable, due au brassage de la pâte et des températures relativement élevées .

Ces deux variables (brassage, températures) entraînent des échanges sélectifs entre les constituants de l'eau et de l'huile; ce qui provoque une perte quoique non généralisée de constituants mineurs mais au contraire par un enrichissement de l'huile en pigments liposolubles (chlorophylles, xanthophylles) et en composés phénoliques ainsi qu'en composés volatils et donc par une augmentation de la couleur et du niveau aromatique (Montedoro, 1989).

Ces extracteurs peuvent être utilisés pour une extraction partielle avant de soumettre les pâtes à la pression ou à la centrifugation (Lushetti, 2000);

De ce fait, ce système a un rendement limité et par conséquent, il est moins utilisé (Barnouin et Laurent., 2000).

#### I.5.3.4. Conditionnement et stockage :

Dans l'attente de la mise à la consommation, l'huile d'olive vierge doit être conservée dans des conditions appropriées afin d'éviter toute cause éventuelle de dégradation qualitative (Collection, 1990).

Dans la première étape de stockage, l'huile est logée dans des réservoirs de grande ou de petite capacité. L'emploi des citernes en acier inoxydable est devenu de plus en plus généraliser (Michelakis, 1992).

D'habitude, l'huile d'olive est conditionnée en emballage de fer-blanc ou en bouteilles de verre ou de matières plastiques. Par ailleurs, les boîtes en fer-blanc peuvent comporter le risque de migration métallique alors que les bouteilles de verre ou plastiques peuvent exposer l'huile à l'influence de la lumière (Dettori et Russo, 1993). De toutes manière, quelque soit son conditionnement, l'huile d'olive est mieux protégée de la lumière et des fluctuations thermiques si elle est rangée dans des boîtes cartonnées (Michelakis, 1992). Selon Bravo (1990), le stockage de l'huile dans des cuves souterraines reste le meilleur moyen qui assure la sauvegarde de la qualité du produit.

### I. 6. Altération de l'huile d'olive :

**I.6.1. Altération biologique :** Certains microorganismes peuvent être introduits par l'atmosphère ambiante, l'appareillage de traitement insuffisamment stérilisé, les emballages, les contacts humains et les insectes.

L'action de ces microorganismes a pour résultats la libération d'enzymes génératrices d'acides gras, de produits d'oxydation, d'aldéhydes, et de cétones.

Parmi ces microorganismes, on trouve les champignons, la lipase de *Rhizopus* est sécrétée par ce champignon qui pousse sur les olives, cette lipase hydrolyse l'huile d'olive et elle n'est stable qu'au pH compris entre 4,5 et 7, la température optimale de son activité se situe entre 37 °C et 40 °C (Argenson et Davoust, 2003).

**I.6.2. Altération chimique :** La présence des doubles liaisons ainsi que les liaisons esters caractérise la structure chimique des corps gras alimentaires dont l'huile d'olives, ces deux caractéristiques sont les causes des deux principales formes d'altération dont l'acidification et l'oxydation (Dupin et al., 1992) :

**a. L'acidification :** C'est l'hydrolyse d'une ou des trois liaisons esters des triglycérides, elle se caractérise par la formation d'une teneur élevée en acides gras libres préjudiciables à la qualité de l'huile (Chimi, 2001). Elle est due à l'action des lipases et nécessite la présence d'eau ou d'humidité et de la chaleur (Dupin et al., 1992).

**b. Oxydation ou rancissement :** Le rancissement d'une huile est un ensemble des modifications moléculaires regroupées sous le nom d'oxydation (Argenson et Davoust, 2003). Elle est due à l'action de l'oxygène sur les doubles liaisons. La réaction est autocatalytique et nécessite des quantités infimes d'oxygène pour se



déclencher et se poursuivre (Dupin et al., 1992). Parmi les principaux facteurs qui favorisent cette oxydation, on tire la composition chimique dont la teneur en acides gras insaturés, la température de stockage, la présence d'oxygène, la lumière, la présence des catalyseurs métalliques ainsi que celles des antioxydants naturels (Nelson et Labuza, 1992).

L'oxydation génère des composés secondaires dont certains ont été prouvés nuisibles à la santé (Chimi, 2001), elle affecte de même la qualité organoleptique en entraînant des altérations au niveau de l'apparence, de la texture, de l'odeur et de la saveur (Simic et al., 1992).

### **I.7. Les facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive:**

L'huile d'olive vierge est extraite par des procédés purement physiques, dans des conditions thermiques évitant toutes altérations de sa qualité. Cette façon d'extraction protège l'huile de toutes les dégradations et préserve ses composants mineurs qui contribuent significativement à sa qualité et à sa bonne conservation (El Antari et al., 2000).

Par ailleurs, les paramètres de qualité et l'authenticité sur lesquels les normes sont fondées, se trouvent très influencés par plusieurs facteurs à différents stades de fabrications.

#### **I.7.1. Influence de l'état de la matière première:**

Selon Di-Giovacchino, tous les systèmes d'extraction de l'huile d'olive vierge donnent des huiles de qualité si on utilise des olives de bonne qualité de manière rationnelle (Barnouin et Laurent, 2000). Ainsi, les olives doivent être entières, saines, suffisamment mûres et propres, aussi bien pendant la récolte que pendant le transport, il convient d'employer des moyens non traumatisants pour le fruit (Lushetti, 2000).

En effet, les olives abîmées ou blessées peuvent subir une oxydation avancée en présence de l'air comme elles peuvent être infectées par les microorganismes, ce qui réduit la qualité de l'huile produite. De même, les huiles produites à partir des olives fermentées sont caractérisées par le défaut "chômé" alors que les huiles en provenance d'olives qui ont chômé pendant plusieurs jours à une humidité élevée, se caractérisent par le défaut "moisi humide" (Chimi, 2001).

Les olives qui ont séjourné jusqu'à 1 mois au stockage sont considérées de qualité médiocre et les huiles extraites à partir desquelles présentent une faible stabilité à la conservation.

#### **I.7.2. Influence de la technologie d'extraction:**

Le système d'extraction exerce une certaine influence sur les caractéristiques qualitatives de l'huile. Les diverses opérations peuvent comporter soit une modification de la composition de l'huile due à la dégradation éventuelle de certains constituants naturels à la suite de phénomènes enzymatiques et oxydatifs de l'huile, soit un appauvrissement ou un enrichissement de l'huile avec les constituants du milieu aqueux (margines) avec lequel elle est pratiquement en contact, soit la formation des composés indésirables (Montedoro, 1989).

Les opérations de broyage et de pressage de la pâte des olives, conduites en pleines d'air, peuvent entraîner l'altération des huiles de cette pâte qu'elle est exposée à l'air libre durant environ une heure, parfois plus (Fuhrer *et al.*, 2005)

De même, le temps de séparation de la phase huileuse des margines est un autre facteur déterminant de la qualité des huiles produites, en effet, l'huile surnageante à la surface du bac et en contact direct avec l'air, s'oxyde facilement si elle est exposée assez longtemps durant la décantation (Chimi, 2001).

En outre, les caractéristiques organoleptiques (couleur, saveur et goût de l'huile) sont également affectées par la durée et la fréquence de l'opération de broyage (Chimi, 2001), ainsi que la décantation qui confère à l'huile le goût margine (C.O.I, 1990).

### **I.7.3. Autres facteurs :**

La qualité de l'huile d'olive est influencée par des facteurs climatiques, génétiques et agronomiques et par leurs interactions. Les facteurs agronomiques ont une influence sur le comportement physiologique de la plante et par conséquent sur la qualité de l'huile produite (Montedoro, 1993 ; Pannelli, 1994). Ainsi, le climat a une influence sur la maturité des olives et par conséquent sur la composition de l'huile (Cavusoglu et Oktar, 1994).

De même, l'environnement physique d'implantation semble exercé son influence (Fontanaza, 1988) ; les terres grasses produisent des huiles moins aromatisantes que les terres maigres (Scaramuzz et Rosselli, 1986), de même, la teneur en stérol augmente quand le climat est chaud contrairement au corpéstérol qui diminue quand le climat est froid (Apparicio *et al.*, 1994).

En outre, la maturation des olives est un processus à la fois lent et long qui se prolonge pendant plusieurs mois (Kiritsakis et Osman, 1995) semble se traduire par des processus de transformation chimique et de synthèse des substances organiques interviennent à l'intérieur de l'olive dont notamment la synthèse des glycérides qui revêt une importance particulière (Hatmann *et al.*, 1980).

### **I.8. Evaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge :**

Les propriétés organoleptiques sont les critères les plus anciens qui sont employés pour déterminer les caractéristiques qualitatives d'une huile (Bouskou, 1996).

#### **I.8.1. Attributs négatifs :** Elles sont les suivantes (C.O.I, 1996) :

- Chômé : flaveur caractéristique de l'huile tirée d'olives entassées dans un état avancé de fermentation anaérobie.
- Moisi - humide : flaveur caractéristique de l'huile obtenue d'olives attaquées par des moisissures et des levures par suite d'un stockage des fruits pendant plusieurs jours dans l'humidité.
- Lies : flaveur caractéristique de l'huile restée en contact avec les boues de décantation dans les piles et les cuves.

- Métallique : flaveur qui rappelle les métaux. Elle est caractéristique de l'huile qui est demeurée longtemps en contact avec des surfaces métalliques, au cours des processus de broyage, de malaxage, de pression ou de stockage.
- Rance : flaveur des huiles ayant subi un processus d'oxydation.

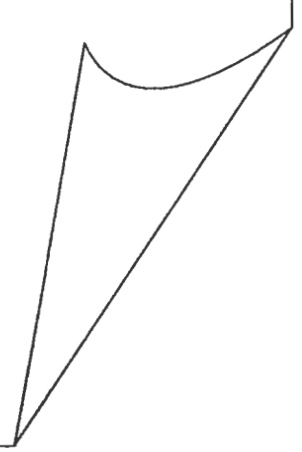
**I.8.2. Attributs positifs :** On trouve ce qui suit (C.O.I, 1996) :

- Fruité : ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, verts ou mûrs, perçu par voie directe ou rétronasale.
- Amer : goût caractéristique de l'huile obtenue d'olives vertes ou au stade de la véraison.
- Piquant : sensation tactile de picotement, caractéristique des huiles produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives encore vertes.

**I.8.3. Autres attributs négatifs :** Les plus importants sont les suivants :

- Margines : flaveur acquise par l'huile à la suite d'un contact prolongé avec les eaux de végétation.
- Saumure : flaveur de l'huile obtenue d'olives conservées en saumure.
- Terre : flaveur de l'huile obtenue d'olives ramassées avec de la terre ou boueuses et non lavées.
- Foin-bois : flaveur caractéristique de certaines huiles provenant d'olives sèches.
- Concombre : flaveur de l'huile qui se produit à la suite d'un conditionnement hermétique excessivement prolongé, notamment dans des récipients en fer-blanc, et qui est attribuée à la formation de 2-6 nonadiénal(C.O.I,1996).

# *Chapitre II*



## II. Les Bactéries Lactiques

### II.1. Définition :

Les bactéries lactiques sont des microorganismes qui produisent de l'acide lactique (L) et / ou (D), comme produit majeur durant la fermentation des carbohydrates (Leveau et Bouix, 1993).

### II.2. Origine et propriétés générales :

Les bactéries lactiques sont des bactéries à exigence nutritive parfois complexe que l'on trouve dans les produits alimentaires riches (Guiraud, 1998). D'une manière générale, elles peuvent être isolées du lait, des végétaux ou aliments ensemencés par des végétaux (Leveau et Bouix, 1993) ou d'autres produits alimentaires possédant des caractéristiques favorables pour leur développement (Sutra et al., 1998).

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (Dellaglio et al., 1994), rassemblent un certain nombre de bactéries à Gram positif possédant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes mais avec parfois peu d'homologie de leurs acides nucléiques (Sutra et al., 1998).

Les bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène, mais de très grandes teneurs peuvent leur être néfastes, elles sont considérées comme des microaérophiles (Doleyres, 2003).

Elles sont à Gram positif, asporulées, ne possèdent pas de catalase, généralement immobiles et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et al., 1994 ; Leveau et Bouix, 1993).

### II.3. Classification des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (Sutra et al., 1998). Les études récentes de biologie moléculaire apportent des connaissances nouvelles sur la taxonomie et le potentiel métabolique de ces germes.

La classification la plus ancienne, celle d'Orla Jensen (1924), a le mérite d'utiliser des caractères d'intérêt technologiques et elle est de ce fait, parfois prise en compte (Eck et Gillis, 1997).

La classification définit des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminant ou surtout comme agents de fermentation lactique les principaux genres sont (Bourgeois et Leveau, 1991):

- *Lactococcus* (Lc);
- *Streptococcus* (Sc);
- *Leuconostoc* (Ln);
- *Pediococcus* (Pc);
- *Lactobacillus* (Lb).

**II.3.1. Le genre *Lactococcus*:** Les lactocoques se présentent sous forme de coques et forment des chaînes de longueur variable, ce sont des bactéries homofermentaires, leur température de croissance optimale est proche de 30°C. Ces bactéries sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6,5% de NaCl, ou lorsque le pH est supérieur à 9,6 (Bourgeois et Leveau, 1991).

**II.3.2. Le genre *Streptococcus*:** La plupart des espèces sont thermophiles, leur fermentation est homolactique (Sutra et al., 1998) dont on rencontre *St. thermophilus* qui se distingue essentiellement des autres streptocoques par sa croissance thermophile avec un optimum autour de 42- 43°C, sa thermorésistance à 60°C avec une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres et une forte sensibilité au Na Cl (Leveau et Bouix, 1993).

**II.3.3. Le genre *Leuconostoc*:** Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques en paires ou en chaînes. Ces bactéries sont hétérofermentaires, mésophiles (20°C à 30°C) et caractérisées par la production, à partir du citrate du lait, de diacétyle et parfois par la synthèse de dextrans et de levanes extracellulaires en présence de saccharose (Leveau et Bouix, 1993).

**II.3.4. Le genre *Pediococcus*:** Il est formé de cellules groupées en paires ou en tétrades, homolactiques. Les espèces se différencient par leur tolérance à la température, au pH et au Na Cl et par leur spectre fermentaire (Leveau et Bouix, 1993).

**II.3.5. Le genre *Lactobacillus*:** Les espèces de ce genre sont caractérisées par des cellules en forme de bâtonnets souvent groupées en chaînes, une forte exigence aux facteurs de croissance: *Lb. delbrueckii* exige 11 à 15 acides aminés, une acidification du lait plus lente mais généralement plus intense grâce à une meilleure résistance au pH acide et à une concentration plus élevée de l'acide lactique. Elles sont acidophiles, peu protéolytiques et peu lipolytiques (Leveau et Bouix, 1993).

#### **II.4. Rôle et intérêt des bactéries lactiques en industries alimentaires:**

Les bactéries lactiques interviennent principalement par la fermentation lactique qui est une étape essentielle dans la fabrication des fromages et yaourts mais aussi de nombreux produits végétaux fermentés et la charcuterie (Doleyres, 2003).

Les fermentations lactiques, outre leurs rôle organoleptique (acidification et sous produits aromatiques) jouent un grand rôle de stabilisation par la baisse du pH et des phénomènes d'antibiose (Guiraud, 1998).

**II.4.1. En fromagerie:** Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la production des fromages, en fait, la production d'acide lactique influence la texture, le goût et la qualité microbiologique du fromage. En effet, la production d'acide facilite la coagulation des protéines par la présure ainsi que la synérèse, l'abaissement du pH limite aussi la croissance des bactéries indésirables (Doleyres, 2003).

En modifiant les caractéristiques du milieu, les bactéries lactiques préparent les conditions de développement des autres espèces responsables de l'affinage (Eck et Gillis, 1997).

**II.4. 2. Fermentation des olives:** Les olives sont soumises à une fermentation lactique en saumure, selon les conditions, la fermentation dure deux semaines à plusieurs mois (Leveau et Bouix, 1993).

La fermentation des olives est spontanée, elle est réalisée par la flore naturelle des olives où l'on retrouve: *Leu. mesenteroides*, *Lb. plantarum* et *Lb. brevis* ainsi que des *Pediococcus* (Sutra et al., 1998).

La première phase de fermentation se caractérise par la présence de la flore initiale, la phase intermédiaire se caractérise par la prédominance du *Leuconostoc mesenteroides* et l'apparition des lactobacilles qui prédominent pendant la dernière phase en produisant une acidité finale de 0.7 à 1 % d'acide lactique et un pH inférieur à 4 (Kacem et al., 2004).

### **II.5. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques:**

On associe généralement et de façon implicite les bactéries lactiques à leurs différents rôles dans les industries agroalimentaires. Dans certaines technologies, leurs intervention pour transformer une matière première et participer à l'élaboration d'un produit fermenté est recherchée (Bourgeois et Leveau, 1991):

**II.5.1. Aptitude acidifiante:** La quantité de l'acide lactique produite est liée au métabolisme fermentaire: homofermentation ou hétérofermentation, cela conditionne également la nature des acides produites (Bourgeois et Leveau, 1991).

La production de l'acide lactique est essentiellement importante conduisant à une acidification rapide et durable, le pH final atteint dépend de la matière première fermentée et des souches utilisées, généralement, il correspond à des valeurs inférieurs aux valeurs limites de développement de la plupart des flores d'altération et des flores pathogènes (Sutra et al., 1998).

**II.5.2. Aptitude aromatisante:** Les bactéries lactiques jouent un rôle très important sur les propriétés organoleptiques du produit dans lequel elles se développent. Cela est dû aux composés organiques qu'elles secrètent par transformation du milieu (Bourgeois et Leveau, 1991).

Le diacétyle et l'acétaldéhyde étant considérés comme les plus importants, responsables notamment des saveurs caractéristiques du beurre et du yaourt (Sutra et al., 1998). La production de diacétyle est généralement associée à la fermentation du citrate qui dépend du pH du milieu, de la présence de l'oxygène, de l'agitation du milieu, de la teneur en citrate et de certains facteurs de croissance. Les lactobacilles synthétisent de l'acétaldéhyde (Vignola, 2002).

**II.5.3. Aptitude texturante:** Certaines souches des bactéries lactiques ont la faculté de synthétiser des exopolysaccharides, glycannes (dextranes) et fructosanes (levanes), qui constituent la capsule cellulaire. Ces macromolécules contribuent à

modifier la texture des produits dans lesquels se développent les souches compétentes (Bourgeois et Leveau, 1991).

Selon les produits, la texture recherchée est ferme ou onctueuse. Pour obtenir une consistance déterminée, l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être combinées à celles des souches productrices des polysaccharides. Ce caractère métabolique répandu chez les bactéries lactiques, a été un critère de sélection de certaines souches de *St. thermophilus*, épaississantes du yaourt (Schmidt et al., 1994)

**II.5.4. Aptitude protéolytique:** Le système protéolytique des bactéries lactique est important pour plusieurs raisons (Eck et Gillis, 1997):

- Il permet la dégradation des caséines du lait ;
- Il intervient au cours de l'affinage et contribue au développement de la saveur typique du fromage ainsi qu'à l'obtention d'une texture de pâte déterminée.

Le métabolisme d'hydrolyse protéolytique affecte non seulement la croissance des cellules mais également la saveur des fromages, une accumulation des peptides peut provoquer de l'amertume (Vignola, 2002).

**II.5.5. Aptitude antagoniste:** Les bactéries lactiques sont connues et utilisées pour les influences antagonistes qu'elles développent. Elles sont dues aux métabolites excrétés: acide lactique et autres acides organiques, diacétyl, peroxyde d'hydrogène et surtout antibiotiques et bactériocines (Bourgeois et Leveau, 1991).

Devant l'incertitude actuelle de la distinction entre les différents composés: antibiotiques, bactériocines, participant à la défense des bactéries productrices contre d'autres microorganismes, on les a groupé sous le terme général des composés antagonistes dont les plus connus sont la nisine produite par *Lc. lactis* (Leveau et Bouix, 1993).

## II.6. Les levains lactiques:

**II.6.1. Définition :** Actuellement, on définit les levains ou ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges des bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication des produits fermentés (Dolyères, 2003).

### II.6.2. Composition des ferments mésophiles :

Bien que leur composition n'était pas bien établie, les cultures mésophiles fournies à l'industrie laitière sont composées de bactéries acidifiantes productrices d'acide lactique et de bactéries dites aromatisantes fermentant les citrates (Eck et Gillis, 1997), elles comprennent toujours des souches de *Lc. cremoris* et de *Lc. lactis* (ferment type O), à ces souches peuvent s'ajouter *Lc. lactis diacetylactis* (ferment type D) ou *Leuconostoc* (ferment type L), bactéries aromatisantes de par leur synthèse de diacétyl (Moge, 2004).



### II.6.3. Types de levains lactiques mésophiles :

Selon leur ordre d'apparition historique, on distingue trois types de levains (Eck et Gillis, 1997) :

**II.6.3.1. Levains mixtes à variétés multiples :** Traditionnellement, ils sont considérés les plus anciennes formes de levains formés des espèces : *Lc. Lactis* ssp *cremoris*, *Lc.lactis* ssp *biovar diacetylactis* et *Leu. cremoris*. Ce mélange ayant de nombreuses souches de résistances phagiques différentes, leur utilisation est très large dans de nombreuses technologies notamment les produits traditionnels. Ils présentent d'avantages de plus de la résistance phagique, l'acidification modérée avec post-acidification réduite (Eck et Gillis, 1997).

Leur inconvénient réside dans la tendance au déséquilibre entre les espèces et les souches au cours des repiquages car leur culture se fait en mélange (Poullain, 1994).

**II.6.3.2. Levains mixtes à souches multiples définies :** C'est un mélange de deux à six souches pures de résistance phagique différente, c'est le type de levains de plus en plus utilisé, ils permettent de moduler les activités acidifiantes, de diminuer le risque phagique et de travailler avec un mélange connu et caractérisé (Eck et Gillis, 1997).

**II.6.3.3. Levains de souches pures :** C'est la technologie la plus récente, utilisée avec certaines espèces comme : *St. thermophilus* sur des technologies pâte pressées et pâtes molles, ils sont employés en développement avec des souches ayant des résistances phagiques améliorées cependant une rotation des souches peut être pratiquée (Poullain, 1994 ; Eck et Gillis, 1997).

### II.6.4. Préparation des levains mésophiles :

Les ferments lactiques sont traditionnellement produits par fermentation discontinue appelée également fermentation « batch » (Gilliland, 1985). L'accumulation des produits toxiques principalement l'acide lactique non dissocié et le lactate, est un facteur important limitant la production des levains lactiques par cette technique.

Les cultures en continu permettent d'éviter ce problème par l'emploi de taux de dilution adéquats mais présentent des risques importants de contamination et de perte d'activité enzymatique. D'autre part, en culture mixte, les interactions entre les souches peuvent conduire à l'élimination d'un ou de plusieurs souches dans le bioréacteur (Hugenholtz et veldkamp, 1989).

### II.6.5. Formes disponibles des levains mésophiles :

On distingue deux types de cultures de ferments lactiques commerciales, selon qu'elles servent à préparer un ferment en vrac ou qu'on les ajoute directement dans le lait de fabrication :

- a. **Ferments traditionnels** : Les cultures des ferments traditionnels consistent à ensemer le milieu à transformer avec une fraction de produit fermenté de la précédente fabrication (Poullain, 1994).
- b. **Ferments concentrés** : Ils sont destinés à des systèmes à inoculation directe, ils sont disponibles sous deux formes (Vignola, 2002) :
  - les cultures congelées : sont les plus populaires, elles servent à inoculer des cuves à fermentation ou à ensemer directement le lait de fabrication ;
  - les cultures lyophilisées : gagnent en popularité dans les petites fromageries qui peuvent se permettre un temps de maturation plus long, ces cultures présentent aussi l'avantage d'être faciles à entreposer.

#### II.6.6. Critères de choix des ferments lactiques mésophiles :

Selon Schmidt *et al.*, (1994), les principales critères de choix des ferments lactiques mésophiles pour la préparation des fromages frais sont d'abord une température qui se situe entre 18 et 28 °C avec tolérance à 30 °C , puis l'aptitude à la production de diacétyle qui est considéré pour Eck et Gillis (1997) un critère de choix très important.

Schmidt *et al.*, (1994) ont signalé également l'importance mais à moindre degré, de l'activité épaississante qui confère au produit des caractères rhéologiques particuliers portant notamment sur la viscosité. Enfin, Moge (2004) a défini la qualité d'un ferment mésophile destiné à la fromagerie par sa capacité à produire de l'acide lactique.

# *Chapitre III*

### III. Les fromages Frais

#### III.1. Définitions :

**III.1.1. Définition du fromage :** Sur le plan alimentaire : le fromage est une forme de conservation des deux principaux constituants insolubles du lait (caséine et matière grasse) et d'une partie plus ou moins importante de sels minéraux et des éléments solubles (Schmidt *et al.*, 1994).

Sur le plan légal : le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi-solide dans lequel le rapport protéine de lactosérum /caséine n'excède pas celui du lait obtenu, il est obtenu (Schmidt *et al.*, 1994) :

- Par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ;
- Par l'emploi de technique de fabrication entraînant la coagulation du lait et /ou des matières provenant du lait.

**III.1.2. Définition du fromage frais :** Le fromage frais ou non affinée est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après la fabrication. Il se caractérise par une coagulation à caractère acide prédominante complétée par une faible addition de la présure, et égouttage lent ainsi il doit renfermer une flore vivante au moment de la vente au consommateur (Simon *et al.*, 2002)

#### III. 2. Critères du fromage frais :

Le fromage frais est un fromage à pâte fraîche avec un caillé lactique à égouttage lent et sans affinage, à texture légèrement liquide, veloutée et granuleuse et avec une saveur acidulée. Il se présente sous plusieurs label : Suisse, Cœur à la crème, Demi-sel, fromage de compagne, fromage battu ... (Vignola, 2002).

Du fait de son humidité élevée, il se conserve peu et doit être consommé immédiatement après l'égouttage ; d'autre part, leur faible taux en calcium (perdu lors de l'égouttage) rabaisse sa valeur nutritionnelle (Dupin *et al.*, 1992).

#### III.3. Types de fromage frais :

Les diverses technologies employées permettent de distinguer :

- Les fromages blancs moulés en faisselles : ou fromage type de compagne où le caillée garde son individualité à l'état de blocs ou de grains. Ces fromages se caractérisent par une texture hétérogène en morceaux (Larpent et Monique, 1997 ; Simon *et al.*, 2002).
- Les fromages blancs frais à structure homogène : à extrait sec faible et texture onctueuse c'est le cas des fromages blanc battus ou lissés ; à extrait sec plus élevé et texture tartinable comme les petits suisses (Larpent et Monique, 1997 ; Bourgeois et Larpent, 1996).

Ces fromages peuvent être additionnés de sucre, de sel, de fruits, d'épices ou d'herbes aromatiques (Simon *et al.*, 2002).

### III.4. Procédé de fabrication du fromage frais :

La transformation du lait en fromage est plus ou moins complexe, il subit des opérations diverses en fonction du fromage souhaité (Guiraud, 1998 ; Vignola, 2002)

La fabrication d'un fromage comprend trois étapes successives :

- La coagulation du lait avec formation du gel ou coagulum ;
- L'égouttage du gel avec formation du caillé ou caillebotte ;
- L'affinage du caillé avec acquisition des caractères sensoriels du fromage.

Cette étape est facultative et n'intervient pas dans le cas des fromages frais. Ces trois étapes sont généralement précédées d'une préparation du lait (filtration statique ou centrifuge, standardisation en matières grasses et en protéines, traitements thermiques...) (Schmidt et al., 1994)

Quant au fromage frais, ce dernier est caillé sous l'action des bactéries lactiques bien qu'une petite quantité de présure soit ajoutée pour améliorer sa fermeté. Une fois égouttée, le caillé est conditionné et vendu sans aucun affinage (Simon et al., 2002).

**III.4.1. Préparation du lait :** La qualité du lait de fromagerie peut être définie comme l'aptitude à donner un bon fromage dans les conditions normales de travail avec un rendement satisfaisant (Mahaut et al., 2000).

Tous les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère, car ils présentent des caractéristiques différentes et une histoire qui leur sont propres, telles que la richesse et la composition en caséines, les équilibres salins, la teneur en lactose, la qualité hygiénique et l'histoire thermique (Mahaut et al., 2000), c'est pour cette raison, on est amené à faire subir au lait des correctifs avant de le mettre en fabrication.

La préparation du lait, qu'elle est devenue une étape primordiale du procédé de fabrication des fromages comprend plusieurs opérations, certaines peuvent être facultatives ou obligatoires selon la technologie, la réglementation, les produits voulus, ...etc. (collection FAO, 1998) :

**a. Standardisation du lait en matières grasses et en matières protéiques :** L'ajustement de la teneur en matières grasses se fait soit par apport de lait écrémé dans du lait entier, soit par apport de crème dans du lait entier. La standardisation en matières protéiques se fait par ajout au lait de poudre de lait, de caséine ou de caséinates, ou encore par ultrafiltration. (Collection FAO, 1998).

**b. Pasteurisation :** La pasteurisation a pour objectif la destruction des microorganismes contenus dans le lait, notamment les microorganismes pathogènes, afin de faciliter l'action des ferments lactiques ajoutés lors de l'ensemencement et augmenter la salubrité des fromages (Simon et al., 2002).

Elle se déroule dans une cuve de pasteurisation à 80°C pendant 30 secondes, plus le lait est sale (contaminé par des microbes) plus la température et le temps de pasteurisation sont importants (Simon et al., 2002 ; Vignola, 2002).

**III.4.2. coagulation du lait :** Elle résulte d'un changement irréversible du lait de l'état liquide à l'état semi- solide appelé gel ou coagulum (Mahaut *et al.*, 2000).

La coagulation est provoquée par acidification, par l'action d'un enzyme ou encore par l'action combinée des deux (Vignola, 2002).

La fabrication du fromage frais se caractérise par une coagulation a caractère acide prédominant. En effet, la coagulation acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ( $pH_I=4,6$ ) par acidification biologique à l'aide des ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique, ce qui entraîne la régression de l'ionisation des fonctions acides des caséines et par conséquent, la diminution du pouvoir séquestrant des caséines  $\alpha_s$  et  $\beta$  vis-à-vis des minéraux, il s'en suit une solubilisation du calcium et du phosphate micellaire, entraînant une destruction des micelles de caséines avec réorganisation protéique pour former un réseau puis un gel à  $pH=4,6$  (Mahaut *et al.*, 2000 ; Schmidt *et al.*, 1994).

Ainsi le mécanisme d'action de la présure est assez bien établi et comporte deux phases : la phase primaire, ou enzymatique, correspond à l'hydrolyse de la caseine- $\kappa$  (agent stabilisant de la micelle), et la libération de caséinomacropéptide(CMP), la phase secondaire commence lorsque, à  $pH=6,6$ , 80 à 90% de la caséine  $\kappa$  est hydrolysée. Le CMP se détache de la caséine  $\kappa$  et la micelle perd son caractère hydrophile. Des liaisons hydrophobes et électrostatiques s'établissent alors entre les micelles modifiées et vont entraîner la formation du gel (Mahaut *et al.*, 2000).

**III.4.3. Egouttage :** Les gels formés par coagulation sont dans un état physique instable où ils présentent une structure grossière faite d'un réseau protéique dans lequel sont inclus le lactosérum, la matière grasse et les microorganismes. Leur égouttage se fait spontanément et permet d'évacuer le sérum du fromage frais, en pratique, il est nécessaire, pour obtenir un fromage suffisamment égoutté dans des délais acceptables, d'exercer une action mécanique limitée sur le coagulum, c'est le cas des produits pâteux (Schmidt *et al.*, 1994 ; Simon *et al.*, 2002).

En revanche certains caillés et, en raison de leur friabilité, ne peuvent pas supporter des actions mécaniques fortes (Schmidt *et al.*, 1994). Dans les procédés traditionnels, ces actions consistent en un découpage sommaire associé à un très léger brassage et à un pressage réalisé lors de la mise en sacs du caillé et du retournement de ceux-ci.

La pâte obtenue en fin d'égouttage se caractérise par une forte humidité, un pH bas (4 - 4,2) qui lui confère son goût acidulé et une faible minéralisation (0,1 %de calcium, 0,2% de phosphore) (Schmidt *et al.*, 1994 ; Simon *et al.*, 2002)

La teneur élevée en eau et le faible degré de minéralisation entraînent un manque de tenue et de cohésion du fromage, qui se présente généralement sous forme d'une pâte qu'il faut conditionner dans des récipients rigides et étanches. La

consommation s'effectue sans affinage dès la fin de l'égouttage après incorporation éventuelle de crème, de sel, de sucre, d'épices, etc. (Collection FAO, 1998)

### III.5. Les défauts des fromages frais :

Compte tenu de la diversité et de la complexité des technologies, le fromager doit faire face à des risques d'accidents qui se traduisent par des défauts sur le produit fini (Mahaut et al., 2000).

Une classification de ces défauts peut reposer sur plusieurs bases (Eck et Gillis, 1997) :

- Défauts liés à l'étape de fabrication (défauts de coagulation et d'égouttage)
- Défauts relatifs aux conséquences de l'accident sur les caractères des pâtes (défaut de texture, d'aspect, de saveur et d'arôme).

**III.5. 1. Défauts liés à la coagulation et à l'égouttage :** On trouve les défauts suivants (Vignola, 2002) :

- a. Caillé gélatineux : dans un caillé lactique, le dosage entre la nature lactique prédominante et la nature présure du caillé est essentiel. Plus le caillé est de type présure, plus il a tendance à être gélatineux ; le produit fini est alors trop caoutchouteux et pas assez friable pour un fromage à pâte fraîche. S'il est trop acide, l'égouttage spontané sera important.
- b. Caillée spongieux : c'est un défaut plus grave, cette situation résulte d'une fermentation hétérofermentaire généralement due au développement des coliformes. Ce défaut est moins probable aujourd'hui.

**III.5. 2. Défauts de texture :** Le plus connu est le gonflement précoce : ce phénomène peut se rencontrer dans tout les types de fromage dès le début de la fabrication. Il se traduit par l'apparition de trous dans la pâte. Ces accidents sont dûs à un développement intempestif de germes producteurs de gaz à partir de la fermentation du lactose (levures, coliformes et bactéries lactiques hétérofermentaires) (Mahaut et al., 2000 ; Eck et Gillis, 1997).

**III.5.3. Défauts d'aspect :** Les plus connus sont (Mahaut et al., 2000 ; Eck et Gillis, 1997) :

- a. Les accidents du « bleu » : caractérisés par l'apparition à l'intérieur de la pâte du fromage frais de taches bleuâtres ou verdâtres provoquées par *Penicillium roqueforti* alors que la surface est d'apparence normale.
- b. Les défauts de la « graisse » ou « peau de crapaud » : le microorganisme responsable est *Geotrichum candidum*, qui peut se développer dans le fromage frais et donner des goûts levurés.

#### III.5.4. Défauts de saveur et d'arôme : On trouve :

- a. Amertume : c'est un défaut de saveur relativement fréquent et il est dû à l'accumulation de peptides amers (Vignola, 2002). Dans les fromages frais la principale cause d'amertume est un fort développement de bactéries psychrotrophes, notamment de *Pseudomonas fluorescens*, à l'origine d'une sécrétion de protéase exocellulaires (Eck et Gillis., 1997).
- b. Le goût de rance : l'apparition du goût de rance dans les fromages est due à une lipolyse excessive qui se traduit par la présence d'une dose anormalement élevée d'acides gras libres (Mahaut et al, 2000 ; Eck et Gillis, 1997).

#### III.6. Contrôle de la qualité du fromage frais :

L'innocuité des produits est une préoccupation constante dans l'industrie laitière. Le maintien de cette innocuité nécessite la mise en place de moyens efficaces pour lutter contre la contamination des produits (Vignola, 2002).

Toutefois, l'étude de la qualité du fromage frais revêt une importance considérable en raison de leur grande humidité (71 à 85%), elle prend en charge la qualité physicochimique et microbiologique (Hamama, 1989).

**III.6.1. Contrôle physicochimique :** Il vise le contrôle de l'acidification de la pâte du fromage qui permet d'évaluer sa perméabilité et donc son aptitude à l'égouttage.

Le pH- mètre reste l'équipement le plus simple comme remplacement des sondes traditionnelles, fragiles, on trouve actuellement des sondes résistantes qui permettent de suivre en continu le pH, traditionnellement, on mesurait l'acidité par titration à la soude dornic (Vignola, 2002).

**III.6.2. Contrôle microbiologique :** Les fromages, de par leur acidité et les traitements qu'ils subissent sont très peu favorables au développement et à la survie des germes pathogènes, le danger n'existe que pour les fromages frais qui peuvent contenir des Entérobactéries pathogènes comme *Escherichiae coli*, *Salmonella*, *Shigella* ou *Yersinia enterolitica* et *Listeria monocytogene* (Guiraud ,1998).

Les contrôles microbiologiques sur les fromages visent :

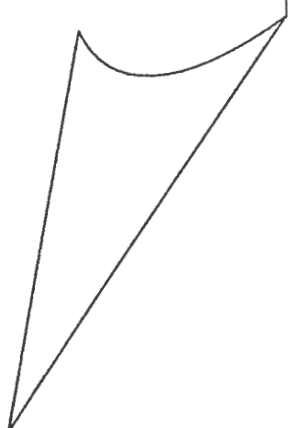
- A vérifier l'absence de pathogènes et la présence, en nombre limité, de microorganismes indicateurs d'hygiène ;
- A contrôler l'absence de germes ayant des incidences technologiques défavorables.

Le dénombrement des coliformes est intéressant à ces deux points de vue car, outre leur qualité de germes témoin, les coliformes sont responsables si leur nombre est trop important, de produire une fermentation acide mixte ou butylène glycolique qui va se traduire par un gonflement et un goût piquant pour les pâtes fraîches (Bourgeois et Leveau ,1991 ; Guiraud, 1998).

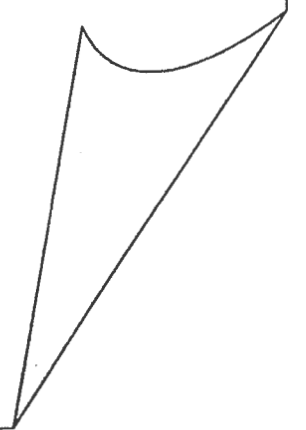


Les autres flores pouvant être recherchées sont : la flore fongique, la flore aérobie mésophile banale, la flore lactique, les anaérobies sulfite-réducteurs, les caseolytiques, les germes butyriques. Par ailleurs, le respect des normes d'hygiène et de salubrité est, comme pour l'ensemble des produits laitiers, un gage de succès, surtout que l'essentiel de la coagulation et de l'égouttage se déroule dans une zone de températures très propices au développement bactérien (Vignola, 2002).

*Etude  
Expérimentale*



*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*



## II. Matériel et méthodes

### II.1. Matériel:

#### II.1.1. Matériel biologique :

Lors de la réalisation de notre étude pratique, le matériel biologique suivant a été utilisé :

- **Huile d'olives vierge :** Nous avons utilisé lors de notre étude trois (03) échantillons de l'huile d'olive vierge fabriqués traditionnellement, les échantillons sont collectés de trois régions de la wilaya de Jijel, il s'agit de Tassoust (T), Taher (TH) et Cinquième Poste (C).
- **Lait de vache et lait en poudre:** Le lait cru a été utilisé comme matière première pour la fabrication d'un fromage frais, celui en poudre pour l'enrichissement du lait cru.
- **La présure :** préparation enzymatique coagulante, la plus largement utilisée en fromagerie. Nous avons utilisé la présure commerciale présentée sous forme liquide et dont le pH est ajusté à la stabilité optimale (5 – 5,5). Elle nous a été fournie par l'unité laitière IGILAIT.
- **Ferments lactiques mésophiles :** Lors de la fabrication du fromage frais, on a utilisé deux ferments mésophiles, un est issu de notre collection lactique, l'autre, industriel procuré auprès du responsable de l'unité IGILAIT.

#### II.1.2. Produits chimiques et réactifs :

Pour l'étude physicochimique, nous nous sommes servi de :

- Solution d'isobutanol -éthanolique pour le calcul de l'indice d'acide ;
- Solution de potasse 0,5 N dans l'alcool à 95 ° ;
- Solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0,5 N et 1N ;
- Solution alcoolique de phénol phtaléine à 1 % comme indicateur de couleur.
- Solution d'acide acétique à 0,5 N ;
- Solution d'iodure de potassium à 30 % ;
- Solution de thiosulfate de sodium à 0,002 N et 0,01 N;
- Amidon soluble pour la préparation d'empois d'amidon ;
- Solution saturée de chlorure de sodium ;
- Solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1M ;
- Réactif de Folin-Ciocalteu : acide de couleur jaune constitué de poly hétérocycles acides contenant du molybdène et tungstène ;
- L'iode en poudre pour la préparation du réactif de Hübl utilisé pour la détermination de l'indice d'iode mais également pour la préparation d'empois d'amidon ;
- Chlorure mercurique en poudre, entre également dans la préparation du réactif de Hübl ;
- Solution d'alcool éthylique pur à 96 ° ;

- Solution de tétrachlorure de carbone pour la détermination de l'indice d'iode ;
- Le glycérol utilisé comme témoin lors de la recherche du glycérol ;
- Solution de sulfate de cuivre saturée pour la recherche du glycérol mais également pour la révélation de l'activité lipolytique dans l'huile ;
- La soude à 5 % et celle dornic ;
- Solution d'éther éthylique utilisée lors du dosage des arômes par la GC-MS ;
- Solution aqueuse de NaOH 1N ;
- Solution d'heptane utilisée pour la préparation des esters méthyliques lors de la séparation des acides gras par la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse;
- Solution d'hexane ;
- Solution de méthanol ;
- Solution de chloroforme.
- Solution fraîche d'eau oxygénée pour la recherche du catalase ;
- Réactif VPI et VPII ;
- Réactif de Kovacs pour la révélation de l'indole ;
- Teinture de tournesol pour l'étude de la présence de la réductase ;
- Bleu de méthylène pour la préparation du lait de Sherman ;
- Violet de Gentiane, Fushine, Lugol, l'alcool et l'huile à émersion pour la réalisation de la coloration de Gram.

### II.1.3.Milieus de culture :

La partie microbiologique de notre étude a nécessité les milieux de culture suivants :

- Gélose PCA (Plate Count Agar) pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) mais également des psychrophiles ;
- Gélose OGA pour le dénombrement des levures et moisissures ;
- Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) pour le dénombrement des coliformes totaux (C.T) et thermotolérants (C.T.T) ;
- Milieu de MAN-ROGOSA-SHARPE (MRS) sous forme de bouillon et de gélose pour la culture des bactéries lactiques ;
- Milieu de Gibson-Abdel-Malek sert à la détermination du type fermentaire des bactéries lactiques ;
- Lait écrémé tournesolé pour la recherche de la réductase ;
- Bouillon hypersalé à 4,5 % et à 6 % de NaCl utilisé pour l'identification des bactéries lactiques ;
- Lait de Sherman à 0,1 % et à 0,3 % de bleu de méthylène pour étudier la sensibilité aux colorants et le pouvoir coagulants des souches étudiées ;
- Gélose hypersaccharosée pour l'étude de l'activité texturante ;
- Milieu Y.M.A (Yeast, Milk, Agar) pour tester l'activité protéolytique des souches étudiées ;
- Milieu Möeller à arginine pour la recherche de l'arginine dihydrolase ;

- Milieu MEVAG sans sucre pour la réalisation du profil fermentaire des sucres ;
- Gélose au sang de cheval pour caractériser le type d'hémolyse ;
- Milieu au lait écrémé stérile pour l'étude de la production d'acétoïne ;
- Lait citraté gélosé par un apport de gélose blanche pour l'étude du citratase ;
- Les sucres : pour établir le profil fermentaire des souches étudiées, nous avons utilisé les seize (16) sucres suivants : glucose, mannose, lévulose, raffinose, galactose, dextrine, maltose, tergitol, cellobiose, sorbose, adonitol, dulcitol, tréhalose, sorbitol, xylose, arabinose.

Pour le contrôle microbiologique du fromage, nous avons utilisé :

- Eau peptonée alcaline pour le pré- enrichissement du *Salmonella* ;
- Eau peptonée exempte d'indole pour la recherche des indologènes ;
- Milieu Giolliti-Contoni pour l'enrichissement des staphylocoques ;
- Gélose Hecktoen pour l'isolement du *Salmonella*.

#### II.1.4. Appareillage :

Nous nous sommes servi au cours de notre étude des appareils suivants :

- Vortex électrique pour homogénéiser les préparations ;
- Agitateur électrique menu d'un barreau magnétique ;
- Balance analytique à 0,01 g ;
- Une étuve électrique de séchage maintenue à  $103 \pm 2$  °C ;
- Four à moufle pour la détermination du taux de la matière minérale ;
- Centrifugeuse électrique;
- Spectrophotomètre ;
- Thermomètre pour mesurer les températures ;
- Distillateur utilisé pour l'extraction des arômes ;
- Un appareil de chromatographie gazeuse couplée au spectroscopie de masse GC-MS pour l'analyse des acides gras des huiles étudiées et pour le dosage des arômes des ferments reconstitués ;
- pH mètre;
- Bain marie.

Pour la fabrication du fromage, on a utilisé : un récipient de qualité alimentaire, couteau, cuillère, une toile à fine mailles et des pots stériles pour le conditionnement.

#### II.2.Méthodes :

##### II.2.1.Contrôle de la qualité d'une huile d'olive vierge :

La qualité est déterminée objectivement comme étant la capacité du produit à satisfaire les exigences du marché ; pour l'huile d'olive vierge, elle est appréciée selon deux analyses principales (Pinello, 2002) :

- Une analyse chimique faisant ressortir le taux d'acidité, l'indice de peroxyde, la présence des phénols ainsi que d'autres paramètres.
  - Une analyse sensorielle pour identifier les caractéristiques positives du goût.
- Cependant, nous avons évalué, également des critères physiques et on a complété l'étude par des analyses microbiologiques.

### II.2.1.1. Contrôle physicochimique de l'huile d'olive vierge :

#### II.2.1.1.1. Critères chimiques :

Les indices représentent le fondement de la chimie analytique des corps gras et, malgré tous les progrès des techniques de laboratoire, certains de ces critères offrent encore un intérêt, de nos jours, pour le contrôle de la qualité (Karleskind et al., 1992).

##### a. Acidité et indice d'acide:

L'indice d'acide (Ia) est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1 gramme de corps gras (Karleskind et al., 1992).

L'indice d'acide est déterminé selon le mode opératoire suivant : Dans un Erlen Meyer de 250 ml, on introduit une prise d'essai (p) de 1 g d'huile, puis on fait dissoudre dans un mélange de 20 ml de solvant isobutanol-éthanol et 20 ml de potasse alcoolique introduits successivement à l'aide d'une pipette graduée. On ajoute ensuite 3 à 5 gouttes de la solution de phénol phtaléine.

La titration se fait sous agitation en versant goutte à goutte la solution 0.5 N d'acide chlorhydrique jusqu'à décoloration. On effectue en parallèle une réaction à blanc dans les mêmes conditions mais sans matière grasse pour titrer la potasse en jeu.

Les résultats s'expriment comme suit (Lecoq, 1965):

- L'indice d'acide est calculé comme suit:

$$\text{Ia (en mg de KOH /g)} = (V_{\text{HCl témoin}} - V_{\text{HCl essai}}) \cdot N \cdot \text{PM}_{\text{KOH}} / P$$

P: prise d'essai (g)

N : normalité de l'HCl

V: volume (ml)

- L'acidité oléique A (%):

Puisque le rapport entre le poids moléculaire de l'acide oléique et celui de la potasse est, à un facteur de dix près, de 0.5, le nombre donnant l'acidité oléique A est pratiquement la moitié de celui trouvé pour l'indice d'acide, donc l'acidité oléique peut être obtenue directement par la formule suivante (Karleskind et al., 1992) :

$$A\% = 1/2 \cdot \text{Ia}$$

Cependant, il existe une relation plus pratique pour le calcul de l'acidité oléique (Lecoq, 1965):

$$A \% (\text{A.G.L en g /100g}) = (V_{\text{HCl blanc}} - V_{\text{HCl essai}}) M / 20 P$$

M: masse molaire de l'acide oléique = 282 g/mole

#### b. pH :

La mesure du pH consiste à plonger l'électrode du pH mètre dans l'échantillon et lire la valeur enregistrée sur l'écran.

#### c. Indice de peroxyde:

L'indice de peroxyde représente le nombre des milliéquivalents d'oxygène peroxydique lié par kg de graisse ou d'huile et déterminé dans les conditions de travail décrites (Fuhrer et al., 2005).

L'indice de peroxyde est déterminé selon le mode opératoire suivant (Lecoq, 1965) :

On introduit dans un Erlen Meyer 2 g d'huile étudiée, on ajoute 10 ml de chloroforme et on fait agiter pour dissoudre l'huile, on verse ensuite 15 ml d'acide acétique et 1 ml de la solution d'iodure de potassium et on agite pendant 1 minute.

L'Erlen est ensuite bouché et placé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 5 minutes ; après cette durée, on ajoute 75 ml d'eau distillée exempte de cuivre et d'oxygène et on agite énergiquement, ensuite la titration est réalisée, après l'ajout de quelques gouttes d'empois d'amidon, par le thiosulfate de sodium 0.002 N.

Parallèlement, on effectue une réaction à blanc.

Les résultats s'expriment comme suit (Lecoq, 1965):

$$I_p = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) 80 / 5 P (\mu\text{g d'O}_2 / \text{g})$$

V : volume de thiosulfate de sodium (ml)

P : prise d'essai (g).

#### d. Indice de saponification

L'indice de saponification (Is) est la quantité de potasse en milligrammes nécessaire pour saponifier un gramme de corps gras (Morelle, 1965).

L'indice de saponification est déterminé selon le mode opératoire suivant (Lecoq, 1965) : Dans un Erlen Meyer, on introduit 1 g d'huile et 25 ml de potasse alcoolique, on agite pour dissoudre puis on porte le mélange à ébullition au bain marie bouillant pendant 15 à 30 minutes en agitant de temps à autre.

On verse ensuite 3 à 5 gouttes de phénol phtaléine et on titre l'excès de potasse avec l'acide chlorhydrique 0.5 N jusqu'à décoloration.



On effectue parallèlement une réaction à blanc dans les mêmes conditions que précédemment décrites mais sans matière grasse pour titrer la solution de potasse en jeu.

L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante:

$$I_s = (V_{\text{HCl témoin}} - V_{\text{HCl essai}}) N_{\text{HCl}} PM_{\text{KOH}} / P$$

$$PM_{\text{KOH}} = 56.1 \text{ g/mole}$$

$$N_{\text{HCl}} = 0.5 \text{ N}$$

P: prise d'essai (g)

#### e. Indice d'iode:

L'indice d'iode est défini par le nombre de gramme d'iodes fixés par 100 g de corps gras, il mesure le degré d'insaturation (Morelle, 1965).

Diverses techniques ont été mises en point, trois méthodes ont été retenues par l'UICPA : la méthode de Wijs au chlorure d'iode, la méthode de Hanus au bromure d'iode et la méthode de Hübl à l'iode en présence de chlorure mercurique comme catalyseur. Au cours de notre étude, on a utilisé la méthode Hübl.

La détermination de cet indice nécessite la préparation du réactif de **Hübl** 24 heures à l'avance et le conserver à l'abri de la lumière. Sa préparation consiste à dissoudre d'une part 25 g d'iode dans 500ml d'alcool éthylique pur à 96° ; et d'autre part 20 g de chlorure mercurique (bichlorure de mercure) dans la même quantité d'alcool. Le réactif est obtenu par mélange à volumes égaux des deux solutions précédentes (Lecoq, 1965).

L'indice d'iode est déterminé selon le mode opératoire suivant (Lecoq, 1965) : On pèse 0.3 g d'huile dans un Erlen Meyer et on la dissout dans 10 ml de tétrachlorure de carbone, puis on ajoute 25 ml de réactif de Hübl, on fait boucher et agiter l'Erlen. Cette préparation est abandonnée à l'obscurité pendant 12 à 24 heures.

On effectue simultanément une réaction à blanc sans matière grasse.

Après la durée citée précédemment, on ajoute 20 ml de la solution d'iodure de potassium à 30 % et 300 ml d'eau distillée. La titration de l'iode libéré se fait par le thiosulfate de sodium 0.1 N en présence d'empois d'amidon. A noter qu'il faut agiter énergiquement à la fin du dosage pour permettre à l'iode dissous dans le tétrachlorure de carbone de repasser en solution aqueuse.

L'indice d'iode est exprimé par la formule suivante:

$$I_i = 1.269 (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) / P$$

P: prise d'essai (g);

V : le nombre de ml de thiosulfate de sodium 0.1% versé dans le blanc;

V: le nombre de ml de thiosulfate de sodium 0.1% nécessaire pour le dosage proprement dit.

#### **f. Recherche du glycérol :**

Le glycérol est l'alcool de la plupart des aliments gras et de toutes les matières grasses alimentaires. La mise en évidence de ce composé se base sur la décomposition des triglycérides au moyen d'une base, puis la formation de sels de cuivre des acides gras libérés qui donnent une couleur bleue verte (Tremolieres et *al.*, 1984).

Le glycérol est mis en évidence selon la technique suivante : On introduit dans un tube à essai une goutte d'huile d'olive étudiée, on ajoute ensuite à l'aide d'une pipette graduée 3 ml de la soude 5 % dans l'alcool puis 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre saturé (Lecoq, 1965).

Une réaction à blanc est préparée dans les mêmes conditions en mettant à la place d'huile du glycérol.

#### **II.2.1.1. 2. Critères physiques :**

Nôtre étude a concerné également la détermination de quelques paramètres physiques ; en effet, la détermination de ces paramètres n'est pas parmi les principaux objectifs de nôtre travail, cependant, elle peut apporter quelques informations sur la qualité des échantillons étudiés.

##### **a. Teneur en eau et en matières volatiles :**

10 g d'échantillon sont pesés dans un creuset déjà séché et pesé, le creuset contenant l'échantillon à tester est laissé pour une heure dans l'étuve fixée à 103 °C. Ensuite, cette portion est laissée refroidir puis pesée.

Les opérations de chauffage, de refroidissement et de pesage sont répétées plusieurs fois et ceci en utilisant des périodes successives de 15 minutes jusqu'à ce que la perte en masse entre deux pesés successives est nulle (Lecoq, 1965).

La teneur en eau et en matières volatiles est ainsi exprimées en % en masse égale à :

$$W = (m_1 - m_2) 100 / (m_1 - m_0).$$

$m_0$  : masse en gramme du creuset vide (g) ;

$m_1$  : masse en gramme du creuset et du portion à tester avant chauffage (g);

$m_2$  : masse en gramme du creuset et du résidu après chauffage (g).

##### **b. Mesure de la teneur en impuretés insolubles :**

Un échantillon de 10 g est pesé ( $m_0$ ) dans un bécher, puis il est traité par un excès d'hexane et filtré au moyen d'un papier filtre.

Le filtre et le résidu qu'il contient sont ensuite lavés avec le même solvant pour assurer la solubilisation de la matière grasse, ce filtre est pesé ( $m_2$ ). Il est porté au séchage à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  puis pesé ( $m_1$ ) (Lecoq, 1965).

La teneur en impuretés insolubles est exprimée comme suit :

$$\text{Impureté (\%)} = (m_2 - m_1) 100 / m_0$$

$m_0$  : masse en gramme de la prise d'essai ;

$m_1$  : masse en gramme du creuset filtrant une fois séché à l'étuve ;

$m_2$  : masse en gramme du creuset filtrant et du résidu sec.

### c. Densité relative :

La densité relative d'une huile ou d'une matière grasse est le quotient de la masse dans l'atmosphère d'un certain volume de cette huile par la masse du même volume d'eau à  $20^\circ\text{C}$ .

Une fiole de 20 ml est nettoyée, séchée puis pesée ( $m_0$ ), ensuite, elle est remplie par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et placée dans un bain à  $20^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes. Après cette période, la fiole est retirée et bien essuyée puis pesée, la masse ( $m_1$ ) est notée. On refait le même essai avec l'huile d'olive (échantillon étudié). La masse pesée est notée  $m_2$  (CACQE).

La densité relative est exprimée comme suit :

$$D (\text{g/cm}^3) = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

$M_0$ : masse de la fiole vide (g);

$M_1$ : masse de la fiole pleine d'eau (g);

$M_2$ : masse de la fiole pleine d'huile (g) ;

D : densité de l'huile à température de  $20^\circ\text{C}$ .

### d. Détermination du point de fusion et de solidification :

En fait, il est difficile de saisir exactement le point de fusion car les corps gras passent par un état pâteux avant d'être liquides. De même, toutes les parties d'un même corps gras naturels ne se solidifient pas à la même température d'où la difficulté également de déterminer le point de solidification (Graille, 2003).

La technique utilisée pour la détermination du point de fusion et point de solidification est celle décrite par Tremolieres et al.,(1984). Pour ce faire, un échantillon d'huile étudiée est introduit dans un tube à essai. L'échantillon est ensuite laissé pendant quelque temps au réfrigérateur en vérifiant l'état de solidification de temps à autre. Dès qu'on observe la prise en masse de l'échantillon, on le retire et on détermine la température de solidification à l'aide d'un thermomètre. Ensuite, le même tube est porté au bain marie tiède, pour la détermination de la température de fusion.

Le point de fusion ne doit pas être supérieur à 43°C pour une graisse alimentaire car elle serait mal digérée (Graille, 2003).

**e. Détermination du point de fumée :**

Le point de fumée d'un corps gras est la température à laquelle une huile chauffée commence à dégager de la fumée. Elle dépend de la teneur en acides gras libres et autres composés volatils (Graille, 2003).

Un volume de 20 ml de l'huile étudiée est transféré dans un creuset. Celui-ci est placé sur une plaque chauffante pour être chauffé jusqu'à ce que la fumée devienne visible.

A ce moment, on enlève le creuset et on mesure par un thermomètre la température de l'huile qui sera approximativement le point de fumée.

**II.2.1.1. 3. Analyse de la composition :**

**a. Dosage des composés phénolique :**

La détermination de la teneur en polyphénol d'huile d'olive est une analyse à extrême importance, compte tenu de leur multiples rôles dans la saveur et dans la stabilité de l'huile (Brune et al., 1991).

Ce dosage nécessite une extraction des polyphénols selon la technique suivante :

**- Extraction des polyphénols de l'huile:**

On réalise d'abord une agitation électrique de l'échantillon étudié pendant 20 à 30 minutes avec un agitateur électrique; puis, à une solution de 5g d'huile + 10ml d'hexane bien mélangée au vortex, 10 ml de mélange méthanol- eau (6v/4v) sont ajoutés et l'ensemble est mélangé à son tour au vortex. Le volume total subit une séparation par centrifugation. La phase inférieure est recueillie, tandis qu'un second mélange méthanol- eau est ajouté à la phase supérieure, tout en répétant le processus de centrifugation. Cette fois-ci, le solvant inférieur est additionné au volume obtenu.

**- Dosage colorimétrique des polyphénols totaux de l'huile:**

Il est difficile de trouver une méthode standard pour la quantification de tous les composés phénoliques dans les aliments. Par ailleurs, les méthodes colorimétriques existantes destinées à mesurer les polyphénols totaux sont basées chacune sur une réaction de certaines classes de composés phénoliques avec le réactif utilisé dans la méthode (Brune et al., 1991).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Folin-Denis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Ryan et al., 1999) :

Dans une fiole de 25ml, un volume de 0,5 ml du réactif Folin-Ciocalteu est ajouté à 0,2 ml de l'extrait concentré en polyphénols. Après 3 minutes, un volume

Les fioles sont maintenues à l'obscurité pendant 90 minutes avant de lire les densités optiques au spectrophotomètre.

La lecture de la densité optique à 765 nm permet de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe étalon dressée à partir des concentrations connues d'acide gallique: 10µg/ml, 20µg/ml, 30µg/ml, 40µg/ml, 50µg/ml, 60µg/ml, 70µg/ml.

#### **b. Détermination de la composition en acides gras par GC-MS :**

La détermination des acides gras y compris les isomères positionnels et géométriques peut être donnée avec une haute résolution et sensibilité dans la colonne capillaire. Ainsi la GC-MS est la seule technique dont le besoin soit considéré pour l'analyse habituelle de la plupart des échantillons des acides gras (Fay, 1998).

Selon Marta *et al.*, (1983), c'est la technique de choix pour la quantification routinière des acides gras, habituellement après sa conversion en esters méthyliques.

En premier on prépare les esters méthyliques selon le mode opératoire suivant (Ollivier *et al.*, 2006 ; C.E n° 796/2002) : Dans un tube à bouchon vissant, on pèse environ 20 mg d'huile, on ajoute 0,5 ml d'heptane et on agite, on ajoute ensuite 0,2 ml de la solution méthanolique 2N d'hydroxyde de sodium, le tube est bouché à l'aide d'un joint et porté au bain thermostaté à 60 °C pendant 30 secondes à 1 minute puis on agite pendant 10 secondes, on ajoute ensuite 0,2ml d'HCl à 2 mole/l, après agitation, on transvase dans un tube en verre, on laisse décanter puis on prélève 100 µl de la phase supérieure dans un tube en verre et on fait évaporer en milieu ventilé . On fait reprendre cette quantité par 50 µl d'heptane. On laisse se séparer jusqu'à ce que la phase supérieure devienne claire.

Enfin la phase supérieure contenant les esters méthyliques est récupérée.

Les esters méthyliques sont injectés dans un chromatographe phase gazeuse de type SHIMADZU QP2010 dans les conditions suivantes :

- Colonne capillaire de type SE30 apolaire avec un diamètre de 0.25µm et 25m de longueur.
- Température : 180 °C (ou gradient de 170 à 200 °C)
- Détecteur : FID
- Solvant : heptane ou hexane
- La phase stationnaire : SE 30 : Diméthyl polysiloxane.
- La phase mobile : Hélium.

### II.2.1.2. Contrôle microbiologique de l'huile d'olive vierge :

L'absence de stérilisation, la longue durée de stockage sans réfrigération et l'utilisation de l'huile d'olive dans l'alimentation sans cuisson ultérieure nous ont amené à étudier la qualité microbiologique de l'huile d'olive vierge.

Cette étude se traduit par des analyses microbiologiques qui renseignent sur la salubrité du produit, elles englobent :

- Une évaluation de la flore mésophile totale (FTAM) qui a une incidence technologique ;
- Une évaluation des coliformes totaux et thermotolérants qui sont des microorganismes à incidence hygiénique ;
- Une évaluation de la flore fongique qui est une cause d'altération des aliments ;
- Une évaluation de la flore lipolytique qui peut causer une altération biochimique (rancissement) ;
- Une évaluation de la flore psychrophile ;
- Une évaluation de la flore lactique pour des objectifs technologiques.

#### a. Préparation des dilutions décimales :

A l'aide d'une pipette stérile, on prélève 1ml de l'huile étudiée. Le volume prélevé est introduit aseptiquement dans un tube contenant 9ml d'eau physiologie stérile, ainsi, on obtient une dilution de  $10^{-1}$ , on fait l'agitation à l'aide d'un vortex électrique pour rendre la dilution homogène. Puis, à l'aide d'une autre pipette stérile, on refait la même opération pour avoir la dilution  $10^{-2}$ . De la même manière, on pousse les dilutions jusqu'à  $10^{-4}$ . L'ensemble des flores ont été recherchées et dénombrées par les techniques de microbiologie classique (Guiraud, 1998):

#### b. Dénombrement de la FTAM :

Après avoir couler et solidifier la gélose PCA, 1ml de la dilution  $10^{-4}$  est étalé en surface. Après une incubation de 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , on dénombre les colonies lenticulaires (Larpent, 1997).

#### c. Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants :

Le dénombrement des coliformes totaux est réalisé sur la gélose lactosée biliée au violet de cristal et au rouge neutre en partant de la dilution  $10^{-3}$ .

L'ensemencement se fait en profondeur en faisant déposer dans une boîte Pétri 1ml de la dilution, puis on fait couler la gélose VRBL chauffée et refroidie à  $45^{\circ}\text{C}$ . L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24-48 heures (Guiraud, 1998).

La même technique s'applique pour le dénombrement des coliformes thermotolérants, la dilution utilisée est  $10^{-2}$  et l'incubation se fait à  $44^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures.

Après incubation, les colonies à considérer comme des coliformes sont violettes, d'un diamètre voisin de 0,5 à 1 mm, et entourées d'un halo de précipité des sels biliaires quant ceux-ci sont modifiés.

**d- Dénombrement des levures et moisissures :**

La recherche et le dénombrement s'effectuent sur le milieu solide, gélose OGA, coulée et solidifiée. 1ml de la dilution  $10^{-3}$  est étalé en surface du milieu. Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 3 à 5 jours (Guiraud, 1998).

**e- Dénombrement de la flore psychrophile :**

La recherche et le dénombrement s'effectuent en surface sur milieu solide en utilisant comme milieu de culture la gélose PCA.. 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  est donc étalé en surface. L'incubation se fait à une température de 4 °C pendant 10 jours.

**f- Dénombrement de la flore lipolytique :**

La capacité de conservation des matières grasses animales ou végétales dépend directement de leur concentration en germes lipolytiques, il est donc très important d'en réaliser le dénombrement.

La recherche et le dénombrement sont basés sur la technique de révélation de la présence de ces colonies par le sulfate de cuivre citée par Bourgeois et Leveau, (1991) et qui présente l'avantage de mettre en évidence les germes présentant une activité lipolytique sur le produit que l'on analyse.

Pour ce faire, un apport de 5% d'huile analysée stérilisée est ajouté au milieu gélosé de base, PCA. L'ensemencement est fait par étalement d'1 ml de la solution mère en surface, suivi d'une incubation à 37°C pendant 3 à 5 jours.

La révélation se fait en inondant les boîtes par une solution saturée de sulfate de cuivre, on rejette le réactif après 15 minutes de contact. La surface de la gélose est rincée soigneusement par de l'eau.

La lipolyse fait apparaître, autours des colonies, des zones bleues vertes dues à la formation des sels de cuivre insolubles des acides gras libérés.

**g- Dénombrement de la flore lactique :**

Le milieu utilisé pour le dénombrement des bactéries lactiques tient compte, dans leur composition, des caractères essentiels de ces germes mais également de leur exigence sur le plan nutritionnel. Ainsi, le dénombrement a été effectué sur le milieu gélosé de Man-Rogosa-Sharpe (MRS).

L'ensemencement s'effectue par étalement d'1 ml de dilution  $10^{-3}$  en surface de la gélose MRS déjà coulée et séchée, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 – 48heures (Larpen, 1997).

Les colonies à dénombrer sont de petites tailles, de couleur blanchâtres et brillantes, à pourtour régulier, elles peuvent apparaître en forme circulaire ou lenticulaire.

### II.2.1.3. Contrôle organoleptiques de l'huile d'olive vierge :

Le règlement (CEE) n° 2568 relatif aux caractéristiques des huiles d'olives prévoit que l'huile d'olive doit faire l'objet d'une dégustation conformément aux normes et aux règlements stricts des essais, faisant intervenir un jury composé des dégustateurs professionnels et d'un responsable.

L'analyse sensorielle repose sur la dégustation des produits et sur l'analyse des réponses sensorielles données par les dégustateurs (Raouix, 1998). Elle comprend trois étapes principales à savoir l'analyse visuelle, olfactive et gustative (C.O.I, 1996) :

#### a. Analyse visuelle :

Son but est d'examiner les trois caractéristiques principales : la clarté, la densité et la couleur.

Pour ce faire, on tient à la lumière une bouteille contenant une quantité d'huile suffisante pour déterminer la couleur et la clarté. Ensuite, le dégustateur doit examiner l'aspect global de l'échantillon présenté cette fois dans un verre, et il doit déterminer la fluidité ou l'onctuosité ; pour ce faire, le dégustateur doit prendre le verre contenant l'huile étudiée puis l'incliner légèrement et dans cette disposition, il le fera tourner entièrement afin d'en mouiller le plus possible la surface intérieure.

#### b. Analyse olfactive :

Le dégustateur hume cet échantillon par inspirations successives intenses et profondes, avec une longue pause entre chaque inspiration étant donné que notre odorat a tendance à s'habituer à une odeur.

Dans ce cas, le dégustateur doit déterminer la nature de l'odeur perçue, son intensité, sa qualité et ses caractères.

Selon Pinatel *et al.*, (2004), deux valeurs sont évaluées : l'intensité et l'harmonie.

#### c. Analyse gustative :

Une fois terminé l'essai olfactif, il doit procéder à l'évaluation de la saveur (ensemble des sensations olfacto-gustatives et tactiles) et la saveur.

Pour ce faire, le dégustateur prend une petite gorgée d'huile, goûtant sa qualité d'une manière hautement professionnelle et compétente afin de discerner les diverses caractéristiques de l'huile. Il est très important de distribuer l'huile sur toute la cavité buccale, depuis la partie antérieure de la bouche et la langue, en passant par les parties latérales et la partie postérieure jusqu'au voile du palais de la gorge.



D'après les directives du C.O.I, (1996), plusieurs caractères doivent être définis, c'est le cas de l'ardence, l'amertume, la consistance comme on peut déduire l'intensité et la qualité des arômes ainsi que la persistance aromatique.

Pour ce faire, on met à la disposition de chaque dégustateur (sujet) une quantité suffisante de l'huile étudiée avec un questionnaire qui informe le sujet sur les points que doit examiner.

Le dégustateur doit remplir le questionnaire soigneusement et doit établir à la fin de chaque jugement une note organoleptique qui allait de 0 à 5 dont :

- 0 : convient à une huile éliminée avec défaut ;
- 1 : éliminée qualité moyenne ;
- 2 : correct ;
- 3 : huile de qualité ;
- 4 : huile remarquable, typique ;
- 5 : huile exceptionnelle.

Cette évaluation est évidemment soumise à la subjectivité du dégustateur, mais celui-ci doit faire intervenir sa connaissance du produit et favorise les arômes complexes et spécifiques de l'olive (Pinatel *et al.*, 2004).

## **II.2.2. Isolement et identification des bactéries lactiques à partir de l'huile d'olive vierge :**

### **II.2.2.1. Préparation des dilutions :**

A l'aide d'une pipette stérile, on prélève 1ml d'huile étudiée. Le volume prélevé est introduit aseptiquement dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique stérile, ainsi, on obtient une dilution de  $10^{-1}$ , on fait l'agitation à l'aide d'un vortex électrique pour rendre la dilution homogène. Puis, à l'aide d'une autre pipette stérile, on refait la même opération pour avoir la dilution de  $10^{-2}$ . De la même manière, on pousse les dilutions jusqu'à  $10^{-4}$  (Guiraud, 1998).

### **II.2.2.2. Isolement et purification :**

La phase préliminaire obligatoire à toute identification est un isolement suivi d'une purification (Bourgeois et Leveau, 1991). L'isolement est réalisé sur le milieu gélosé MRS préalablement coulé et solidifié en portant quelques gouttes de la dilution  $10^{-3}$  à la surface du milieu suivi d'un étalement.

Après une incubation à 37°C pendant 24h, les colonies suspectes sont cultivées individuellement et en double sur le bouillon MRS et le bouillon nutritif.

Pour la purification, on a utilisé la méthode des repiquages successifs : du bouillon MRS ou bouillon nutritif sur gélose MRS jusqu'à l'obtention des colonies de mêmes tailles, mêmes formes et qui renseignent sur la pureté des souches.

Le prélèvement et la remise en suspension se portera uniquement sur des colonies bien distinctes, homogènes et bien développées.

Pour s'assurer de leur pureté, une coloration de Gram suivie d'une observation microscopique est effectuée à chaque étape et pour chaque souche. Les souches ainsi purifiées sont alors conservées au réfrigérateur sur bouillon MRS jusqu'au moment d'utilisation (Jermiji et Rasie, 1978).

### **II.2.2.3. Techniques d'identification :**

Après l'obtention des souches pures, on procède à l'identification qui comporte un certain nombre d'étapes qui sont effectuées dans un ordre déterminé, c'est ainsi que l'identification de nos souches a comporté :

- Etude des caractères cultureux à partir d'un examen macroscopique ;
- Etude des caractères morphologiques et structuraux des cellules à partir d'un examen microscopique ;
- Etude des caractères biochimiques et physiologiques à partir des tests qui se ramènent principalement à la recherche des enzymes ;
- Enfin, l'étude est accomplie par un profil fermentaire des sucres, et l'identification est réalisée par logiciel API LAB.

#### **a. Examen microscopique :**

L'examen microscopique permet d'observer la morphologie des cellules, leur taille ainsi que leur mode de regroupement (Larpent, 1997). Cet examen microscopique est réalisé après coloration sur frottis fixé, la coloration qu'on a effectuée est celle de Gram.

Pour ce faire, on réalise d'abord un frottis par étalement sur une lame d'une goutte de la suspension de la souche étudiée suivi d'un séchage et d'une fixation à la flamme. Ensuite, quelques gouttes de la solution aqueuse de violet de gentiane sont répandues sur le frottis, puis l'excès du violet est jeté après une minute d'action. Le frottis est ensuite recouvert du Lugol ; cette liqueur prend une teinte colorée, on la jette au bout de quelques secondes et on répète l'opération une à deux fois jusqu'à ce que la pellicule modérée n'apparaisse plus. La lame est ensuite décolorée à l'alcool goutte à goutte en l'inclinant au dessus de l'évier, jusqu'à ce que l'alcool ajouté n'ait plus d'action décolorante. Après lavage à l'eau de robinet, le frottis est recoloré à la Fushine pendant une minute, puis lavé à l'eau, séché au buvard et examinée à l'immersion (Guiraud, 1998).

Les bactéries à Gram positif (+) apparaissent en bleu noir et les Gram négatif (-) en rouge rose.

#### **b. Tests physiologiques et biochimiques :**

Ils concernent l'étude de certains aspects des microorganismes qui sont ramenés principalement à la recherche des enzymes mais également l'étude d'autres

propriétés physiologiques telles que la croissance en milieux hostiles (Bourgeois et Leveau, 1991).

#### **b.1. Recherche de catalase :**

Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche de l'eau oxygénée à 10 volumes (Guiraud, 1998).

Pour se faire, une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame et une ose de culture en suspension dense des souches étudiées est émulsionnée ; un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase :



#### **b. 2. Culture à 45°C :**

L'aptitude à la croissance à 45°C est testée en ensemençant pour chaque souche un tube de bouillon MRS. L'incubation se fait à 45°C pendant 24 – 48 heures.

La croissance de la souche thermophiles est appréciée par le trouble du milieu.

#### **b. 3. Recherche de l'arginine dihydrolase :**

La mise en évidence de l'activité enzymatique due à l'arginine dihydrolase est étudiée sur milieu Moeller contenant un indicateur coloré, additionné de 0,5-1% d'arginine. Chaque tube est ensemenché à partir d'une culture dense de la souche étudiée. L'incubation se fait à 37°C pendant 18-24 heures (Guiraud, 1998).

L'activité enzymatique se traduit par le virage vers l'alcalinité de l'indicateur.

#### **b.4. Production de l'acétoïne :**

La production d'acétoïne est étudiée sur le lait écrémé stérile ensemenché à partir d'une culture dense et incubé à 37°C pendant 48 heures (Bourgeois et Leveau, 1991).

Après l'incubation, on effectue la réaction de Voges-Proskauer , pour ce faire, le milieu est additionné de quelques gouttes de réactif VPI (alpha naphthol) et quelques gouttes de réactifs VPII (la soude), suivi d'une agitation intense.

Après un délai de 10 minutes, une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol. Cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude (VP II) et se combine avec l' $\alpha$ -naphthol (VPI) en donnant un complexe de couleur rouge.

#### **b. 5. Recherche de la réductase :**

La mise en évidence du pouvoir réducteur est étudiée en utilisant des accepteurs organiques, c'est le cas de teinture de tournesol (Guiraud, 1998). Le milieu est préparé à partir du lait écrémé stérile préparé lui-même à raison de 12% additionné de teinture de tournesol jusqu'à l'obtention d'une couleur violette, le pH est ajusté à 7,3 (Bourgeois et Leveau, 1991).

L'ensemencement est effectué à partir d'une culture dense de la souche étudiée, suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 heures.

Ce milieu permet d'observer plusieurs types de réactions :

- Attaque du lactose avec acidification (coagulation de la caséine et virage au rouge) ;
- Attaque de la caséine avec alcalinisation (virage au bleu) ;
- Peptonisation de la caséine après ou en dehors de toute coagulation (éclaircissement du milieu ou dégradation du coagulant) ;
- Réduction du colorant.

#### **b. 6. Type fermentaire :**

Le test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il est défini de façon simple par le test de Gibson – Abdel Malek qui traduit un dégagement de CO<sub>2</sub> caractéristique des espèces hétéro fermentaires (Bourgeois et Leveau, 1991).

Le milieu de culture préalablement fondu, refroidi et solidifié en position verticale est ensemencé par les souches étudiées, puis on coule en surface un bouchon de gélose blanche stérile. L'incubation se fait à 37°C pendant plusieurs jours.

Le développement d'une bactérie homo fermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de gélose. Le gaz produit par un métabolisme hétéro fermentaire pousse au contraire le bouchon de gélose vers le haut du tube.

#### **b. 7. Croissance sur lait de Sherman à 0,1 et à 0,3% :**

Sur ce milieu, deux caractéristiques peuvent être étudiées ; le pouvoir coagulant et le pouvoir réducteur. On prépare le lait de Sherman à partir du lait écrémé préparé à raison de 12% additionné de bleu de méthylène à raison de 0,1% et 0,3% (Bourgeois et Leveau, 1991).

Ces milieux sont ensuite ensemencés à partir d'une culture dense des souches étudiées et incubées à 37°C pendant 24 heures. Le bleu de méthylène est décoloré par les germes possédant une activité réductrice.

En effet, ces germes sont capables, en se multipliant, de modifier le potentiel d'oxydoréduction du lait de façon suffisante pour transformer le bleu de méthylène en son leuco- dérivé incolore (Larpent, 1997).

Il persiste souvent une zone colorée au contact du lait avec l'air, en fait, le leucodérivé incolore et sous l'influence de l'oxygène atmosphérique reprend sa coloration bleue, c'est une réoxydation qui entraîne une recoloration.

#### **b. 8. Culture sur bouillon hypersalé :**

On teste la croissance des bactéries lactiques en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium, pour ce faire, on prépare des milieux à 4% et à 6,5% de NaCl (Bourgeois et Leveau, 1991).

Les bouillons sont ensemencés par les souches étudiées. Après une incubation à 37°C pendant 24 heures, on apprécie la croissance par le trouble du milieu.

#### **b. 9. Recherche de la citratase :**

Cette enzyme est mise en évidence par culture sur gélose semi solide au lait citraté. La gélose est ensemencée dans la masse et incubée à 37°C pendant 3 à 5 jours.

La décomposition du citrate se manifeste par la production du gaz dans la masse du milieu, c'est la première réaction de transformation du citrate en diacétyl et acétoïne (Bourgeois et Leveau, 1991).

#### **b. 10. Caractérisation du type d'hémolyse :**

Le caractère hémolytique est étudié par ensemencement d'une gélose au sang de cheval. Après incubation pendant une période de 24 – 48 heures à 37°C, le type d'hémolyse est examiné. Trois aspects peuvent se présenter (Bourgeois et Leveau, 1991) :

- Colonies entourées d'une zone franche d'hémolyse : hémolyse  $\beta$  ;
- Le milieu entourant la colonie devient verdâtre, ce qui résulte de la production de peroxyde d'hydrogène par la bactérie. On est en présence d'une hémolyse  $\alpha$  ;
- Enfin, le milieu n'est pas modifié : c'est une hémolyse  $\gamma$ .

#### **b. 11. Profil fermentaire des sucres :**

Le métabolisme fermentaire des bactéries lactiques engendre la formation des produits acides. L'étude est basée sur la modification du pH en utilisant un milieu semi solide additionné d'un indicateur de pH sensible. Pour ce faire, des tubes de milieu MEVAG sont régénérés par chauffage au bain marie, chaque tube est additionné d'un sucre, puis solidifié (Guiraud, 1998).

Ils sont ensuite ensemencés par piqûre centrale au fil droit et recouverts d'une couche d'huile de vaseline stérile. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 – 24 heures. Le résultat positif se traduit par le virage de la couleur vers le jaune.

#### **c. Identification par logiciel :**

Les résultats obtenus sont utilisés pour replacer le microorganisme étudié dans une classification avec la détermination de l'espèce. L'ensemble des résultats est traité par informatique, un caractère positif est noté 1, un caractère négatif est noté 0, chaque microorganisme peut donc être caractérisé par une suite de chiffres : 1101001... la taxonomie numérique établit à partir de ces nombres caractéristiques un coefficient de similitude qui exprime l'affinité entre deux souches.

On peut ensuite établir la distance taxonomique entre deux souches et, de proche en proche, entre toutes les souches (Bourgeois et Leveau, 1991).

Ainsi, le traitement informatique de nos résultats est réalisé par logiciel API LAB au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et génétique de l'université ES-SENIA ORAN.

### II.2.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques :

#### II.2.3.1. Aptitude acidifiante :

La vitesse d'acidification est un critère important en technologie laitière, on cherche le plus souvent des souches rapidement acidifiantes (Bourgeois et Leveau, 1991). Pour apprécier ce critère, le lait écrémé reconstitué est préparé à raison de 12 % puis stérilisé. Le milieu est ensuite distribué dans des flacons à raison de 100 ml par flacon.

Chaque souche est inoculée par une öse de culture dans le lait préparé puis incubée à 37°C.

Pour suivre la vitesse d'acidification des différentes souches, on procède à la détermination du pH ainsi qu'au dosage de l'acide lactique formé chaque deux heures d'incubation (Accolas et al., 1977).

**a. Détermination du pH :** Pour suivre la vitesse d'abaissement du pH du laitensemencé précédemment, un volume du laitensemencé est prélevé, on plonge l'électrode du pH mètre dans la prise d'essai, le résultat est lu directement sur l'écran (Desmazead, 2001).

**b. Détermination de l'acidité :** L'évaluation du pouvoir acidifiant est estimé par mesure de l'acidité dornic du produit (Accolas et al., 1977).

Un échantillon de 10 ml est placé dans un bécher en présence de 0,1 ml de phénol phtaléine. L'acide lactique est titré par la soude dornic jusqu'au virage d'une couleur rose pale.

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

$V_{\text{NaOH}}$  : volume de soude utilisé pour titrer les 10 ml de l'échantillon.

#### II.2.3.2. Activité protéolytique :

Celle-ci est recherchée sur milieu liquide et sur milieu solide (Vuillemand, 1986).

Pour la recherche de l'activité protéolytique sur milieu solide, nous avons imbibé des disques de papier Watman stériles dans des suspensions bactériennes à tester, ces derniers sont déposés à la surface de la gélose YMA déjà coulée et solidifiée. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

La présence d'une activité protéolytique se traduit par l'apparition des zones claires autour des disques.

Pour la recherche de l'activité protéolytique sur milieu liquide, on additionne à un milieu de bouillon MRS du lait écrémé à raison de 2%, ce milieu est ensuite distribué dans des tubes à essai stériles à raison de 5ml par tube. Après ensemencement du milieu, on procède à une incubation à 37 °C pendant 24 heures.

La protéolyse se traduit par l'éclaircissement du milieu.

### II.2.3.3. pouvoir texturant :

Certaines souches des bactéries lactiques ont la faculté de synthétiser des exopolysaccharides, glucanes (dextranes) et fructosanes qui constituent la capsule cellulaire (Bourgeois et Leveau, 1991).

Différentes voies sont possibles pour apprécier cette activité, au cours de notre étude, on l'a évaluée sur milieu solide où on peut relier la présence d'exopolysaccharides à l'aspect des colonies sur milieu gélosé renferme 5 % de saccharose.

Pour ce faire, la souche étudiée est ensemencée par étalement à la surface d'une gélose MRS hypersaccharosée préalablement coulée et solidifiée. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

La production de polysaccharides se traduit par l'apparition des colonies larges et gluantes (Bourgeois et Leveau, 1991).

### II.2.3.4. Pouvoir antagonistique :

En industries laitières, l'étude de ces interactions est très importante, elle constitue une des bases de la reconstitution des levains mixtes (Juillard *et al.*, 1998).

Pour l'étude de ces interactions, on a utilisé la méthode des puits, pour ce faire, la gélose MRS est préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes Pétri, puis à l'aide des cloches stériles, on réalise des puits à raison de 7 puits par boîte.

Chaque souche est ensuite mélangée à un apport de gélose MRS par du quelle on remplit les puits préalablement préparés. La souche à tester est mélangée à un autre apport de gélose MRS (v/7v) puis coulée à la surface de la gélose contenant les puits. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Fleming *et al.*, 1975).

L'antagoniste fait apparaître autour des puits des zones d'inhibitions alors que la symbiose se traduit par l'absence de ces dernières.

### II.2.4. Reconstitution de levains :

Pour la reconstitution de nos levains, nous avons suivi la méthode de préparation des levains traditionnels en utilisant comme milieu de culture le lait écrémé stérile préparé à raison de 120 g/l qui malgré qu'il n'est pas un milieu optimisé pour la croissance des bactéries lactiques (Eck et Gillis, 1997), reste encore très employé dans l'industrie fromagère pour la production des ferments.

Nous avons opté pour des souches servant de levains pour la production de fromages frais. Les aptitudes demandées des associations, sont l'aptitude symbiotique, l'aptitude acidifiante et celle aromatisante. Ainsi, trois ferments mixtes ont été préparés dont la composition est la suivante:

- Ferment1 : *Lc. lactis* ssp *diacetylactis* (HC3) et *Lc. lactis* ssp *cremoris* (HT4).
- Ferment2 : *Lc. lactis* ssp *diacetylactis* (HC3) et *Lc. lactis* ssp *lactis* (HC9)
- Ferment3 : *Lc. lactis* ssp *diacetylactis* (HC3) et *Leu. mesenteroides* ssp *mesenteroides*.

Pour ce faire, chaque flacon du lait écrémé stérilisé contenant 50 ml préparé préalablement estensemencé par des souches comme décrit précédemment. L'incubation se fait à 37 °C. Les aptitudes technologiques de chaque ferment ont été évaluées.

**II.2.4.1. Aptitude acidifiante :** La mesure du pH et le pouvoir acidifiant ont été déterminés selon la méthode décrite en II.2.3. Les deux paramètres ont été estimés après 2 heures, 4 heures, 6 heures et 24 heures.

**II.2.4.2. Aptitude texturante :** L'aptitude texturante du levain reconstitué est testé sur milieu liquide, pour ce faire, 10 ml du lait écrémé stérilisé sont ajoutés de saccharose à raison de 12 %, ce lait est ensuiteensemencé par chacun des ferments.

Après une incubation de 24heures à 37°C, l'activité texturante du ferment se traduit par l'aspect filant de lait.

**II.2.4.3. Aptitude aromatisante :** La fermentation lactique ne conduit pas seulement à la production d'acide lactique, il y a formation de quantité plus ou moins importantes de produits secondaires qui participent au développement de la saveur et de l'arôme du produit (Schmidt et al., 1994).

Pour tester l'aptitude aromatisante du ferment, nous avons appliqué une technique globale de détermination des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Bourgeois et Leveau, 1991). La technique est appliquée directement sur des cultures en lait pour obtenir des aromatogrammes caractéristiques des souches. La technique passe par les étapes suivantes (Larpen, 1997) :

**a. Distillation sous vide poussée :** On prépare d'abord l'échantillon et pour se faire, 200 ml du lait écrémé préparé à raison de 12 % estensemencé par le ferment étudié, l'incubation se fait à 37 °C pendant 18 heures.

Après ce temps d'incubation, l'échantillon est placé dans un ballon immergé dans un chauffe ballon. Un piège à froid rempli d'eau froide permet la condensation des molécules aromatiques sur sa paroi. La distillation est réalisée pendant 1h 30 minutes et conduit à l'obtention d'environ 100 ml de distillat.

**b. Extraction liquide -liquide :** Une fois le distillat est récupéré, on procède à une extraction liquide-liquide par un solvant d'éther éthylique. La figure 1 représente le chemin expérimental de cette extraction



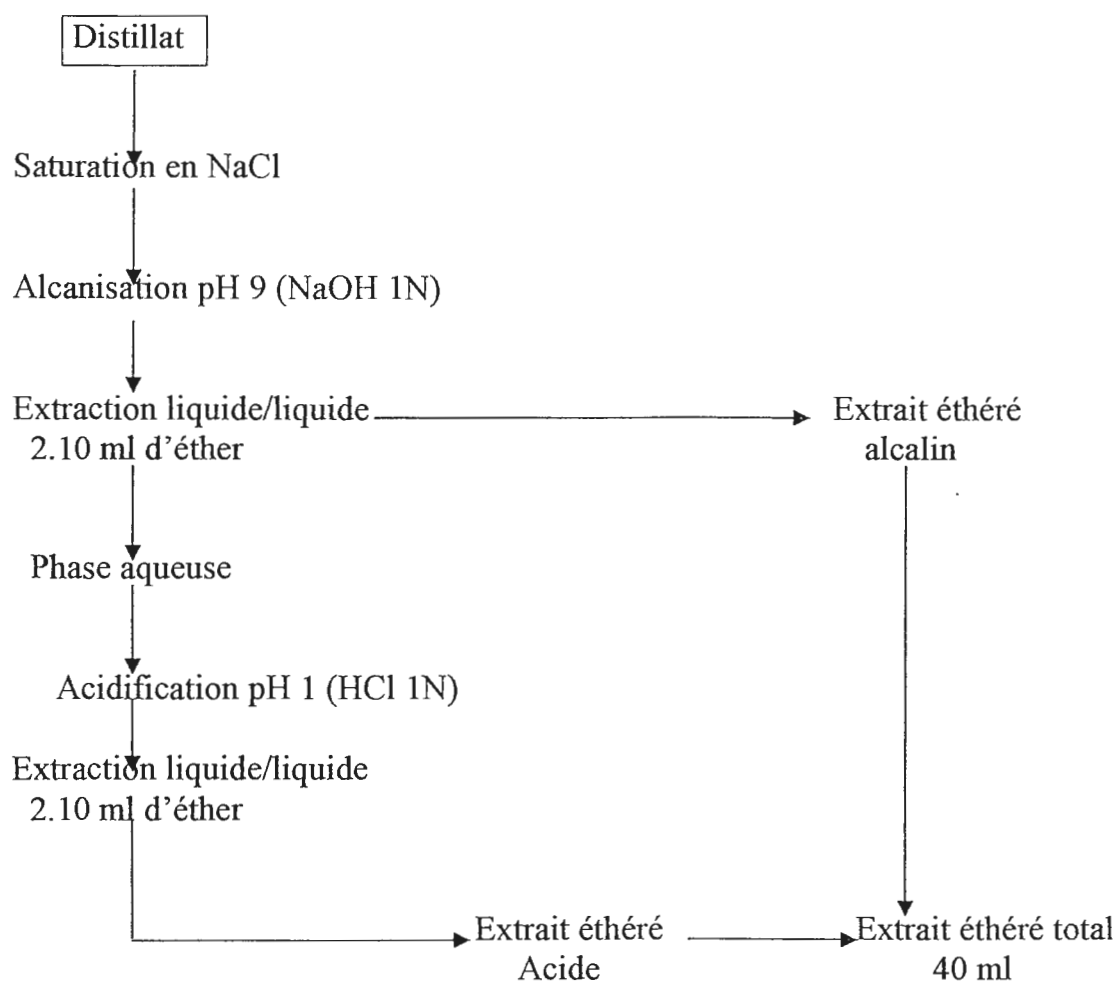


Figure 1 : Extraction liquide/liquide (Larpent, 1997)

**c. Concentration :** La concentration est réalisée en faisant appel à un séchage par du sulfate de sodium anhydre puis une filtration suivie d'une évaporation de ce dernier dans un bain marie réglé à 40 °C.

Après cette étape, 2 ml de concentré sont ainsi récupérés et seront prêts à l'analyse chromatographique.

**d. Analyse chromatographique :** Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Chromatographe phase gazeuse de type SHIMADZU QP2010 ;
- colonne capillaire de type SE30 apolaire avec un diamètre de 0.25µm, longueur 25mètres.
- détecteur FID à une température 250 °C ;
- gaz hydrogène : 35 ml/mn ;
- phase stationnaire : SE 30 : Diméthyl polysiloxane.
- volume d'échantillon injecté : 1 µl.

Programmation de la température :

- 2 °C/mn pendant 10 mn de 35 °C à 55 °C ;
- 5 °C/mn de 55 °C à 230 °C.

## II.2.5. Application en industrie fromagère :

### II.2.5.1. Fabrication d'un fromage frais :

La reconstitution du ferment mésophile ainsi que l'étude de ses aptitudes permettent son application en industrie fromagère. Nous avons choisi de fabriquer un fromage frais Demi-sel en suivant le protocole suivant :

**a- Préparation de la matière première :** Une production de fromage de qualité dépend d'une meilleure maîtrise de la préparation des laits qui sont utilisés comme matières premières (Vignola, 2002), selon Mahaut *et al.*, (2000), elle est devenue une étape primordiale du procédé de fabrication. La préparation de notre matière première comprend :

**a.1.Ecrémage :** Le lait frais est tout d'abord écrémé, cet écrémage peut être entier ou partiel. Dans notre cas, nous avons utilisé la méthode traditionnelle (Collection FAO, 1998) pour aboutir à un écrémage partiel.

Pour ce faire, le lait est placé dans un endroit frais, soit une réfrigération pendant 12 heures, après cette période et parce que la densité de la crème est inférieure à celle du lait (Vignola, 2002), nous avons obtenu à la surface de ce dernier une couche plus ou moins épaisse qui représente la crème.

Au moyen d'une louche, on fait écarter cette crème, le lait obtenu contient une quantité moindre en matière grasse d'où l'appellation, partiellement écrémé.

**a.2.Enrichissement :** Afin d'améliorer l'aptitude à la coagulation qui a une influence sur le rendement fromager et la qualité du fromage, l'enrichissement du lait est capital (Mahaut *et al.*, 2000).

Dans notre cas, l'enrichissement est effectué par l'ajout du lait demi écrémé en poudre. Pour se faire, un apport de 15 % du lait en poudre est ajouté à un litre du lait préparé préalablement, puis l'homogénéisation est effectuée à l'aide d'une louche afin de diminuer le diamètre des gouttelettes de la phase dispersée (Vignola, 2002).

**a. 3. Pasteurisation :** Une fois le lait est enrichi, on passe à sa pasteurisation, ce procédé vise à détruire les microorganismes contenus naturellement dans le lait, il apporte une sécurité plus importante sur le plan hygiénique.

Le lait est chauffé à 75°C pendant 30 secondes, cette pasteurisation est ensuite suivie d'un refroidissement jusqu'à 24 °C. Cette étape sera préliminaire et préparative pour l'ensemencement.

**b. Maturation – caillage :** Toutes les catégories du fromage sont concernées par la fermentation lactique avec des gradients variés selon la technologie. Les

deux phénomènes, coagulation par la présure et acidification sont combinées et concernent le début de l'élaboration d'un fromage quoi qu'il soit (Moge, 2004).

Le lait refroidi à 24°C, estensemencé par le levain mésophile reconstitué préalablement à raison de 4 % et ceci sous agitation. La maturation se fait en apportant ce laitensemencé à l'incubation à 37 °C pendant 2 heures.

Après ce temps de maturation, le lait est retiré puis emprésuré à raison de 0.1%. On remet ensuite la préparation à l'étuve pour compléter la maturation pendant une durée de 18 heures.

**c. Obtention du coagulum :** Après 18 heures, nous avons obtenu un coagulum de structure homogène dont sa séparation manuelle de la phase liquide qui représente le lactosérum est possible, c'est-à-dire que le gel obtenu laisse échapper spontanément une quantité importante du liquide.

Donc, avant de passer à l'égouttage, nous avons d'abord séparé le lactosérum du coagulum par la récupération de ce dernier.

**d. Egouttage :** C'est un phénomène qui permet d'accélérer la synérèse puis de séparer le lactosérum du caillé. Pour pratiquer l'égouttage, nous avons d'abord réalisé un découpage et puis un brassage du coagulum, ces traitements mécaniques permettent de mieux exsuder le lactosérum.

Nous avons effectué un découpage en utilisant un couteau et en faisant diviser la surface du gel en cubes et en portions fines et de tailles presque égales. Ce traitement a pour but d'accroître la surface d'exsudation du lactosérum.

Puis, nous avons complété le découpage par un brassage en faisant agiter les grains du caillé dans le lactosérum. Cette opération a pour but d'empêcher les grains de s'agglomérer en masse ce qui ralentirait l'évacuation du lactosérum (Vignola, 2002).

Au cours de cette étape, le salage est pratiqué à raison de 1% suivi d'un brassage permettant l'homogénéisation et la répartition du sel dans l'ensemble de la masse du gel.

Le sel ajouté permet de déterminer la saveur finale du fromage mais également de compléter l'égouttage sous l'effet de la pression osmotique et d'inhiber le développement des germes pathogènes ou d'incidences technologiques.

L'égouttage est accompli en utilisant une toile de fines mailles à l'intérieur de laquelle on met le gel déjà brassé et découpé en exerçant une certaine pression ainsi, l'évacuation du reste du lactosérum sera plus efficace.

**e. Préparation finale et conditionnement :** Une fois l'égouttage est achevé, on procède à la récupération du fromage à l'aide d'une louche d'où le nom du fromage frais moulé à la louche.

Le conditionnement de notre fromage est effectué aseptiquement et dans des pots stériles, étanches aux gaz et aux microorganismes, donc, au moyen d'une louche, on remplit les pots et on les scelle par du papier aluminium. A ce moment, notre fromage est prêt à la consommation.

**f. Stockage et conservation :** Une fois les pots sont remplis et scellés, ils sont stockés au réfrigérateur à une température de 4 °C et on ne doit dans aucun cas rompre la chaîne du froid.

**g. Calcul du rendement :** Le rendement fromager est l'une des données les plus importantes pour une fromagerie, en fait, plusieurs facteurs peuvent exercer ses influences sur le rendement fromager, c'est le cas de la qualité notamment physicochimique du lait utilisé comme matière première ou même la quantité du lait qui entre dans la préparation du ferment, de l'égouttage, des ingrédients entrant dans la composition (Vignola, 2002).

Pour évaluer le rendement de nôtre fabrication, nous avons établi le rapport entre la quantité du fromage obtenue et la quantité du lait utilisée, cette dernière est exprimée en gramme en tenant compte la masse du lait d'enrichissement :

$$R \% = MF / ML . 100.$$

MF : masse du fromage obtenu

ML : masse du lait mis en œuvre

R : rendement.

#### II.2.5.2. Contrôle de la qualité du fromage frais:

##### a. Contrôle au cours de la fabrication :

Au cours des différentes étapes de la fabrication, le contrôle concerne les paramètres physicochimiques, pour se faire, nous avons suivi l'évolution du pH et de l'acidité ainsi que d'autres paramètres, ce contrôle a lieu :

- Au niveau de la matière première, nous avons évalué en plus du pH et l'acidité, la teneur en matière sèche (MS), en matière minérale (MM) et en matière organique (MO) ainsi que la densité.

- Le deuxième point de contrôle a lieu après deux heures de la fermentation lactique et avant l'ajout de la présure en évaluant le pH et l'acidité ;

- Le troisième point de contrôle est réalisé après l'action de la présure, le contrôle concerne le pH et l'acidité, à noter que ces derniers sont évalués en procédant du lactosérum évacués au cours de cette étape.

- Le dernier point de contrôle concerne le produit fini en déterminant, le pH, l'acidité, la teneur en matière sèche, en matière minérale et en matière organique.

**a. 1. Mesure du pH et dosage de l'acide lactique :** La mesure du pH et le dosage de l'acide lactique ont été réalisés selon les techniques décrites en II.2.3

**a. 2. Densité :** Elle est déterminée à partir du calcul de la masse volumique du lait, pour se faire, on détermine la masse d'un volume de 10 ml du lait. La densité est le rapport entre la masse calculée et son volume, elle est exprimée en  $g/Cm^3$  :

$$D (g/Cm^3) = M/V$$

**a.3.Matière sèche (MS) :** Un échantillon de 10 ml est placé dans un creuset à poids connu ( $M_0$ ), l'échantillon est ensuite placé dans un four à  $103 \pm 2$  °C jusqu'à ce qu'on aura uniquement un résidu sec, à ce moment, on détermine le poids du creuset avec le résidu sec ( $M_1$ ), la matière sèche est exprimée en pourcentage comme suit (Adrian et al., 1998) :

$$MS (\%) = M_0 - M_1$$

**a.4. Matière minérale :** Elle représente la teneur en cendres de l'échantillon, pour sa détermination, un échantillon de 10 ml est transféré dans un creuset et pesé  $M_0$ , celui-ci est ensuite introduit dans un four à moufle que l'on porte à 350 °C pendant quelques minutes. Le résidu doit être blanc et non fondu, il est pesé ( $M_1$ ) pour obtenir la masse des cendres totales (Adrian et al., 1998) .

La matière minérale s'exprime en pourcentage comme suit :

$$MM (\%) = M_0 - M_1$$

**a. 5. Matière organique :** La matière sèche d'un aliment contient de la matière organique et la matière minérale, la matière organique représente donc la différence entre la matière sèche et la matière minérale puisque le principe de la détermination de la matière minérale est basé sur la destruction de la matière organique (Adrian et al., 1998), elle est exprimée en pourcentage :

$$MO (\%) = MS - MM$$

**b. Contrôle au cours du stockage :**

Le contrôle au cours du stockage concerne la qualité physicochimique en évaluant les paramètres décrits précédemment, la qualité microbiologique qui

concerne les germes pathogènes et d'incidence hygiéniques et la qualité organoleptique pour évaluer l'acceptabilité du produit.

Ces contrôles sont effectués chaque 5 jours pendant toute la durée de stockage, ainsi :

- $T_0$  correspond au premier jour de fabrication (produit fini) ;
- $T_1$  : après 5 jours de fabrication ;
- $T_2$  : après 10 jours de fabrication ;
- $T_3$  : après 15 jours de fabrication.

**b. 1. Contrôle physicochimique :** Il vise à déterminer essentiellement l'évolution du pH, l'acidité, la matière sèche, la matière minérale ainsi que la matière organique. Les mêmes techniques décrites précédemment sont appliquées.

#### **b. 2. Contrôle microbiologique :**

- **Préparation des dilutions décimales :** Les échantillons à contrôler sont ouverts dans la zone aseptique, puis au moyen d'une cuillère préalablement stérilisée, on mélange la masse du fromage, on transfère ensuite 1 g du fromage dans un tube stérile contenant 9ml d'eau physiologique stérile, le tube est ensuite fermé aseptiquement et mélangé afin d'obtenir une solution homogène qui est la solution mère avec une dilution de  $10^{-1}$ , à l'aide d'une pipette stérile, on transfère 1 ml de la solution mère dans un deuxième tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une dilution de  $10^{-2}$ , on opère de la même manière jusqu'à arriver à la dilution  $10^{-4}$  (Beerens *et al.*, 1987).

- **Les flores recherchées et dénombrées :** La qualité microbiologique du fromage frais est appréciée après, un contrôle touchant les flores suivantes : les levures et moisissures, les coliformes, les staphylocoques, les salmonelles et les indologènes. On applique les techniques citées précédemment pour la recherche des coliformes, les levures et les moisissures (Bourgeois et Leveau, 1991).

- **Recherche et dénombrement des staphylocoques :** Pour la recherche des staphylocoques, on réalise d'abord un enrichissement dans le milieu Giolliti-Contoni. Pour ce faire, à l'aide d'une spatule stérile on remet un échantillon de 1g du produit dans un tube stérile, puis on transfère à l'intérieur duquel, au moyen d'une pipette stérile, 10 ml du milieu Giolliti-Contoni préalablement ajouté d'additif, on agite le contenu du tube afin de réaliser la répartition de la flore de l'échantillon dans tout le milieu. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. On vérifie le noircissement du milieu après la durée d'incubation (Guiraud, 1998).

- **Recherche du *Salmonella* :** Pour la recherche du *Salmonella*, on réalise d'abord un préenrichissement sur l'eau peptonée alcaline. Pour ce faire, 1g du produit est transféré d'une manière aseptique dans un tube contenant 10 ml d'eau

peptonée alcaline, l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures. On observe la présence du trouble après la durée d'incubation (Larpent, 1997).

- **Recherche des indologènes :** Cette flore est responsable des dégradations et des modifications du goût et de texture. Le milieu de culture utilisé est l'eau peptonée exempte d'indole, la recherche des indologènes s'effectue en procédant de la solution mère en transférant 1ml dans le milieu décrit. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La production d'indole est recherchée par l'ajout après la durée d'incubation de quelques gouttes de réactif de Kovacs, elle se traduit par l'apparition d'un anneau rouge (Guiraud, 1998).

**b.3. Contrôle organoleptique :** Les échantillons sont présentés dans des pots, chaque dégustateur reçoit un échantillon élémentaire de fromage et une cuillère. Le dégustateur est invité à évaluer l'ensemble des caractéristiques organoleptiques qui sont retenues dans l'ordre des perceptions :

- Pour évaluer l'aspect : le dégustateur examine la couleur, indique si elle est homogène ou pas, examine la forme globale, noter si elle est régulière parfaitement ou plus ou moins, également des ouvertures au niveau de la pâte ;
- Pour évaluer la texture et la structure du fromage, le dégustateur homogénéise le contenu du pot par une cuillère mais également par le touché en faisant disposer un échantillon entre les doigts ;
- Pour évaluer la flaveur et la saveur, le dégustateur prélève une tranche de fromage, et goûter une quantité suffisante pour différencier sa saveur mais également son arôme, celle-ci est perçue au niveau des récepteurs spécialisés localisés dans le nez.

A la fin de la dégustation, le sujet doit attribuer une note à chaque échantillon examiné, la note varie de 1 à 5 (Luquet et Boujean-Linczowski 1986).

*Résultats  
et  
Discussion*



### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Contrôle de qualité d'une huile d'olive vierge :

##### III.1.1. Contrôle physicochimique :

##### III.1.1.1. Acidité oléique, indice d'acide et pH :

L'acidité oléique est la principale mesure de la dégradation hydrolytique des huiles et elle sert à mesurer la quantité des acides gras libres présents dans l'huile (Adrian *et al.*, 1998).

Les résultats obtenus lors du contrôle de l'acidité, de l'indice d'acide ainsi que du pH sont résumés dans le tableau 2 :

**Tableau 2:** Valeur du pH, acidité et indice d'acide des échantillons étudiés.

	pH	Acidité (%)	Norme (%)	Ia (mg/g)	Norme (mg/g)
T	5.61	5.64	Max 3.3	11.28	Max 6.6
TH	6.11	2.82	Max 3.3	5.61	Max 6.6
C	5.54	6.64	Max 3.3	13.28	Max 6.6

Il ressort du tableau que l'échantillon originaire de Tassoust (T) et celui de cinquième poste (C) présentent presque les mêmes valeurs d'acidité et qu'elles sont légèrement supérieures à la norme fixée à 3,3% au maximum.

Au contraire, l'échantillon originaire de Taher (TH) présente un taux d'acidité faible qui ne dépasse pas la norme (2,82) ce qui permet de le classer en premier lieu en catégorie vierge courante.

Toutefois, les résultats de l'acidité et de l'indice d'acide obtenus coïncident à ceux du pH, en effet, le pH des échantillons obtenu varie de 5,54 à 6,11 dont la valeur maximale, 6,11 est observée avec l'échantillon TH qui a la valeur d'acidité la plus faible. Les échantillons T et C qui ont presque les mêmes valeurs d'acidité élevées ont également des valeurs similaires du pH bas.

Ces résultats de pH sont en accord avec ceux rapportés par Baccioni (2002) qui signale que le pH optimum doit être proche du neutre avec des variations tolérables se situant entre 5,5 – 8.

Quant aux causes d'élévation d'acidité, elles sont dues principalement à des mauvais traitements de la matière première qui commencent dès la récolte où le gaulage, la méthode la plus utilisée, provoque des lésions lors du chute des fruits ce qui facilite la pénétration et le développement des microorganismes qui se traduit par une augmentation de l'acidité.

Toutefois, le stockage qui se fait dans des sacs en matière plastique et qui dure plus de quinze jours conduit efficacement à l'élévation de l'acidité, en effet, sous le poids de la charge, les olives conservées dans de telles conditions ont tendance à s'écraser, ce qui provoque la rupture des cellules qui finit par mettre l'huile au contact de la solution aqueuse. Les conditions favorables au développement des activités enzymatiques sont ainsi créées avec le déclenchement des processus fermentatifs de dégradation de la matière organique engendrant une libération notamment des acides gras libres et des acides organiques.

Ces arguments sont les mêmes cités par Chimi (2001) qui a confirmé l'hydrolyse des triglycérides de l'huile suite à l'action des lipases, de l'humidité et de la chaleur qui sont créées dans de telles conditions. D'autre part, Weiss (1978) a également démontré que l'acidité d'une huile est accélérée par un mauvais entreposage qui entraîne une élévation de l'humidité relative.

Dans le même sens, Ryan *et al.* (1998) ont signalé que les olives doivent être traitées le plus tôt possible après la récolte, le cas échéant, être bien conservées.

### III.1.1.2. Indice de peroxyde :

En raison de l'importance de l'oxydation des huiles sur le plan nutritionnel et sensoriel, l'indice de peroxyde doit être contrôlé (Deiana *et al.*, 2002).

Les valeurs de l'indice de peroxyde des échantillons étudiés (tableau 3) présentent une certaine différence, celle de l'échantillon T représente la valeur la plus faible alors que la valeur maximale est enregistrée avec l'échantillon C.

**Tableau 03 :** Valeurs de l'indice de peroxyde des échantillons étudiés.

Echantillon	$I_p$ (meqd'O <sub>2</sub> /kg d'H)	Norme (meq d'O <sub>2</sub> /kg d'H)
T	5,6	Max ≤20
TH	8	Max ≤20
C	12,8	Max ≤20

Ces valeurs et malgré qu'elles ne sont pas trop faibles, restent dans les normes (< 20 meq /kg d'huile). En fait, l'indice de peroxyde est une évaluation de l'état d'avancement de la première étape conduisant au rancissement (Argenson et Davoust, 2003) et il exprime la quantité des peroxydes et des hydroperoxydes formés.

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a formation d'une faible quantité de peroxydes. Selon Adrian *et al.*, (1998), la formation de cette faible quantité de peroxyde signifie soit que l'on se situe aux premiers stades de l'oxydation, soit que celle-ci est tellement développée que les hydroperoxydes sont déjà décomposés et transformés en molécules de 2<sup>ème</sup> génération, d'où la nécessité de suivre la recherche, par le biais des spectres UV, des doubles liaisons conjuguées (Fuhrer *et al.*, 2005).

En effet, la formation de telles quantités de peroxydes est tout à fait normale puisque c'est des huiles vierges qui sont caractérisées par des indices de peroxydes relativement élevés par rapport aux huiles raffinées (Fuhrer *et al.*, 2005).

La formation de ces peroxydes est due principalement à la façon traditionnelle de fabrication de ces huiles qui au cours de préparation de la matière première laisse passer les olives blessées ou surtout trop mûres ainsi que les impuretés qui jouent le rôle des initiateurs de l'oxydation.

Toutefois, lors de l'extraction de l'huile d'olive par la méthode traditionnelle, la décantation dure plus d'une heure où l'huile est à la phase supérieure évidemment en contact de l'air ce qui facilite la fixation de l'oxygène sur les doubles liaisons surtout qu'on a démontré que l'huile d'olive est riche en acide oléique et contient une quantité non négligeable en acide linoléique.

Ces arguments sont les plus raisonnables puisqu'on est devant une fabrication traditionnelle dont des travaux similaires apportent les mêmes justifications. Ainsi Argenson et Davoust (2003) trouvent que la principale cause de l'augmentation de l'indice de peroxyde est une maturation prononcée, pour ce fait, ils ont signalé que la méthode la plus efficace pour réduire l'indice de peroxyde est la récolte précoce.

De plus, Fuhrer *et al.* (2005) ont confirmé que les diverses opérations de la préparation de la pâte des olives et l'extraction de l'huile conduite en pleine air peuvent entraîner l'altération de l'huile.

### III.1.1.3. Indice de saponification :

La détermination de l'indice de saponification est une opération caractéristique des lipides dont l'huile d'olive vierge mais elle est destinée essentiellement aux contrôles industriels (Adrian *et al.*, 1998).

Les résultats de l'analyse de l'échantillon sont résumés dans le tableau 4 :

**Tableau 4 :** Indice de saponification des huiles étudiées

Echantillon	Is (mg/g)	Norme (mg/g)
T	185,13	184-196
TH	176,71	184-196
C	173,91	184-196

Du tableau, il en ressort que les valeurs de l'indice de saponification sont comprises dans l'intervalle des normes fixées par le C.O.I. (2003), les valeurs oscillent entre 173.91 pour l'échantillon C et 185.13 pour l'échantillon T. Toutefois, il apparaît que les valeurs trouvées avec l'huile d'olive codée TH et celle codée C, présentent des variations très légères mais négligeables. En fait, la détermination de cet indice fait parti du contrôle beaucoup plus industriel (Adrian *et al.*, 1998) et il l'est dans notre cas dans le cadre d'une évaluation des caractéristiques chimiques, il ne concerne pas les critères de qualité d'une huile d'olive vierge.

En effet, l'indice de saponification rend compte de la longueur moyenne de la chaîne des acides gras constitutifs de l'huile puisque sa valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de faibles poids moléculaire (Adrian *et al.*, 1998).

#### III.1.1.4. Indice d'iode :

La principale altération des matières grasses est l'oxydation des acides gras insaturés qu'elles renferment. Le risque augmente avec le nombre de leur insaturation, ainsi, on détermine l'indice d'iode qui renseigne sur le degré d'insaturation d'un corps gras (Adrian *et al.*, 1998).

Les valeurs de l'indice d'iode des trois échantillons sont résumées dans le tableau 5 :

**Tableau 5 : Valeurs de l'indice d'iode des huiles étudiées**

Echantillon	Ii (g d'iode/kg d'huile)	Norme (g d'iode/kg d'huile)
T	104,69	75-94
TH	104,48	75-94
C	104,05	75-94

Les résultats montrent que les échantillons étudiés présentent presque la même valeur d'indice d'iode (104), cette valeur est un peu élevée par comparaison à la norme. Cette élévation est très légère et on peut l'accepter facilement si on prend en considération le procédé d'extraction utilisé et les défauts qui peuvent y avoir suite à l'utilisation des moindres ustensiles, de plus nos échantillons sont des huiles traditionnelles, au contraire, les normes sont fixées pour les produits industriels.

#### III.1.1.5. Recherche du glycérol :

Les résultats de la recherche du glycérol dans les échantillons de l'huile d'olive étudiés permettent la mise en évidence de ce dernier par le développement d'une couleur bleu vert qui est le résultat de la combinaison des ions de cuivre avec les acides gras libres. En effet, ce test est qualitatif puisque l'intensité de la coloration dans un niveau témoigne d'un taux élevé des acides gras libres et combinés donc aux ions de cuivre (Perrier *et al.*, 1997) ;

Ainsi, pour les huiles étudiées, la photo 1 illustre l'intensité de la présence du glycérol et on a pu attribuer les notes suivantes :

T : ±

TH : +

C : +++

+ : résultat positif par rapport au témoins.

La couleur est plus apparente au niveau de l'huile C, moins appréciée au niveau de l'huile TH et très faible au niveau de l'huile T ce qui indique que l'huile C

contient un taux élevé en glycérol, ce taux est plus faible dans l'huile T et l'huile TH. D'autre part, ce test peut nous renseigner sur l'acidité des huiles étudiées, ainsi, une huile qui a donné un résultat positif pour la recherche du glycérol s'avère contenir des acides gras libres ce qui augmente son acidité, en effet, les résultats de la détermination de l'indice d'acide des huiles étudiées confirment ce qui est obtenu avec la recherche du glycérol puisque l'huile C qui a l'acidité la plus élevée semble contenir le taux le plus élevé en glycérol.



**Photo 1** : mise en évidence du glycérol

### III.1.1.6. Teneur en eau et en matières insolubles :

Les résultats de la détermination de la teneur en eau ayant un grand lien avec le taux d'humidité ainsi que ceux de la teneur en impuretés sont résumés dans le tableau 6 :

**Tableau 6** : Teneur en eau et en impureté des échantillons.

	Humidité (%)	Norme (%)	Impuretés (%)	Norme (%)
T	2,09	Max $\leq$ 0,2	5,79	Max $\leq$ 0,1
TH	1,60	Max $\leq$ 0,2	5,26	Max $\leq$ 0,1
C	0,81	Max $\leq$ 0,2	12	Max $\leq$ 0,1

La lecture de ces résultats montre que les échantillons étudiés présentent des teneurs élevées en humidité, les teneurs sont beaucoup plus importantes pour les impuretés.

L'échantillon T présente la teneur maximale en eau estimée à 2.09%, ce qui coïncide à leur aspect fluide selon l'analyse sensorielle de cette huile. Par ailleurs, l'échantillon TH et malgré qu'il se présente sous une forme onctueuse, il contient une quantité importante en eau (1.6%) excédant la norme fixée ( $\max \leq 0,2 \%$ ). Quant à l'échantillon C, il apparaît qu'il dispose d'une teneur en eau faible (0.81%) comparativement aux autres échantillons mais elle dépasse la norme.

Les causes d'élévation de cette humidité reviennent au procédé traditionnel appliqué, en fait, les normes fixées s'appliquent beaucoup plus pour les produits industriels.

D'autre part, les teneurs en impuretés insolubles semblent être très importantes pour l'ensemble des trois échantillons dont la teneur maximale est trouvée avec l'échantillon C (12%), qui excède de loin la norme tolérable et ce qui va se répercuter négativement sur la qualité organoleptique de cette huile. Les deux autres échantillons présentent des teneurs presque semblables en impuretés avec 5.79% pour l'huile d'olive de Tassoust et 5.26% pour celle issue de Taher, Les valeurs indiquent la non-conformité de ce paramètre aux normes.

Quant aux causes d'élévation de cette teneur, c'est le procédé traditionnel appliqué où l'huile ne subira aucune filtration industrielle, toutes les opérations sont effectuées manuellement.

Les résultats obtenus sont justifiés par Frerichs, (2001) qui indique que les huiles d'olives obtenues au moyen des procédés physiques et dans une installation autre que le moulin des olives présentent des paramètres supérieurs à celles qui sont considérées normales.

### III.1.1.7. Densité, point de fusion, point de solidification et point de fumée :

Les résultats de la détermination de la densité, du point de fusion, du point de solidification ainsi que du point de fumée sont résumés dans le tableau 7 :

**Tableau 7 : Paramètres physiques des huiles étudiées.**

	<b>T</b>	<b>TH</b>	<b>C</b>	<b>Normes</b>
<b>Densité (g/cm<sup>3</sup>) à 20°C</b>	0,87	0,95	0,92	0,910 - 0,916
<b>point de fusion (°C)</b>	6	7	7	5 - 7
<b>Point de solidification (°C)</b>	1	3	1	2 - 4
<b>Point de fumée (°C)</b>	168	187	170	180 - 210

Les résultats montrent que les échantillons étudiés présentent des points de fusion et des points de solidification semblables à ceux fixés comme caractéristique pour l'huile d'olive vierge.

D'après ces résultats, l'échantillon TH a le point de fusion le plus élevé estimé à 7°C et par conséquent le point de solidification le plus grand (3°C), il se caractérise également par la densité la plus élevée (0.95g/cm<sup>3</sup>) qui semble supérieure à la norme.

Cependant, l'échantillon T a le point de fusion le plus faible (6°C) et par conséquent le point de solidification le plus bas et il se caractérise par la densité la plus basse qui est inférieure à la norme.

Par ailleurs, l'échantillon C présente des résultats intermédiaires, un point de fusion de 7°C avec un faible point de solidification et se caractérise par une densité dans la norme.

Les résultats de l'analyse sensorielle (voir plus loin), confirment ses différences entre les trois échantillons, ainsi, l'échantillon TH qui apparaît comme une huile dense présente la densité la plus élevée et fusionne difficilement, alors que l'échantillon T qui semble très fluide présente la densité la plus faible et fusionne facilement.

D'après les résultats obtenus (tableau 7), les échantillons étudiés présentent un point de fumée qui varie de 168 à 187 °C. L'échantillon T présente le point de fumée le plus bas (168°C) alors que l'échantillon TH montre celui le plus élevé (187°C) qui semble dans les normes. Toutefois, les points de fumée des échantillons T et C sont légèrement inférieurs à la fourchette fixée par les normes.

En effet, la valeur du point de fumée d'une huile dépend de la teneur en acides gras libres et autres composés volatils (Graille, 2003 ; Egan *et al.*, 1981).

Ces résultats indiquent que l'échantillon T contient une certaine quantité d'acides gras libres supérieure à celle contenue dans l'échantillon TH, les résultats de l'acidité trouvés confirment cette observation puisqu'il apparaît que l'échantillon T se caractérise par un taux d'acidité plus élevé que l'échantillon TH.

Un point de fumée élevé est désirable, en particulier lorsque l'huile est utilisée pour la friture. Le point de fumée de l'huile d'olive est généralement plus élevé que celui des autres huiles végétales (Craille, 2003).

### III.1.2. Analyse de la composition :

#### III.1.2.1. Teneur en polyphénols :

Les substances naturelles qui présentent une activité antioxydante appartiennent à des classes chimiques très variées (Larson, 1988 ; Six, 1994) dont les composés phénoliques regroupent la plus grande partie, ils jouent de ce fait un rôle important dans la détermination de la stabilité des huiles à la conservation ainsi que l'intensité de certains caractères organoleptiques tels que l'amer et le piquant (Di Giovacchino, 1999).

Les résultats obtenus montrent que les huiles étudiées présentent des teneurs variables et faibles en polyphénols totaux (tableau 8) :

**Tableau 8** : Résultats du dosage colorimétrique des polyphénols.

Echantillon	Absorbance à 765 nm	Concentration en PP ( $\mu\text{g/ml}$ )
T	1.251	260
TH	0.571	118
C	0.562	118

Il apparaît d'après ces résultats que l'huile d'olive codée T est la plus chargée en polyphénols avec une teneur estimée à 260  $\mu\text{g/ml}$ , celles codées TH et C renfermées la même teneur, 118  $\mu\text{g/ml}$  d'huile.

Par comparaison de nos résultats avec ceux rapportés par Giovacchino (1996) qui a trouvé une valeur maximale de 118  $\mu\text{g/ml}$  de PP totaux dans l'huile d'olive vierge extraite à partir des olives de qualité médiocre et une valeur de 155 – 292  $\mu\text{g/ml}$  des PP à partir des olives de bonne qualité, il est probable que les huiles TH et C sont issues des olives de mauvaise qualité où elles étaient trop mures, souvent endommagées, au contraire, l'huile T semble extraite à partir des olives de bonne qualité, saines et en phase non avancée de maturation. Cependant, la teneur en PP peut être liée à la variété génétique de l'arbre.

Ces résultats expliquent la faible teneur en PP par la mise en œuvre des matières premières de mauvaise qualité ce qui coïncide à l'avis de plusieurs auteurs ; En revanche, l'état de la matière première ne représente pas la seule cause de diminution de la teneur en PP, d'autres facteurs peuvent être en jeu, c'est ainsi que Giovacchino (1996) a signalé que les dilutions des pâtes des olives avec l'eau, notamment chaude, se traduit inévitablement par une réduction de la teneur en antioxydants naturels des huiles produites en raison de leur plus grande solubilité dans l'eau.

D'ailleurs, l'ajout d'eau tiède ou chaude à la pâte d'olive est le procédé traditionnel le plus couramment pratiqué dans les différentes régions de notre Wilaya.

En outre, Chimi (2001) a confirmé l'effet de la décantation ainsi que celui de malaxage et de broyage qui semblent contribuer à l'appauvrissement de l'huile en substances phénoliques et aromatiques car perdues dans les margines. Comme, il a signalé que la teneur en composés phénoliques peut être influencée par les techniques culturelles et les conditions pédo-climatiques, la période de récolte des olives et le système d'extraction de l'huile d'olive.

Par ailleurs, Perrin (1992) a signalé qu'au cours de la maturation ou lors de la production des huiles, se produisent des réactions d'hydrolyse de ces composés dues en grande partie au pH acide du milieu et à la mise en contact avec les enzymes comme les polyphénoloxydases présentes dans la pulpe des olives.

La comparaison des valeurs obtenues de l'indice de peroxyde (tableau 9, figure 2) et de la teneur en PP montre qu'il y a une certaine corrélation entre les deux résultats : l'échantillon T qui a l'indice de peroxyde le plus bas renferme la quantité

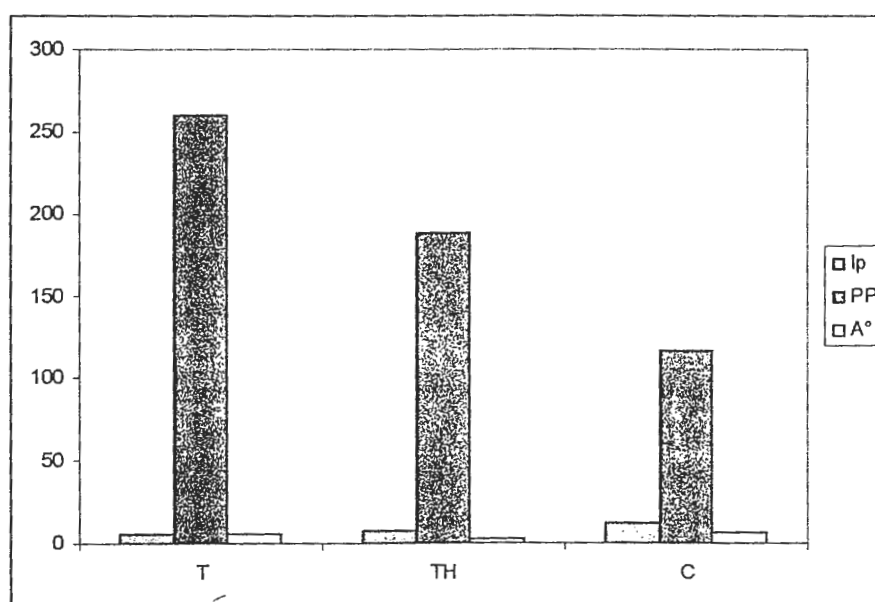


maximale en PP alors que les échantillons TH et C ont un indice de peroxyde plus élevé.

Ces résultats nous donnent une idée sur le rôle antioxydant qu'exercent les composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge ; l'échantillon qui a la teneur la plus élevée en PP est à moindre degré à l'abri de l'oxydation.

**Tableau 9** : Comparaison des valeurs de l'Ip, Ia et de la teneur en polyphénols ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Echantillon	Ip	Ia	Teneur en PP ( $\mu\text{g/ml}$ )
T	5.6	5.64	260
TH	8	2.82	118
C	12.8	6.64	118



**Figure 2** : comparaison de la teneur en polyphénols, l'Ip et l'Ia.

La présence des antioxydants naturels dont les PP dans l'HOV, retardent la formation des peroxydes en consommant préférentiellement l'oxygène, (Richard, 1992). Ils cèdent des atomes d'hydrogène aux radicaux libres et arrêtent ainsi la propagation de la chaîne lors de l'oxydation lipidique (Ranalli et al., 2003) d'où l'appellation d'éboueurs des radicaux libres.

Nos résultats se concordent avec ceux rapportés par plusieurs auteurs. Gamel et Kiritsakis (1999) ont trouvé que l'augmentation de l'Ip de l'huile d'olive était plus faible que d'autres huiles végétales soumises à un étuvage pendant 12 jours à  $63^{\circ}\text{C}$  puisque l'huile d'olive contient des composés phénoliques antioxydants. De même Chan et al., (1982) ont également montré que l'oxydation de l'huile d'olive intervient lentement par rapport à celle de tournesol en raison de sa richesse en antioxydants.

Plusieurs auteurs ont rapporté que les PP contribuent à la haute résistance de l'huile d'olive au cours des processus de l'oxydation (Capasso et al., 1999 ; Cinquanta et

*al.*, 1997 ; Gutiérrez *et al.*, 2001 ; Léger, 1999 ; Romani *et al.*, 1999). En revanche, il a été démontré que le pouvoir antioxydant des PP n'est pas forcément corrélé à leurs teneurs élevées mais à leur nature chimique.

Une autre remarque peut être notée, on a observé que l'échantillon T qui possède le taux le plus élevé en PP a également un taux élevé en acidité. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Ghattas (2004), cette dernière a montré que l'ajout de 160 ppm de polyphénols à l'huile participe le plus à une élévation de l'acidité de ces huiles par rapport aux huiles témoins. Ces résultats sont confirmés par le fait que ces composés phénoliques contiennent une grande quantité d'acide phénolique (Bcherrawi, 2002).

Cette acidité va diminuer progressivement au cours du stockage, ceci pourrait être expliqué par le fait que les acides phénoliques se dégradent avec le temps comme conséquence de leur activité antioxydante et que leur vitesse de dégradation a été positivement corrélée à leur efficacité antioxydante (Cinquanta *et al.*, 1997). L'hydroxytyrosol ayant le meilleur pouvoir antioxydant, se dégrade le plus rapidement (Nissiotis et Tasioula – Margori, 2002).

### III.1.2.2. Composition en acides gras :

L'analyse de la composition par la nouvelle méthode proposée par C.E N° 796/2002 fait détecter quelques acides gras, qui semblent les plus représentatifs de nos huiles.

Les chromatogrammes illustrés par les figures 3, 4 et 5 représentent les résultats de la séparation des acides gras des huiles étudiées par la GC-MS.

Ainsi, pour l'huile de la région de Taher (TH), l'analyse chromatographique dure 24 minutes et fait montrer 2 pics : Le premier pic apparaît après 10 minutes d'élution avec un pourcentage de 28,53 %, il occupe une surface de 19,52 % de l'ensemble de la surface des pics révélés, son analyse qualitative fait montrer qu'il s'agit d'un C16 :0 qui correspond à l'acide palmitique ; le deuxième pic semble le plus représentatif pour cette huile, il apparaît après 18,83 minutes d'élution avec un pourcentage de 80,48 % de l'ensemble des surfaces des pics révélés, qualitativement, il correspond à un C18 :1 $\Delta$ 9 qui est l'acide oléique.

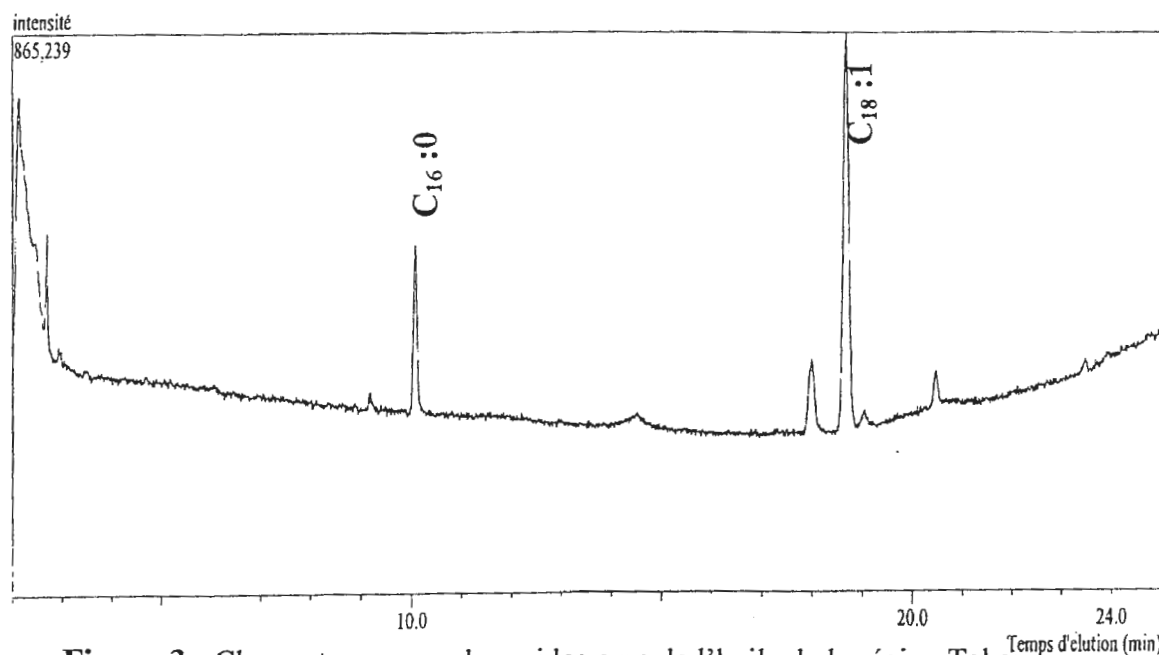


Figure 3 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région Taher.

En ce qui concerne l'huile de la région de Tassoust, le chromatogramme fait révéler également 2 pics majeurs caractérisant les acides gras : Le premier pic représente un pourcentage de 34,03 % et occupe de ce fait une surface de 25,29 % et apparaît après un temps d'éluion 10 minutes. Par référence à la bibliothèque, cet acide gras correspond à un C<sub>16</sub>:0 qui est l'acide palmitique ; le deuxième pic apparaît avec un pourcentage plus important qui atteint 65,97 % et occupe une surface de 74,71 %, il est détecté après 18,84 minutes d'éluion. Sur le plan qualitatif, cet acide gras correspond à un C<sub>18</sub>:1 $\Delta$ 8, acide gras similaire à l'acide oléique mais la position d'insaturation est différente.

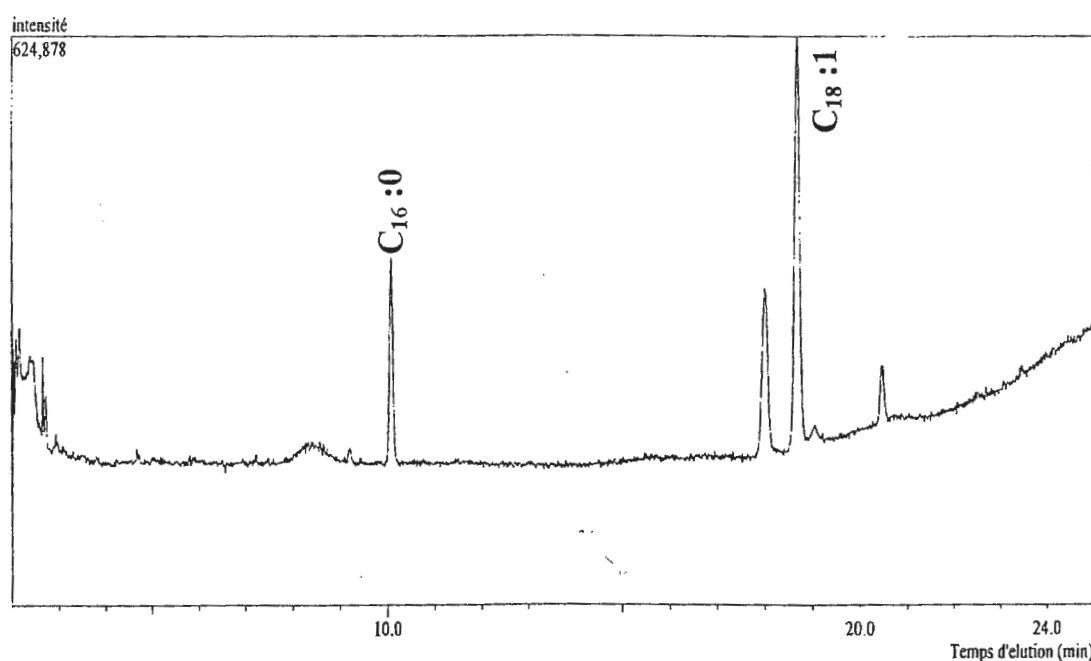


Figure 4 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de la région Tassoust

En effet, avec l'apparition des colonnes capillaires, l'efficacité des séparations a été nettement améliorée, ainsi nos résultats concordent à ceux trouvés par Berdeaux et al., (1998) où il a pu séparer 11 isomères d'acide oléique y compris C18 :1 $\Delta$ 8 à partir de l'huile d'olive et selon des temps de rétention différents.

Sur le plan quantitatif, l'analyse de nos huiles fait montrer que l'acide oléique reste l'acide majoritaire, c'est le composant fondamental qui distingue l'huile d'olive des autres huiles et se présente avec un pourcentage appartenant à l'intervalle des normes établies par le C.O.I (2003).

La séparation de ce nombre limité des acides gras de nos huiles ne signifie pas que les huiles étudiées ne comprennent que ces deux acides gras mais c'est selon la sensibilité de la méthode appliquée et la technique de préparation des esters méthyliques.

Par ailleurs, l'analyse de la composition de l'huile de la région Cinquième poste fait révéler un nombre plus grand des acides gras y compris la forme « trans. » de l'acide oléique ;

du chromatogramme (figure 5) ressort que cette méthode a permis de détecter en plus de l'acide oléique et l'acide palmitique détectés précédemment, un acide gras saturé C18 :0 dont l'acide stéarique à côté de deux autres insaturés : l'acide palmitoléique (C16 :1 $\Delta$ <sup>9</sup>) et l'acide linoléique (C18 :2 $\Delta$ <sup>9,12</sup>).

On a remarqué également que l'acide palmitique était détecté deux fois et s'apparaît sous formes de deux pics pour occuper la surface la plus grande 45,08 %, l'acide oléique a été également détecté deux fois mais il a occupé une surface moindre ; à noter que la surface la plus faible reste celle occupée par l'acide palmitoléique.

Au niveau quantitatif, l'acide oléique reste le composant majoritaire avec un pourcentage de 49,02 %, arrive ensuite l'acide palmitique avec une proportion importante 32 %, un taux relativement élevé comme composant de l'huile d'olive vierge selon les normes du C.O.I. (2003) ; et puis des concentrations similaires des acides stéariques et linoléique (6,5 %), l'acide palmitoléique qui entre dans la composition comme acide gras monoinsaturé apparaît par un taux de 3,08 %, ces taux sont compris dans l'intervalle établis par le C.O.I (2003).

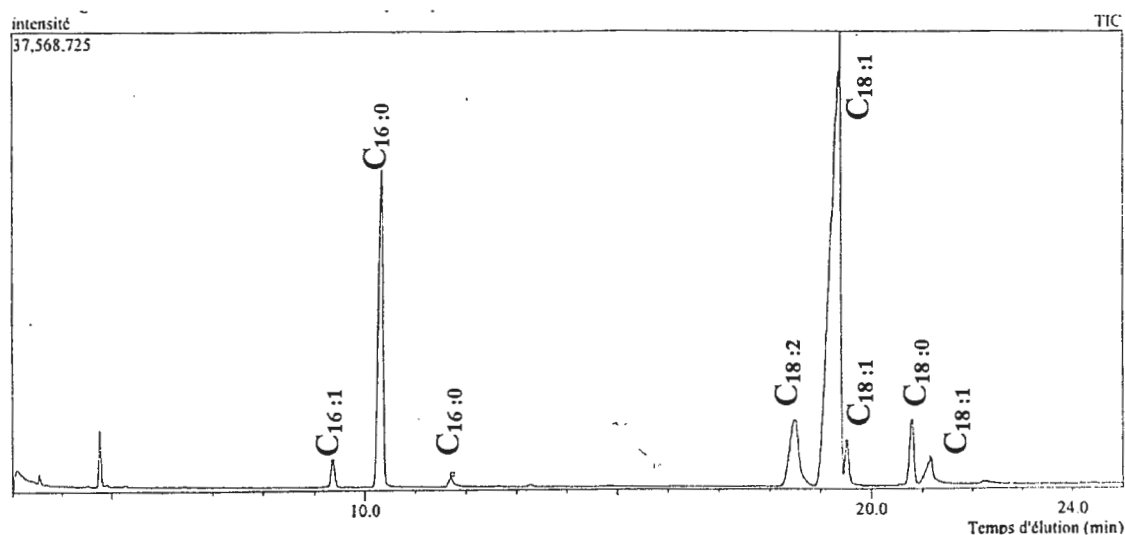


Figure 5 : Chromatogramme de l'huile de la région Cinquième Poste.

### III.1.3. Contrôle microbiologique de l'huile d'olive vierge :

L'huile d'olive vierge est une matière grasse anhydre dont la composition est à la base des acides gras, substances difficilement fermentescibles, elle est pratiquement peu altérée par les microorganismes (Guiraud, 1998).

De ce fait, il n'existe pas une réglementation indiquant le nombre maximal tolérable, cependant, les organismes nationaux et internationaux de normalisation (tel que AFNOR) exigent l'absence des germes pathogènes ainsi que leur toxines. (Guiraud, 1998).

L'analyse microbiologique de nos échantillons a conduit aux résultats résumés dans le tableau 10 :

**Tableau 10 : Qualité microbiologique de l'huile d'olive.**

Flores	T (UFC/ml)	TH (UFC/ml)	C (UFC/ml)
FTAM	$45.10^4$	$36.10^4$	$32.10^4$
CT	$3.10^2$	$30.10^2$	$20.10^2$
CTT	absence	absence	absence
Levures/moisissures	$26.10^4$	$16.10^4$	$15.10^3$
Psychrophiles	$48.10^4$	$56.10^4$	$48.10^4$
Bactéries lactiques	$26.10^4$	$16.10^4$	$17.10^4$
Flore lipolytique	+	+++	+

+ : mise en évidence de l'activité lipolytique .

L'analyse microbiologique des trois échantillons de l'huile d'olive vierge ont montré la présence d'une flore aérobie mésophile (FTAM) abondante, estimée de  $32-45.10^4$  UFC/ml pour chaque échantillon. C'est le cas également de la flore psychrophile qui se présente à un taux de  $48 - 56.10^4$  UFC/ml.

En revanche, on a mis en évidence une activité lipolytique dans les trois huiles d'olives (photo 2), celle-ci est plus intense dans l'échantillon TH et moins apparente dans le reste des échantillons. Ce résultat témoigne la présence d'une flore lipolytique.

Bien qu'ils ne soient pas toujours de bons indicateurs pour évaluer le risque sanitaire, les coliformes sont présents à un nombre de 3 à  $30.10^2$  UFC/ml, ce nombre est relativement faible pour engendrer des intoxications alimentaires, celles-ci ne surgissent généralement qu'à des taux élevés et couplés avec une FTAM supérieure à  $10^5$  UFC (Bourgeois et Leveau, 1991). De ce fait, le dénombrement de la FTAM et des CT est réalisé le plus souvent dans le cadre de contrôles de bonnes pratiques de fabrication.

Par ailleurs, les CTT qui sont les signes d'une contamination fécale sont carrément absents ; en effet, les valeurs relativement faibles de la FTAM que nous avons obtenu expliquent bien l'absence des CTT.

Nos résultats vont et ceux trouvés par Ayaz *et al.*, ( 1986) où le nombre des coliformes était faible pour des valeurs bas de la FTAM et où les CTT et autres germes pathogènes tels que *Salmonella* étaient plus fréquentes pour des nombres plus élevés de la FTAM.

Cependant, les levures et moisissures sont présentes avec un nombre de 15-26  $10^4$  UFC/ml. Ce résultat est en accord avec ceux trouvés par plusieurs chercheurs, ainsi Ciafardini (2004) a pu isoler à partir d'huile d'olive vierge fraîchement obtenue une flore composée essentiellement de levures dont *Williopsis californica* est la prédominante à côté d'autres espèces de *Saccharomycès cerevisiae*, *Candida wickerhanii* et *Candida boidinii*. Il avait supposé que ces levures pourraient modifier les propriétés physicochimiques et sensorielles des huiles d'olives vierges *via* la production d'enzymes particulières, en effet, certaines souches de levures produisent la  $\beta$ -glucosidase qui hydrolyse l'oleuropéine, responsable de l'amertume. Comme ils ont montré que le nombre de levures des huiles d'olives vierges diminue au cours du stockage du fait de la sédimentation des levures avec les particules qui étaient initialement en suspension.

De même, Kacem et Karam (2006) ont montré également la présence de la levure *Saccharomyces cerevisiae* à côté de *Candida parapsilosis*.

Cependant, la flore lactique a été isolée des trois échantillons. La numération a montré que les colonies sont abondantes avec un nombre oscillant entre 16 et 26  $10^4$  UFC/ml. Reste à noter que peu de travaux ont été réalisés sur ce sujet.



**Photo 2** : Mise en évidence de l'activité lipolytique

### III.1.4. Analyse organoleptique de l'huile d'olive vierge :

L'analyse sensorielle a fait ces dernières années des progrès considérables, elle représente un outil indispensable pour le contrôle de la qualité des produits alimentaires et notamment les corps gras. Elle repose sur la dégustation des produits et sur l'analyse des réponses sensorielles données par les dégustateurs (Raoux, 1998).

Les résultats de l'analyse sensorielle sont résumés dans les questionnaires suivants :

**Tableau 11:** Résultats donnés par le dégustateur 01

<b>Dégustation</b>
<p><b>Visuel :</b> couleur – intensité – qualité :</p> <p>T : couleur jaune claire = sans goût</p> <p>TH : vert olive, intense</p> <p>C : jaune vert</p>
<p><b>Olfactif :</b> intensité – qualité – type – caractère :</p> <p>T : aucune odeur relative à l'huile d'olive</p> <p>TH : très intense</p> <p>C : odeur acceptable</p>
<p><b>En bouche :</b> ardeur – amertume – consistance.(fluidité, onctuosité) – Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :</p> <p>T : fluide, non amer, goût neutre, pas de persistance aromatique</p> <p>TH : non ardent, amer, onctueuse, très intense, arômes persistants</p> <p>C : fluide, très amer, très intense, ardent</p>
<p>Harmonie générale – jugement d'ensemble :</p> <p>T : acceptable mais mauvaise qualité</p> <p>TH : acceptable</p> <p>C : inacceptable</p>
<p><b>Note de 0 à 5 :</b> T : 1 ; TH : 2 ; C : 0</p>

Tableau 12 : Résultats donnés par le dégustateur 02

<b>Dégustation</b>
<p><b>Visuel</b> : couleur – intensité – qualité :  T : jaune  TH : vert olive  C : vert clair</p> <p><b>Olfactif</b> : intensité – qualité – type – caractère :  T : sans odeur  TH : intense  C : mélange d'odeur</p> <p><b>En bouche</b> : ardeur – amertume – consistance (fluidité, onctuosité) –  Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :  T : presque sans arômes, le goût ressemble à huile sans-goût  TH : arôme intense, non agréable, onctueux  C : très amer et très désagréable, fluide</p> <p>Harmonie générale – jugement d'ensemble :  T : ce n'est pas de huile d'olive  TH : acceptable, qualité moyenne  C : inacceptable, mauvaise qualité</p>
<b>Note de 0 à 5</b> : T : 2 ; TH : 3 ; C : 0

Tableau 13 : Résultats donnés par le dégustateur 03

<b>Dégustation</b>
<p><b>Visuel</b> : couleur – intensité – qualité :  T : couleur jaune, fluide  TH : vert  C : vert clair, moins intense, bonne couleur</p> <p><b>Olfactif</b> : intensité – qualité – type – caractère :  T : presque sans odeur  TH : odeur plus agréable, odeur des olives  C : odeur désagréable</p> <p><b>En bouche</b> : ardeur – amertume – consistance (fluidité, onctuosité) –  Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :  T : fluide, non amer, non ardent, et non agréable  TH : ± ardent, onctueux, agréable  C : très amer, ardent, fluide</p> <p>Harmonie générale – jugement d'ensemble :  T : qualité moyenne  TH : huile acceptable  C : qualité médiocre</p>
<b>Note de 0 à 5</b> : T : 2 ; TH : 3 ; C : 0



**Tableau 14** : Résultats donnés par le dégustateur 4

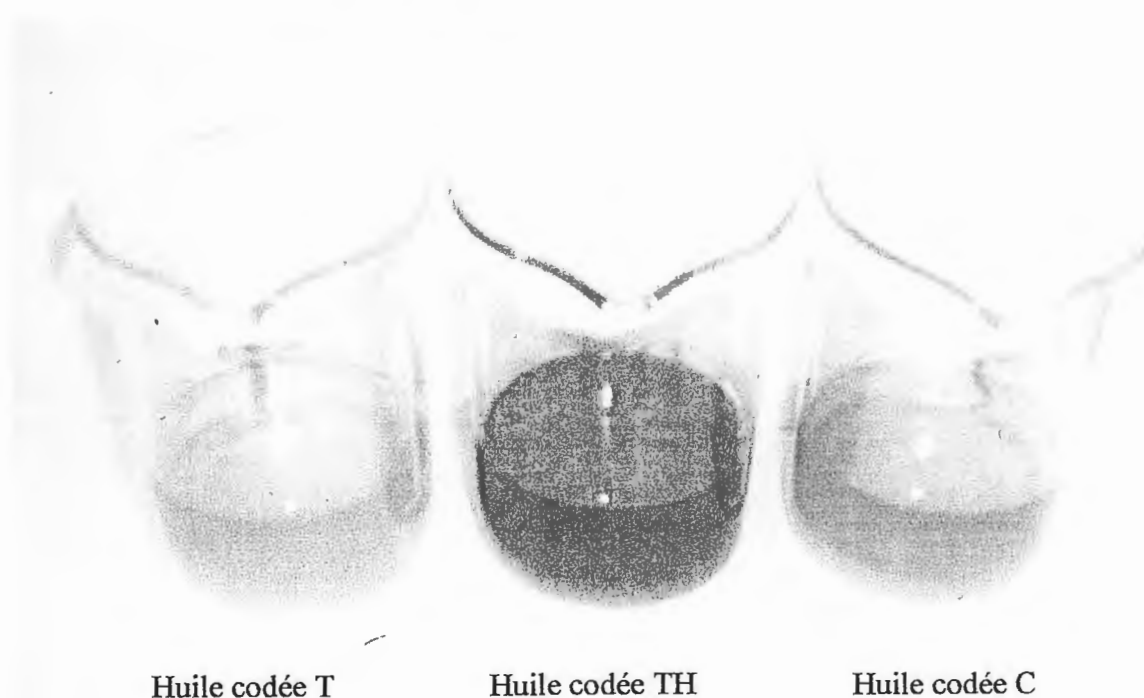
<b>Dégustation</b>
<p><b>Visuel</b> : couleur – intensité – qualité :</p> <p>T : jaune            TH : vert olive            C : vert jaunâtre</p> <p><b>Olfactif</b> : intensité – qualité – type – caractère :</p> <p>T : odeur acceptable, moins intense            TH : odeur intense des olives, chôme            C : moisi, intensité moyenne</p> <p><b>En bouche</b> : ardeur – amertume – consistance (fluidité, onctuosité) –            Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :</p> <p>T : fluide, acceptable            TH : onctueuse, moins amer            C : très amer,</p> <p>Harmonie générale – jugement d'ensemble :</p> <p>T : huile de qualité            TH : qualité moyenne            C : pas de relation à l'huile d'olive</p>
<b>Note de 0 à 5</b> : T : 3 ; TH : 2 ; C : 0

**Tableau 15** : Résultats donnés par le dégustateur 05

<b>Dégustation</b>
<p><b>Visuel</b> : couleur – intensité – qualité :</p> <p>T : jaune, bonne couleur témoigne de pureté            TH : vert olive            C : jaune vert</p> <p><b>Olfactif</b> : intensité – qualité – type – caractère :</p> <p>T : bonne odeur, arôme typique de l'huile            TH : arôme typique moins intense            C : odeur de l'huile</p> <p><b>En bouche</b> : ardeur – amertume – consistance (fluidité, onctuosité) –            Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :</p> <p>T : fluide mais acceptable            TH : onctueuse, non agréable            C : amer</p> <p>Harmonie générale – jugement d'ensemble :</p> <p>T : bonne qualité            TH : qualité moyenne            C : mauvaise qualité</p>
<b>Note de 0 à 5</b> : T : 1 ; TH : 2 ; C : 0.

D'après les questionnaires remplis par les dégustateurs :

L'analyse visuelle (photo 3) de l'huile T a montré que les dégustateurs ont accordé la couleur jaune claire à cette huile, le caractérisant d'un aspect limpide, ressemblant à un jus huileux pur, certains la ressemblent à l'huile de sans goût (dégustateur 01). Toutefois, ils sont tous en accord sur sa fluidité prononcée. Quand à l'huile TH, elle présente une couleur verte à verte olive, caractéristique d'une huile d'olive traditionnelle, les dégustateurs signalent que c'est une couleur intense qui influe négativement sur sa qualité. L'aspect révèle que c'est une huile dense et onctueuse. Par ailleurs, l'huile C est de bonne couleur, jaune verte selon l'ensemble des dégustateurs mais elle est également fluide.



**Photo 3:** Aspect visuel des échantillons étudiés

Au niveau olfactif, selon les sujets, l'huile T n'a pas des arômes typiques d'huile d'olive, ce qui semble indiquer que c'est une huile légère ; au contraire, l'huile TH semble présenter une odeur intense comme on peut flairer l'odeur des olives mais elle est moins apparente. Toutefois, l'huile C, se caractérise par un mélange d'odeur dont la dominante est celle des olives chômées liée probablement à un stockage pendant une période plus ou moins longue, cette odeur n'est pas agréable et peu acceptable.

A la bouche, les résultats montrent que l'échantillon T est une huile très fluide mais elle est acceptable, non amer, arômes non persistantes ; quand à l'huile TH, elle se trouve onctueuse avec une persistance aromatique, elle présente un goût typique de l'huile d'olive, le goût fruité est apparent mais également une certaine amertume

Tableau 16 : Profil biochimique des souches isolées.

	Gram	forme	Catalase	Culture à 45 °C	ADH	Acétoïne	Lait tournesolé		Type fermentaire	Lait de Sherman à 0,1%		Lait de Sherman à 0,3%BM		Culture en NaCl		Citratase	Hémolyse
							coagulation	Réduction		coagulation	réduction	coagulation	réduction	4%	6,5%		
HC1	+	Co	-	-	+	±	+	+	he	+	+	+	+	+	+	-	γ
HC2	+	Co	-	-	+	+	+	+	ho	+		+	++	+	+	-	γ
HC3	+	Co	-	-	-	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HC4	+	Co	-	-	-	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HC5	+	Co	-	-	+	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HC6	+	Co	-	-	+	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HC7	+	Co	-	-	+	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HC8	+	Co	-	-	-	+	+	+	het	+		+	++	+	+	-	γ
HC9	+	Co	-	-	+	±	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HC10	+	Co	-	-	-	-	+	+	Ho	+	+	+	+	+	-	-	γ
HC11	+	Co	-	-	-	+	+	+	het	+	+	+	+	+	+	-	γ
HT1	+	Co	-	-	+	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	+	γ
HT2	+	Co	-	-	-	+	+	+	Ho	+	+	+	+	+	-	-	γ
HT3	+	Co	-	-	+	+	+	+	Fa	+	+	+	+	+	-	-	γ
HT4	+	Co	-	-	-	±	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HT5	+	Co	-	-	-	-	+	-	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HT6	+	Ba	-	-	+	+	+	-	Fa	+	+	+	+	+	-	-	γ
HT7	+	Ba	-	-	+	+	+	-	Fa	+	+	+	+	+	-	-	γ
HT8	+	Ba	-	-	+	-	+	+	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HT9	+	Co	-	-	+	+	+	-	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HTH1	+	Co	-	-	+	-	+	-	Fa	+	+	+	+	+	-	-	γ
HTH2	+	co	-	-	+	+	+	-	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HTH3	+	ba	-	-	+	-	+	±	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HTH4	+	ba	-	-	+	-	+	±	Ho	+	+	+	+	+	+	-	γ
HTH5	+	ba	-	-	+	-	+	-	ho	+	+	+	+	+	+	-	γ

Ho : homofermentaire    het : heterofermentaire    Fa : homofermentaire facultatif  
 + : test positif    - : test négatif    ± : résultat douteux    BM : bleu de méthylène  
 γ : gamma

Tableau 17 : Profil fermentaire des sucres.

	glucose	mannose	lévulose	raffinose	galactose	dextrine	maltose	tergitol	cellulose	sorbose	adonitol	dulcitol	tréhalose	sorbitol	xylose	arabinose
HC1	+	+	+	±	+	+	+	±	+	-	-	+	+	+	±	+
HC2	+	+	+	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	±	+
HC3	+	+	+	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	±	+
HC4	+	+	+	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	±	+
HC5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	±	+
HC6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	±	+
HC7	+	+	+	-	+	+	+	-	+	±	-	+	+	+	±	+
HC8	+	+	±	±	±	±	+	-	+	±	±	+	+	+	±	+
HC9	+	+	+	±	+	+	+	-	+	±	-	+	+	±	±	±
HC10	+	+	+	-	+	+	+	±	+	±	-	+	+	±	±	±
HC11	±	+	±	+	+	-	+	±	+	±	±	+	+	±	-	+
HT1	+	+	+	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	±	±	-
HT2	±	+	-	±	+	-	±	-	±	-	-	+	-	-	±	+
HT3	+	+	+	-	+	+	+	-	+	±	-	+	+	±	±	+
HT4	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	±	-	±
HT5	±	+	-	-	±	+	+	-	+	±	±	+	-	±	±	+
HT6	+	+	+	-	±	-	+	-	+	±	-	+	-	±	±	±
HT7	+	+	+	-	-	-	+	-	+	±	-	+	+	+	±	+
HT8	±	+	+	-	-	-	±	-	+	±	±	+	+	+	±	+
HT9	+	+	+	±	-	+	+	-	±	+	±	+	-	-	±	-
HTH1	±	+	+	±	±	+	+	±	±	±	-	+	-	±	±	±
HTH2	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	±	-	±
HTH3	-	+	+	±	+	±	±	±	-	-	-	+	-	-	-	+
HTH4	±	±	±	±	±	+	-	-	-	±	-	+	-	-	-	±
HTH5	+	+	-	-	-	-	+	-	+	±	±	+	+	+	±	±

+: test positif

-: test négatif

±: résultat douteux

H : huile

T : Tassoust

TH : Taher

C : Cinquième poste

Ce résultat est confirmé par Haddad *et al.*, (1997) ; avant d'être métabolisé, le citrate est transporté à l'intérieur de la cellule grâce à une enzyme, la citrate perméase P (Cit P). Le gène codant pour Cit P, localisé sur un plasmide est exprimé durant l'acidification naturelle du milieu par la population bactérienne (Garcia-quintans *et al.*, 1998 ; Magni *et al.*, 1999), à des pH proche de la neutralité, la voie de fermentation du citrate est constitutive (Magni *et al.*, 1999). L'inaptitude du reste des souches à utiliser le citrate peut donc être expliquée par la perte du plasmide codant pour la citrate perméase (Desmazeaud, 1983).

Pour le test de la production d'acétoïne, quinze (15) souches ont donné des résultats positifs, c'est-à-dire qu'il y a formation d'un anneau rouge après qu'on a

effectué la réaction de Voges-Proskauer, trois autres souches ont donné un résultat douteux. Le test était négatif chez les sept (07) souches restantes.

Sur le milieu de Gibson Abdel Malek, il y a déplacement du bouchon de la gélose chez deux (02) souches et donc production de gaz ce qui semble que ces deux dernières sont des hétérofermentaires strictes ; pour le reste de la collection, il n'y a aucun déplacement du bouchon de la gélose, donc ce sont des homo fermentaires ;

Enfin, le test d'hémolyse a montré que toute la collection à hémolyse gamma.

### III.2.3. Identification des souches par logiciel API LAB :

Le traitement informatique par logiciel API LAB des résultats obtenus a conduit à l'identification des espèces dont les noms sont résumés dans le tableau 18 :

**Tableau 18** : Résultats de l'identification par le logiciel.

Code	Espèce bactérienne
HC1	<i>Lc.lactis ssp lactis</i>
HC2	<i>Lc. Lactis ssp diacetylactis</i>
HC3	<i>Lc. Lactis ssp diacetylactis</i>
HC4	<i>Lc,lactis ssp diacetylacts</i>
HC5	<i>Lc.lacis ssp diacetylactis</i>
HC6	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>
HC7	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>
HC8	<i>Leu.mesenteroides ssp mesenteroides</i>
HC9	<i>Lc.lactis ssp lactis</i>
HC10	<i>Lc, lactis ssp cremoris</i>
HC11	<i>Leu.mesenteroides ssp mesenteroides</i>
HT1	<i>Lc.lactis ssp diacetylactis</i>
HT2	<i>Leu.paramesenteroides</i>
HT3	<i>Leu.paramesenteroides</i>
HT4	<i>Lc.lactis ssp cremoris</i>
HT5	<i>Lc.raffinolactis</i>
HT6	<i>Lb.fermentum</i>
HT7	<i>Lb.fermentum</i>
HT8	<i>Lb.fermentum</i>
HT9	<i>Lc.raffinolactis</i>
HTH1	<i>Leu.paramesenteroides</i>
HTH2	<i>Lc.raffinolactis</i>
HTH3	<i>Lb.plantarum</i>
HTH4	<i>Lb.plantarum</i>
HTH5	<i>Lb.plantarum</i>

L'aspect des souches bactériennes révèle la dominance de la forme sphérique avec un rapport de 76 % représenté par le genre *Lactococcus* qui occupe la grande portion dont 56 % à côté du genre *Leuconostoc* avec un pourcentage de 20 %. Le reste est représenté par la forme bâtonnet qui regroupe le genre *Lactobacillus* avec un pourcentage de 24 %.

Pour l'huile de la région C, la forme sphérique semble la dominante avec un pourcentage de 100 % de l'ensemble de la collection lactique dont la répartition des espèces est comme suit :

- En premier ordre, se classe *Lactococcus lactis* ssp *diacetylactis* avec un pourcentage de 54,54 % ;
- Se classe en deuxième ordre *Lc. lactis* ssp *lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides* avec le même pourcentage de 18,18% ;
- Enfin, se classe en dernier ordre *Lc. lactis* ssp *cremoris* avec un taux de 9,09 % du total de la collection de la région Cinquième Poste.

Par ailleurs, les souches isolées de l'huile de la région T sont représentées par les deux formes dont celle bacillaire renferme une seule espèce *Lactobacillus fermentum* (HT6, HT7, HT8) avec un taux de 33,33% et qui semble la dominante dans l'ensemble de la collection de la région T. Cependant, la forme cocci regroupe quatre espèces dont les dominantes sont *Lc. raffinolactis* et *Leu. paramesenteroides* avec les mêmes pourcentages de 22,22 %, viennent ensuite *Lc. lactis* ssp *diacetylactis* (HT1) et *Lc.lactis* ssp *cremoris* (HT4) avec un pourcentage de 11,11% de l'ensemble de la collection de l'huile T.

En ce qui concerne l'huile de la région TH, les souches isolées révèlent la dominance de la forme bacille représentée par l'espèce *Lb. plantarum* à un taux de 60 %, la forme cocci regroupe les deux espèces de *Lc.raffinolactis* (HTH2) et *Leu. paramesenteroides* (HTH1) avec le même pourcentage de 20 % de l'ensemble de la collection lactique de cette huile.

En fait, le nombre des travaux réalisés sur la microbiologie de l'huile d'olive est très restreint vu les conditions hostiles à la croissance des microorganismes que représente ce produit alimentaire, cependant, une équipe de recherche avait confirmé en 2002 le passage et le transfert de la flore des olives à l'huile extraite, ainsi, ils ont indiqué que par un inoculum des olives, il est possible d'orienter le développement de la flore microbienne présente dans les huiles d'olives vierges (Ciafardini, 2004).

Les résultats obtenus se concordent à ceux trouvés par plusieurs chercheurs ; *Lb. plantarum* est largement identifiée comme espèce typique de l'huile d'olive, cette espèce est connue par sa résistance aux conditions hostiles dont les bas pH et les fortes acidités (Campaniello et al., 2005). Toutefois, Kacem et al., (2004) ont pu isoler à partir des olives d'origine Algérienne une gamme d'espèces dont la prédominante est celle de *Lc. lactis*, se classe en deuxième ordre *Lb. plantarum*.

**III.3.2. Pouvoir protéolytique :**

**Sur milieu liquide :** Après 24 h d'incubation, nous avons observé le développement d'un trouble homogène dans l'ensemble des tubes, ce trouble homogène caractéristique des bactéries lactiques est le témoin de la croissance bactérienne sur ce milieu mais l'absence de l'éclaircissement du milieu montre qu'il n'y a pas d'hydrolyse des protéines, c'est à dire qu'il y a croissance sans protéolyse sur ce milieu ;

On peut attribuer l'absence de l'activité protéolytique dans ce cas à la composition du milieu de culture, en effet, il a été démontré que la présence des acides aminés libres stimule la production des protéases et d'exopeptidases de certains lactocoques et lactobacilles (Schmidt *et al.*,1994) en parallèle, Eck et Gillis (1997) indiquent que le taux de certains acides aminés libres dans le lait est trop faible.

**Sur milieu solide :** Les résultats de l'hydrolyse des protéines par les souches lactiques sur le milieu YMA sont résumés dans le tableau (20).

**Tableau 20 :** Activité protéolytique des souches étudiées sur milieu YMA.

Souche	Zone de protéolyse en mm	Observation
HC1	6 mm	Croissance avec protéolyse
HC2	4.8 mm	Croissance avec protéolyse
HC3	5 mm	Croissance avec protéolyse
HC4	00	Croissance sans protéolyse
HC5	00	Croissance sans protéolyse
HC6	6.4 mm	Croissance avec protéolyse
HC7	7.4 mm	Croissance avec protéolyse
HC8	00	Croissance sans protéolyse
HC9	5 mm	Croissance avec protéolyse
HC10	00	Croissance sans protéolyse
HC11	00	Croissance sans protéolyse
HT1	7 mm	Croissance avec protéolyse
HT2	00	Croissance sans protéolyse
HT3	00	Croissance sans protéolyse
HT4	00	Croissance sans protéolyse
HT5	00	Croissance sans protéolyse
HT6	00	Croissance sans protéolyse
HT7	00	Croissance sans protéolyse
HT8	00	Croissance sans protéolyse
HT9	5.4 mm	Croissance avec protéolyse
HTH1	00	Croissance sans protéolyse
HTH2	00	Croissance sans protéolyse
HTH3	00	Croissance sans protéolyse
HTH4	00	Croissance sans protéolyse
HTH5	00	Croissance sans protéolyse

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une croissance des bactéries autour des disques mais les zones de protéolyse sont absentes chez la majorité des souches qui font apparaître un petit diamètre de la zone autour des disques qui ne dépasse pas

7.4 mm de diamètre, valeurs beaucoup plus faibles pour attribuer le caractère protéolytique à ces souches car selon Vuilleumard, (1986), une souche est dite protéolytique si elle présente une zone de protéolyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm.

En effet, de nombreux travaux portant sur les aptitudes protéolytiques des bactéries lactiques sont actuellement disponibles (Eck et Gillis, 1997). Ils ont montré que les bactéries lactiques sont dotées de systèmes protéolytiques complexes par leur nature et leur localisation, elles possèdent des endopeptidases dans le cytoplasme ou liées aux paroi et des exopeptidases liées aux paroi (Schmidt *et al.*, 1994).

On peut ainsi attribuer l'absence de l'activité protéolytique des souches étudiées à l'absence des exopeptidases surtout liés au paroi car il est bien établi que les protéines et grâce à leurs charge et leurs poids moléculaire ne peuvent traverser les enveloppes microbiennes, donc pour être utilisées, les protéines doivent au préalable hydrolysées par des enzymes protéolytiques soit exocellulaires, soit liées aux enveloppes (Collins, 1972) ;

De plus, il a été établi que la perte de l'activité protéasique de surface était due à la perte d'un plasmide de  $10^7$  daltons chez les lactocoques (Mc Kay et Baldwin, 1975). Dans le même sens, Desmazeaud, (1983) a attribué la variation de l'activité protéolytique des souches lactiques aux facteurs génétiques en plus des facteurs physicochimiques du milieu. Enfin, Schmidt *et al.*, (1994) ont pris en compte également le stade physiologique de croissance, ainsi, le temps d'incubation prolongé peut se traduire par une diminution de certaines activités protéolytiques.

### III.3.3. Pouvoir texturant :

Les résultats de l'étude de l'activité texturante sur la gélose MRS hypersaccharosée sont résumés dans le tableau (21) :

**Tableau 21:** Résultats du test de l'aptitude texturante.

Souche	Observation	Conclusion
<i>Lc. lactis ssp lactis</i>	Colonies régulières	Test négatif
<i>Lc. lactis diacetylactis</i>	Colonies bombées et peu gluantes	Test douteux
<i>Leu. mesenteroides ssp mesenteroides</i>	Colonies peu gluantes avec aspect brillant	Probabilité de production d'une faible quantité de polysaccharides
<i>Lc lactis ssp cremoris</i>	Colonie de tailles moyennes et peu gluantes	Test douteux
<i>Leu. paramesenteroides</i>		
<i>Lc raffinolactis</i>	Colonies de petites tailles	Test négatif
<i>Lb. fermentum</i>	Colonies régulières	Test négatif
<i>Lb. plantarum</i>	Colonies blanches de moyenne taille	Test négatif



L'étude fait apparaître après 24h d'incubation des colonies caractéristiques des bactéries lactiques, ces colonies sont un peu de grandes taille, mais la forme observée ne suffit pas pour leur attribuer le caractère épaississant à cause de l'absence des colonies suffisamment larges et gluantes, donc même s'il y a production des polysaccharides, elle est très faible

En fait, le pouvoir filant ou épaississant dépend d'un nombre de facteurs, notamment de la nature des souches et des conditions de culture (Schmidt *et al.*, 1994), en effet, il a été montré que la production des polysaccharides est un caractère plus ou moins instable chez certaines bactéries lactiques, pour les souches mésophiles, plusieurs auteurs ont attribué cette instabilité à la perte de plasmide codant pour les enzymes intervenant pour la biosynthèse des polysaccharides (Kojic *et al.*, 1992 ; Lonvaud-Funel *et al.*, 1993 ; Van Kranenburg *et al.*, 1988 ; Van Kranenburg *et al.*, 2000).

Les souches épaississantes confèrent des caractères rhéologiques particuliers portant notamment sur la viscosité (Schmidt *et al.*, 1994).

### III.3.4. Pouvoir antagonistique :

Le tableau (22) résume les résultats des interactions observés entre les souches étudiées.

Les résultats de culture des différentes souches en association montrent qu'il y a un développement de toutes les souches ensemencées, il n'y a pas des zones d'inhibition autour des puits de culture, au contraire, il apparaît une croissance dans toute la boîte de Pétri ce qui nous permet de conclure qu'il y a une symbiose entre les souches étudiées.

**Tableau 22:** résultats des interactions entre les souches étudiées

<b>En masse</b> <b>En puit</b>	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>lactis</i>	<i>Lc.lactis</i> ssp <i>diacetylactis</i>	<i>Lc. lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	<i>Leu.</i> <i>mesenteroides</i>	<i>Lb.</i> <i>plantarum</i>	<i>Lb.</i> <i>fermentum</i>
<i>Lc. lactis</i> ssp <i>lactis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Lc. lactis</i> <i>diacetylactis</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Lc. lactis</i> ssp <i>cremoris</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Leu.</i> <i>Mesenteroides</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Lb.</i> <i>Plantarum</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Lb.</i> <i>Fermentum</i>	–	–	–	–	–	–

– : symbiose

Cela se comprend aisément puisque les principales causes d'interaction entre les microorganismes dérivent de leurs propriétés physiologiques dont l'expression est étroitement dépendante des conditions de culture. Les bactéries lactiques sont des microorganismes exigeants d'un point de vue nutritionnel, parmi les facteurs responsables d'interaction, les facteurs nutritionnels prennent donc une place importante (Juillard et al., 1998) d'où la possibilité de les utiliser sous forme de ferments mixtes ou complexes (Poullain, 1994).

#### III.4. Reconstitution de levains :

Le levain reconstitué et sélectionné est formé d'un mélange des deux espèces : *Lc. lactis ssp diacetylactis* (HC3) et *Lc. lactis ssp cremoris* (HT4) dont la croissance a donné après 24 h un coagulum cohérent et homogène avec peu de lactosérum.

##### III.4.1. Aptitude acidifiante du levain :

L'étude de l'aptitude acidifiante du ferment reconstitué fait apparaître qu'il y a production d'une grande quantité d'acide lactique qui arrive jusqu'à 8.2 g/l après 24 heures, en parallèle, on a remarqué un décroissement du pH jusqu'à 5.3 après la même période d'incubation.

Selon Moge (2004), la qualité d'un levain lactique est définie par sa capacité à produire de l'acide lactique, l'évolution de cette quantité est déterminée dans une période précise et à une température donnée d'où la nécessité d'une illustration de la cinétique d'acidification qui indique en plus du degrés d'acidité, une modification du pH représentée par une courbe selon des périodes séparées par deux heures (figure 13), de même, Eck et Gillis (1997) avaient montré qu'il est plus riche d'information de prendre en considération l'ensemble de la courbe du pH obtenu.

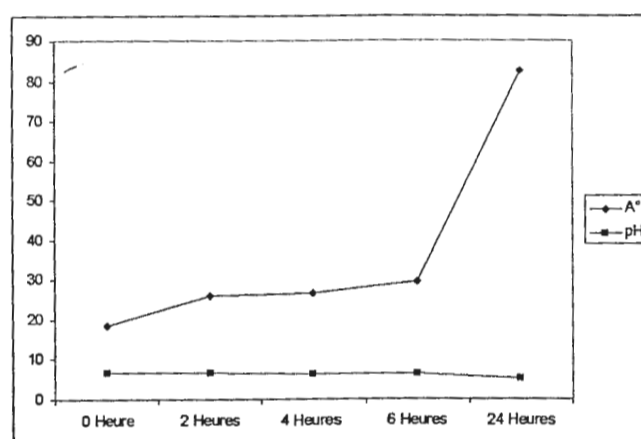


Figure 13 : Pouvoir acidifiant du ferment utilisé

D'après la courbe de la cinétique d'acidification, le levain étudié possède un pouvoir acidifiant important qui permet de le considérer comme de qualité supérieure. En effet, la cinétique d'acidification conditionne au plus haut point les caractéristiques de la saveur et de la texture du produit.

A propos de l'acidité produite par le levain étudié, on peut suggérer que la protection du futur fromage sera plus ou moins active (Moge, 2004).

### III.4.2. Aptitude texturante :

L'étude de l'aptitude texturante sur le lait additionné du saccharose fait montrer après 24 h d'incubation l'aspect filant du milieu de culture c'est à dire que le coagulum obtenu ne présente pas les caractéristiques d'un gel acide.

D'après cette remarque, on peut attribuer à ce ferment le caractère plus ou moins épaississant.

L'activité épaississante confère aux produits des caractères rhéologiques particuliers portant notamment sur la viscosité (Schmidt *et al.*, 1994), cette activité est utilisée de façon contrôlée pour améliorer la texture de certains yaourts afin d'éliminer ou de diminuer l'addition d'agents filants (Vignola, 2002).

### III.4.2. Aptitude aromatisante :

Depuis plus de 60 ans, on sait que les microorganismes peuvent produire des structures chimiques ayant un arôme spécifique. Ainsi, la méthode proposée par Larpent, (1997) nous a permis le dosage des composés volatils produits par le ferment ensemencé sur du lait écrémé.

Les résultats de l'analyse chromatographique sont résumés sur la figure (14)

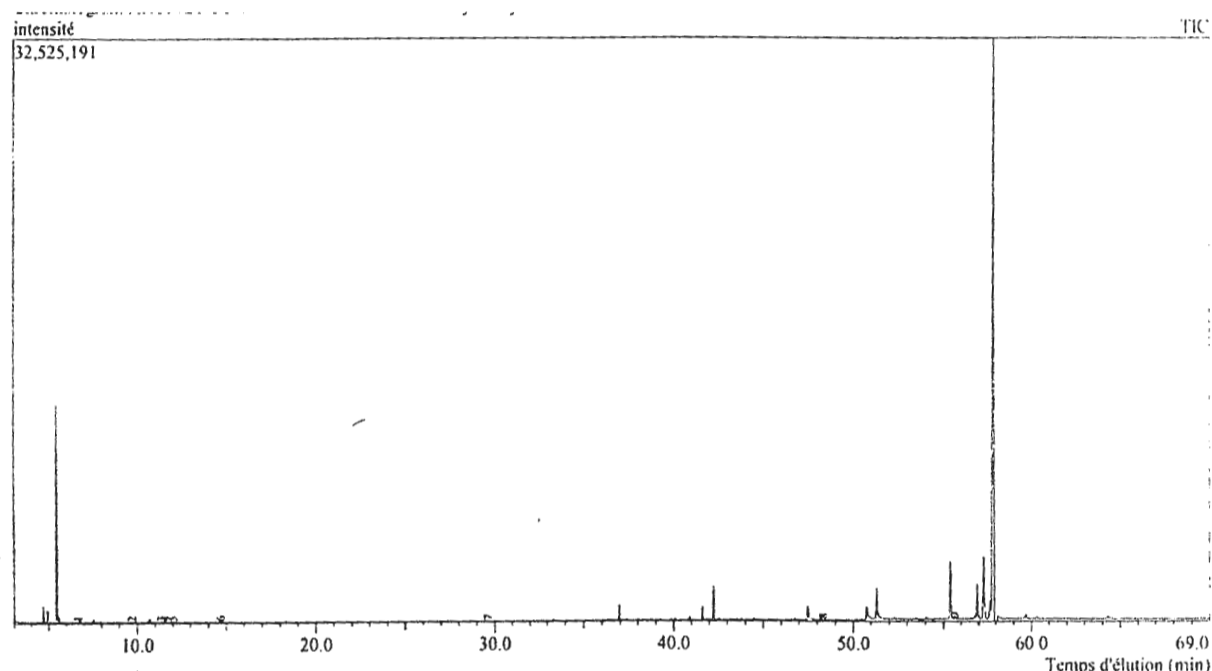


Figure 14 : Aromatogramme du ferment étudié

L'aromatogramme révèle 9 piques avec des surfaces et des temps de rétention différents (annexe 6) ;

L'analyse qualitative permet de révéler une gamme des composés volatils et aromatiques à courte chaîne, de l'ordre de C2, C3 et C4, la méthode permet de détecter notamment l'acétaldéhyde (pique 4), le diacétyl (pique 6), le butanediol (pique 7) et l'éthenediol (pique 5), composés aromatiques qui sont produits principalement lors de la fermentation du lactose, comme on note la révélation de propanediol, composé aromatique dérivé de l'acide propanoïque qui est un acide gras

volatil et contribue ainsi au développement de l'arôme du produit (Linden et Lorient, 1994) ;

Sur le plan quantitatif, les composés aromatiques précédemment décrits sont présents à des quantités faibles de l'ordre de 4.36 % pour l'acétaldéhyde, 1.05 % pour le butanediol et 1.27 % pour le diacétyl, le propanediol semble être présent avec une proportion plus grande (5.28 %) et s'avère le premier qui est élué et se caractérise de ce fait par le temps d'élué le plus court.

Ces composés sont les plus connus comme responsables des arômes des aliments, produits lors des différentes activités impliquées notamment dans les réactions de fermentation ou de protéolyse secondaire (Bugaud *et al.*, 2002).

La production des mélanges aromatiques par des microorganismes est en plein essor et présente un intérêt majeur pour l'industrie alimentaire.

Aussi, étant donné le rôle non encore identifié d'un grand nombre de réactions, il n'est pas possible pour l'heure d'obtenir un résultat notable dans la production artificielle d'un arôme fromager (Linden et Lorient, 1994).

### III. 5. Application en industrie fromagère :

#### III. 5. 1. Fabrication d'un fromage frais :

Au cours de notre étude, nous avons fabriqué un fromage frais, type Demi-sel, qui se caractérise par un caillé lactique, friable et acide, riche en eau éventuellement pauvre en calcium et présente une faible cohésion.

Notre production de fromage frais est présentée dans la photo 4 :

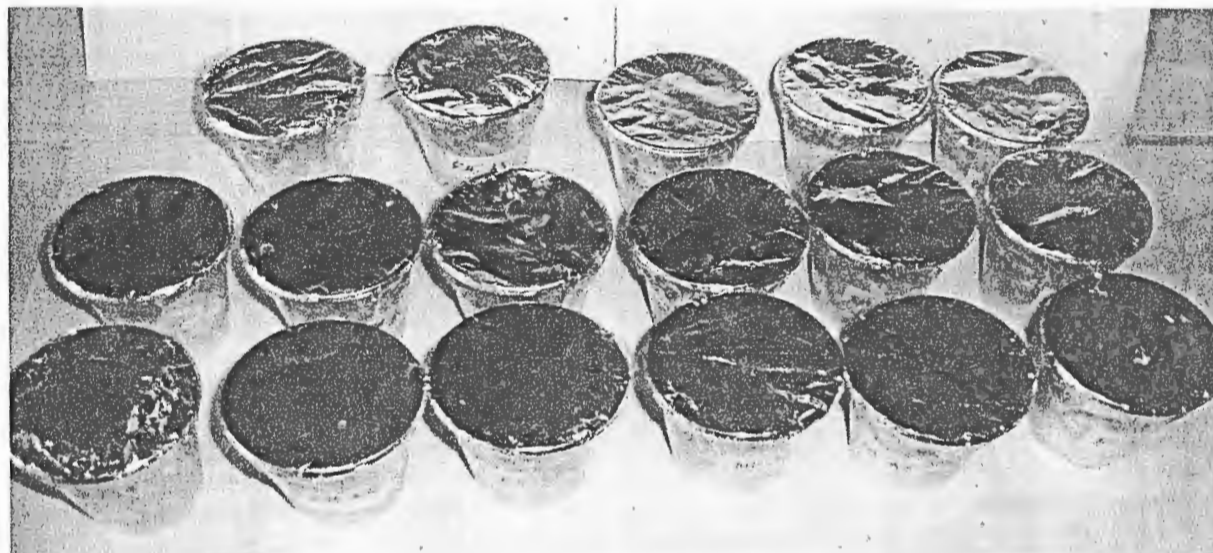


Photo 4 : Fromage frais emballé.

- **Rendement fromager :**

Le calcul du rendement aboutit aux résultats suivants :

MF = 324g

ML = 1040g

R = 31.15 % ;

MF : masse du fromage ; ML : masse du lait

Nous avons obtenu un rendement de 31.15 %, un taux relativement élevé par rapport à ce qui se trouve par les industriels où ils aboutissent à un rendement de 17 à 25 %.

La cause d'élévation du rendement de notre fabrication c'est sûrement l'égouttage qui n'est pas bien effectué par comparaison aux industriels qui mettent en œuvre des moyens plus efficaces et plus aptes.

Cette illustration est en accord avec ce que Vignola (2002) apporte, elle indique que l'intensité de l'égouttage exerce un rôle important sur le rendement mais il reste toutefois une caractéristique même du fromage, il n'est donc pas toujours possible d'augmenter le rendement en diminuant la quantité d'eau extraite durant l'égouttage.

### **III.5.2. Contrôle de la qualité :**

#### **III.5.2.1. Contrôle au cours de la fabrication :**

##### **a. pH et acidité :**

Le tableau 23 rassemble les résultats de l'évolution du pH et de l'acidité au cours des différentes étapes de la fabrication de notre fromage frais.

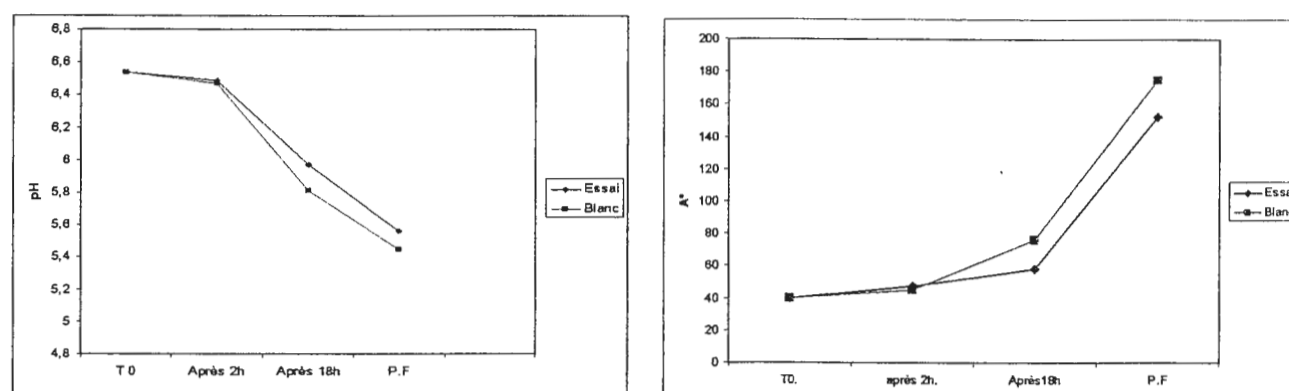
D'après les résultats du tableau 23, il apparaît qu'on a démarré d'un lait qui possède une acidité importante, en fait, cette valeur élevée de l'acidité est due à l'enrichissement de la matière première. Après 2 heures de la fermentation lactique, on assiste à une élévation de l'acidité, cette dernière augmente progressivement jusqu'à atteindre une valeur de 152 °D au niveau du produit fini.

Comme on a remarqué que l'augmentation de l'acidité se fait en parallèle à l'abaissement du pH qui atteint une valeur de 5.56 au niveau du produit fini.

Par comparaison des résultats de l'évolution du pH et de l'acidité du fromage fabriqué avec notre ferment (essai) et celui fabriqué au ferment industriel (blanc), on trouve que la quantité d'acide lactique produite au niveau du fromage témoin est plus élevée que celle de l'essai à chaque point de contrôle, ce qui nous permet de suggérer que le ferment industriel est plus performant que le notre.

**Tableau 23** : Evolution du pH et de l'acidité au cours de la fabrication

		T <sub>0</sub> (M <sup>l</sup> <sub>aire</sub> )	Après 2h	Après 18 h	Produit fini
<b>Essai</b>	pH	6,54	6,49	5,97	5,56
	Acidité °D	40	47	58	152
<b>blanc</b>	pH	6,54	6,47	5,81	5,45
	Acidité °D	40	50	76	175

**Figure 15** : Evolution du pH et de l'acidité au cours de la fabrication

L'augmentation de l'acidité au cours de ces étapes est le résultat de la production de l'acide lactique qui a conduit à abaisser le pH (Vignola, 2002) ; en effet, la formation de l'acide lactique par les bactéries lactiques résulte de la production d'énergie nécessaire à la synthèse de leurs constituants et à leur croissance (Schmidt et al., 1994). Eck et Gillis (1997) rapporte la cause d'augmentation d'acidité à un développement microbien qui concerne la multiplication du ferment.

En tout les cas, cette production d'acide doit donc être la plus régulière possible et permettre d'obtenir un caillé ayant des degrés de minéralisation bien définis (Eck et Gillis, 1997).

#### b. Les matières sèche, minérale et organique :

L'évaluation d'autres paramètres au niveau de la matière première et du produit fini a donné les résultats portés sur le tableau 24 :

**Tableau 24**: Evolution de la teneur en MS, MM et MO au cours de la fabrication.

		MS %	MM %	MO%
<b>Essai</b>	M. l <sup>aire</sup>	4,20	0,75	3,45
	Produit fini	33,33	20	13,33
<b>blanc</b>	M. l <sup>aire</sup>	4,20	0,75	3,45
	Produit fini	35	20	15

Les résultats résumés dans le tableau 24 montrent qu'il y a une augmentation importante de la teneur en matière sèche entre la matière première et le produit fini pour les deux fromages.

On a remarqué que l'augmentation de la teneur en matière sèche était en accord avec l'augmentation de la quantité de l'acide lactique produite, on peut ainsi attribuer une relation entre les deux paramètres.

Selon Schmidt *et al.*, (1994), la production d'acide lactique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait en intervenant comme coagulant et antimicrobien.

De plus, les différentes étapes de la fabrication du fromage ont contribué dans une grande part à la concentration de la matière sèche notamment en éliminant la fraction liquide qui représente le lactosérum. D'autre part, on assiste à une augmentation de la teneur en matière minérale qui atteint un taux de 6,06 %, en fait, au cours des différentes étapes de la fabrication du fromage frais, il se produit une perte importante de la fraction minérale soluble (Vignola, 2002) avec l'évacuation du lactosérum mais l'ajout du sel permet de corriger ces pertes mais non pas en calcium (Dupin *et al.*, 1992).

### c. Densité :

$$V = 10 \text{ ml}$$

$$M = 10.04 \text{ g}$$

$$D = 1.04$$

V : volume ; M : masse ; D : densité.

La valeur de la densité obtenue est relativement faible par rapport à la densité habituelle du lait, et plus faible par comparaison à la densité du lait écrémé.

On peut rapporter cette faible valeur à l'écémage du lait qui n'est pas bien effectué.

Selon Vignola (2002), la matière grasse est le seul constituant du lait qui possède une densité inférieure à 1, de ce fait, plus un lait ou un produit laitier contient un pourcentage élevé en matière grasse, plus sa densité sera basse.

On peut donc affirmer qu'un écémage du lait augmentera sa densité et qu'un mouillage ou une addition la diminuera.

### III.5.2.2. Contrôle au cours du stockage :

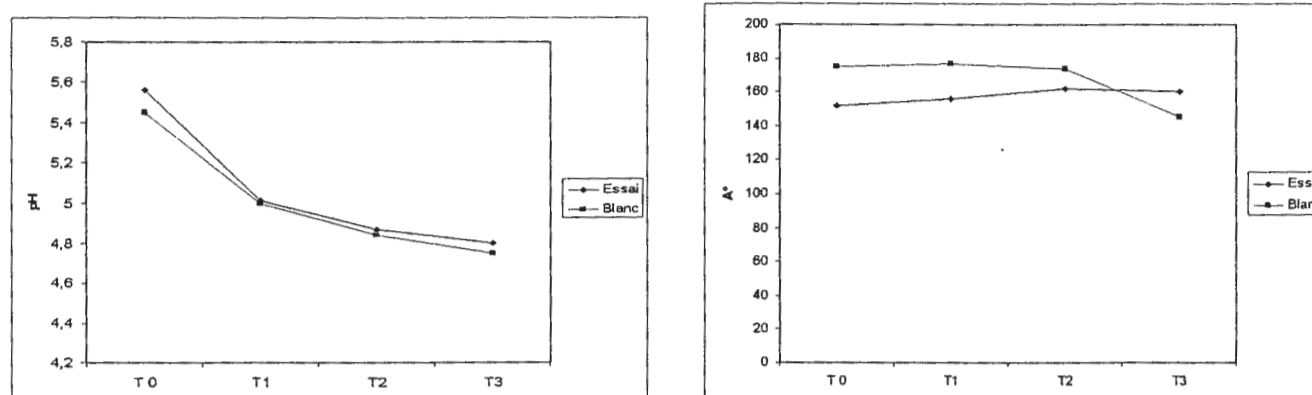
#### a. Contrôle physicochimique :

##### a .1. pH et acidité :

Les résultats de l'évolution du pH et de l'acidité pendant 15 jours de stockage sont résumés dans le tableau 25 et illustrés par la figure 16 :

**Tableau 25** : Evolution du pH et de l'acidité pendant le stockage.

		T <sub>0</sub> =1 <sup>er</sup> jour	T <sub>1</sub> =5jours	T <sub>2</sub> =10jours	T <sub>3</sub> =15jours
<b>Essai</b>	pH	5,56	5,01	4,87	4,80
	Acidité °D	152	156	162	160
<b>Blanc</b>	pH	5,45	4,74	4,84	4,75
	Acidité °D	175	177	174	145

**Figure 16** : Evolution du pH et de l'acidité pendant le stockage.

Au vu de ces résultats, il y a une augmentation de l'acidité durant 5 jours de stockage pour atteindre après 10 jours une acidité maximale de 162 °D, après 15 jours, on assiste à une diminution de cette acidité, témoin d'un recours de la production d'acide lactique et par conséquent de la croissance bactérienne.

Toutefois, on a remarqué que l'augmentation de l'acidité se fait en parallèle avec la diminution du pH qui atteint la valeur minimale après 15 jours estimée à pH 4,80.

L'augmentation de l'acidité a lieu également au niveau du fromage témoin qui atteint une valeur maximale après 5 jours de stockage estimée à 177 °D, l'acidité de ce fromage se stabilise à cette valeur puis diminue à 145 °D après 15 jours de conservation.

L'augmentation de l'acidité est le résultat de la formation de l'acide lactique, la fonction principale des bactéries lactiques. Le fait qu'il y a production d'acide lactique, témoigne de la viabilité des ferments, au contraire, vers le 15<sup>ème</sup> jours, il y a diminution de l'acidité ce qui s'explique par un arrêt de croissance de cette flore vivante. Il y a donc un recours de croissance bactérienne, la flore du fromage n'est plus viable après 15 jours, c'est la péremption, le fromage ne sera plus consommé après ce délai.

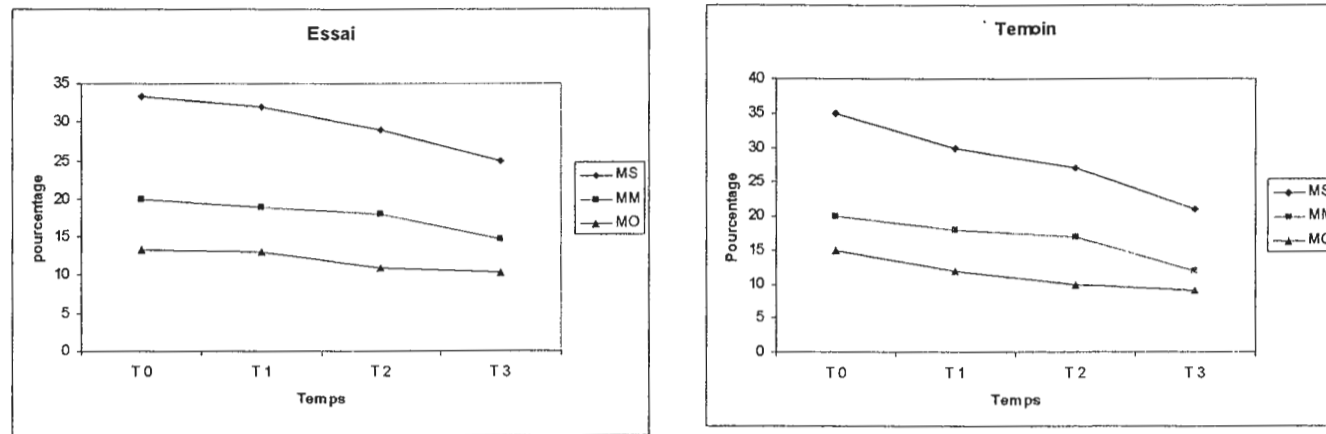
#### a.2. Matière sèche MS, matière minérale MM et matière organique MO :

Les résultats de l'évolution de la teneur en matière sèche, en matière minérale et en matière organique durant 15 jours de stockage sont résumés dans le tableau 26 et illustrés par la figure 15 :



**Tableau 26:** Résultats de la détermination de la MS, MM, MO durant le stockage

		T0	T1 = 5J	T2 = 10J	T3 = 15J
<b>Essai</b>	MS %	33.33	32	29	25
	MM %	20	19	18	14.66
	MO %	13.33	13	11	10.34
<b>blanc</b>	MS %	35	30	27	21
	MM %	20	18	17	12
	MO %	15	12	10	9

**Figure 15 :** Evolution de la MS, MM et MO du fromage frais au cours du stockage

On remarque qu'il y a une diminution légère de la teneur en MS, MM et éventuellement en MO jusqu'à atteindre au bout de 15<sup>ème</sup> jour 25 % en MS pour le test et 21% pour le témoin, la MO arrive jusqu'à 10% pour le test et 9 % pour le témoin, cette diminution est due probablement à l'utilisation de la matière organique par les ferments pour pouvoir se développer et accomplir ses besoins énergétiques et nutritifs.

### c. Contrôle microbiologique :

L'étude de la qualité microbiologique du fromage frais revêt une importance considérable en raison de l'utilisation du lait cru ayant subi une légère pasteurisation lors de la fabrication (Hamama, 1989).

Les résultats de la qualité microbiologique de nos fromage sont montrés par le Tableau 27 :

**Tableau 27** : Résultats de l'analyse microbiologique de nos fromages frais durant 15 jours de stockage évalués en UFC/g.

		T0	T1	T2	T3
<b>Flore Fongique</b>	Essai	$5.10^3$	$35.10^3$	$80.4.10^3$	$91.4.10^3$
	Blanc	$60.10^3$	$65.10^3$	$70.4.10^3$	Indénombrable
<b>Coliformes Totaux</b>	Essai	$2.10^3$	$10.10^3$	$5.10^3$	0
	Blanc	$37.10^2$	$12.10^3$	$6.10^3$	$3.10^3$
<b>CTT</b>	Essai	–	–	–	–
	Blanc	–	$4.10^2$	–	$2.10^2$
<i>Salmonella</i>	Essai	–	–	–	–
	Blanc	–	–	–	–
<b>Staphylocoques</b>	Essai	–	–	–	–
	Blanc	–	–	–	–
<b>Indologènes</b>	Essai	–	–	–	–
	Blanc	–	–	–	+

Il est à noter tout d'abord que notre fromage présente un pH moyen de 5.56 et une acidité de 152 °D, ces valeurs élevées témoignent d'une fermentation importante de ce produit, la flore aérobie mésophile totale et pour cette raison sera considérable et il n'y a pas lieu de l'évaluer (Guiraud, 1998).

Pour la recherche des levures et moisissures, les résultats obtenus montrent des valeurs faibles de l'ordre de  $5.10^3$  UFC/g enregistré au niveau du produit à base de ferment local, le nombre est légèrement supérieur pour le fromage témoin, comme on a remarqué la dominance des levures, pratiquement les moisissures sont absentes.

La flore fongique a tendance à évoluer durant le stockage d'une manière progressive pour les deux fromages mais lors du dernier dénombrement, une différence a été décelée entre les deux produits ou cette flore est indénombrable dans l'échantillon du témoin avec une apparition de moisissures.

On peut expliquer cette différence entre les deux produits par les aptitudes inhibitrices des ferments utilisés ou les résultats mettent en évidence que notre ferment exerce un pouvoir inhibiteur très marqué à l'encontre de la flore fongique.

Bien qu'ils ne soient pas toujours des bons indicateurs pour évaluer le risque sanitaire, le taux des coliformes est évalué, leurs dénombrement fait révéler une moyenne de  $37.10^2$  UFC/g dans le fromage frais témoin, ces germes sont carrément absents dans le fromage test. En fait, les fromages frais ont été fabriqués dans les mêmes conditions.

Par ailleurs, cette flore a évoluée en nombre dans le fromage frais témoin pour atteindre un nombre de  $3.10^3$  UFC/g au 15ème jours de conservation. Cependant, la recherche des CTT dans le produit fini révèle un résultat négatif, l'absence de ces germes est notée pendant toute la durée de stockage pour l'essai, et on a assisté à l'apparition de quelques colonies vers le cinquième jour, leur nombre est estimé à  $4.10^2$ UFC/g.

Les coliformes sont des indicateurs de la qualité hygiénique et n'influencent pas vraiment la qualité sanitaire, ainsi, les règles d'hygiène pour toute fabrication spécifient que le matériels et les ustensiles devraient être conçus de façon à éviter tout danger en matière d'hygiène (codex alimentarius, 1985), ceci est difficile à accomplir dans notre cas où on a procédé à une fabrication traditionnelle sans faire appel à aucun équipement spécial, par ailleurs, au cours de notre fabrication, nous nous sommes assurés que tout le matériels utilisés est d'une bonne propreté, selon Ayaz et al. (1986), les résultats obtenus confirment les bonnes pratiques de fabrication qu'on a suivi.

La recherche des germes pathogènes au niveau du produit fini, le cas du *Salmonella* et Staphylocoques révèle des résultats négatifs, ainsi, l'examen macroscopique du milieu Giolliti-Contoni après 24h montre le verdissement du milieu ce qui indique l'absence des staphylocoques, en outre, l'isolement du *Salmonella* sur gélose Hecktoène n'a pas fait apparaître des colonies caractéristiques de ce genre. Ces résultats sont notés également pendant toute la durée de stockage. De même les indologènes étaient absents au niveau du produit fini et durant la période de conservation.

### c. Contrôle organoleptique :

L'analyse organoleptique des fromages étudiés conduit à l'obtention des résultats résumés dans le tableau 28.

**Tableau 28** : Résultats de l'analyse organoleptique des fromages étudiés

	Essai				Blanc			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
Aspect	4	4	3	1	4	4	2	1
Odeur	4	4	3	1	4	4	2	1
Structure	4	4	4	1	4	4	3	1
Texture	4	4	3	1	4	4	3	1
Saveur	3	4	3	1	4	4	2	1
note	4	4	3	1	4	4	2	1

L'analyse visuelle de l'aspect extérieur par les dégustateurs, a montré que notre fromage frais se présente sous forme d'une pâte blanche dont la texture est granuleuse, et se trouve légèrement liquide, la structure est homogène et présente une faible cohésion.

Ces mêmes remarques ont été notées à l'égard du fromage frais témoin mais avec une cohésion plus élevée et une fluidité moins importante.

Au niveau olfactif, les dégustateurs signalent que nos fromages présentent une odeur dérivée du lait avec un caractère butyreux, mais elle reste acceptable et caractérise l'odeur d'un fromage.

Au niveau gustatif, notre fromage a présenté une saveur salée, largement agréable avec un goût acidulé, l'arôme butyrique est caractérisé. Les dégustateurs ont signalé que le fromage - Essai est plus salé que le témoin mais, en tout cas, il est acceptable.

A propos de ces sensations, les dégustateurs ont ressemblé notre fromage à un fromage frais fabriqué traditionnellement, du fait de leur couleur et leur saveur salée, certains le ressemblent à un fromage fondu.

Quant à l'attribution des notes, ils ont mentionné que c'est un fromage de bonne qualité avec une note de 4, celui témoin a eu une note de 4 également, il est plus agréable.

Après 5 jours (T1), les tests de dégustation montrent que notre fromage conserve ces caractéristiques décrites précédemment sauf qu'on a noté qu'il y a une régression de la saveur trop salée du fromage Essai, de ce fait, les dégustateurs l'ont accepté et lui ont attribué une note de 4 avec mention de bonne qualité. Pour le fromage témoin, lui-même conserve ses caractéristiques et de vient de plus en plus agréable, les dégustateurs lui donnent une note de 4.

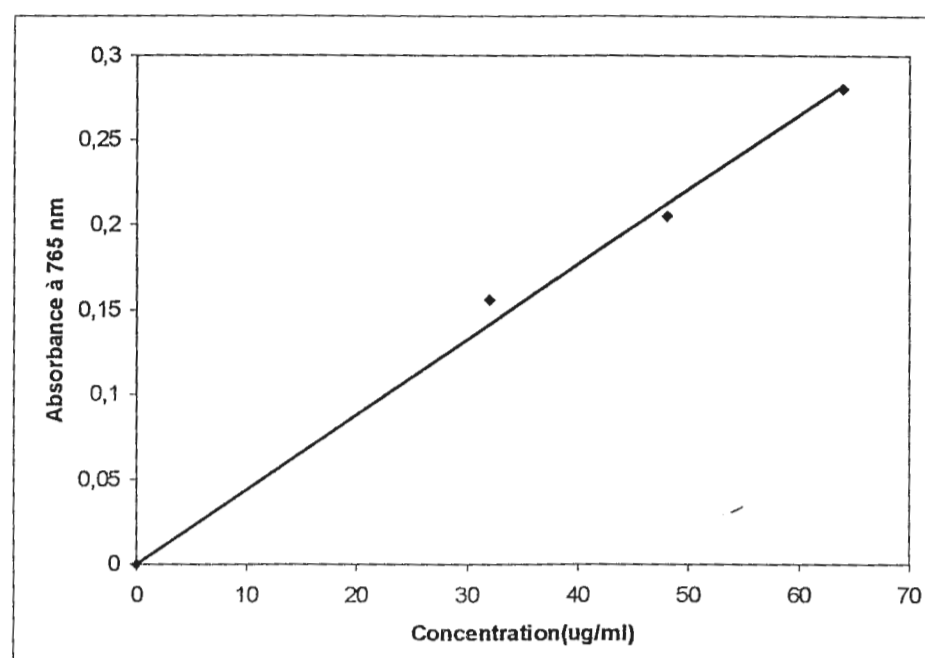
Au bout de dixième jours (T2), les dégustateurs signalent un changement de l'odeur qui devient moins acceptable, l'aspect révèle la présence d'une fine couche (à peine apparente ) de moisissures à la surface du produit, sa saveur présente un arrière goût amer et acidulé. Du fait des odeurs dégagées par les fermentations des moisissures de surface, certains le ressemblent à un camembert ; de ce fait, il est considéré moins acceptable avec une qualité moyenne et une note de 3. Pour le fromage témoin, la perception des saveurs de fermentations ainsi que le début d'apparition des moisissures est plus apprécié, on peut expliquer cette remarque par le taux de sel moins élevé que contient le Blanc par rapport au Essai, les dégustateurs le déclassent et lui attribuent une note de 2 avec qualité médiocre.

Vers le quinzième jours (T3), l'aspect révèle la formation d'une couche épaisse des moisissures en surface, l'odeur est désagréable et de ce fait, les dégustateurs n'ont pas pu le goûter. La même remarque notait pour le Blanc. C'est l'altération des produits, ils atteignent la date de péremption.

*Annexe*

## Annexes :

Annexe 1 : courbe d'étalonnage des polyphénols ( Ghattas, 2004) :



Concentration ( $\mu\text{g/ml}$  d'acide gallique)

Annexe 2 : Dosage des acides gras des huiles étudiées par GC-MS :

Tableau 01 : Acides gras séparés de l'huile de la région TAHER par GC-MS

Nom	Pourcentage	Surface %	Temps de rétention
Acide palmitique	28.53	19.52	10.08
Acide oléique	71.47	80.48	18.691
	100	100	

Tableau 02 : Acides gras séparés de l'huile de la région TASSOUST par GC-MS

Acide gras	pourcentage	Surface	Temps de rétention
Acide palmitique C16 :0	34.03	25.29	10.081
Acide oléique C18 :1 $\Delta$ 8	65.97	74.71	18.681
	100	100	

**Tableau 03 : Acides gras séparés de l'huile de la région Cinquième poste**

Acide gras	pourcentage	surface	Temps de rétention
Acide palmitoléique C16 :1Δ9	3.08	3.32	9.36
Acide palmitique C16 :0	31.26	43.70	10.35
Acide palmitique C16 :0	0.91	1.35	11.70
Acide limoléique C18 :2Δ9,12	6.52	14.89	18.48
Acide oléique C18 :1Δ9	44.52	19.52	19.39
Acide oléique C18 :1Δ9	4.50	4.39	19.52
Acide stearique C18 :0	6.49	7.09	20.80
Acide oléique C18 :1Δ9 (trans)	2.74	5.75	21.16
	100	100	

**Annexes 3 : Fiche de dégustation de l'huile d'olive vierge (C.O.I, 2003).**

<b>Nom :</b>		
<b>Prénom :</b>		
<b>Date :</b>	<b>lieu :</b>	<b>signature :</b>
<b>Dégustation :</b>		
<b>Visuel : couleur – intensité – qualité :</b>		
T :-----		
TH :-----		
C :-----		
<b>Olfactif : intensité – qualité – type – caractère :</b>		
T :-----		
TH :-----		
C :-----		
<b>En bouche : ardeur – amertume – consistance (fluidité, onctuosité) – Intensité et qualité des arômes – persistance aromatique :</b>		
T :-----		
TH :-----		
C :-----		
<b>Harmonie générale – jugement d'ensemble :</b>		
T :-----		
TH :-----		
C :-----		
<b>Note de 0 à 5 :</b>		
T :		
TH :		
C :		



Annexe 4 : Aptitude acidifiante des souches étudiées :

	02 heures		04 heures		06heures		24 heures	
	pH	acidité	pH	acidité	pH	acidité	pH	acidité
HC1	6.51	24.50	6.50	25.00	6.48	26.00	5.60	51.50
HC2	6.53	22.00	6.51	25.00	6.48	27.00	5.52	56.50
HC3	6.57	25.00	6.49	25.50	6.47	30.50	5.22	75.00
HC4	6.49	23.50	6.45	24.00	6.46	28.00	5.78	45.00
HC5	6.56	25.00	6.54	25.50	6.50	26.50	5.22	72.50
HC6	6.52	25.00	6.50	28.00	6.48	28.00	5.28	69.00
HC7	6.52	24.50	6.51	30.00	6.44	30.00	5.27	72.00
HC8	6.52	24.50	6.47	26.00	6.47	28.00	5.83	49.00
HC9	6.50	22.00	6.50	29.00	6.48	29.00	5.15	84.00
HC10	6.50	23.50	6.49	28.00	6.47	29.50	5.20	80.00
HC1	6.48	22.50	6.47	26.50	6.47	28.50	5.17	85.50
HT1	6.48	25.00	6.46	28.50	6.46	29.00	5.50	61.00
HT2	6.50	22.00	6.48	26.00	6.47	27.00	5.58	54.50
HT3	6.56	26.00	6.55	27.00	6.52	27.50	5.63	75.00
HT4	6.57	27.00	6.52	27.50	6.50	28.50	5.42	90.00
HT5	6.46	28.00	6.42	28.50	6.41	28.50	5.47	75.00
HT6	6.60	22.50	6.57	23.00	6.55	24.00	5.03	88.00
HT7	6.59	20.00	6.53	22.50	6.52	24.50	4.99	88.00
HT8	6.55	24.00	6.52	25.00	6.52	27.00	5.04	81.50
HT9	6.56	24.50	6.55	25.00	6.53	27.50	5.16	91.00
HTH1	6.57	27.00	6.55	27.00	6.53	28.50	4.99	91.00
HTH2	6.58	22.50	6.55	26.50	6.52	27.50	5.14	79.00
HTH3	6.62	21.00	6.58	22.50	6.55	23.50	5.12	76.50
HTH4	6.56	23.00	6.50	23.50	6.48	24.50	5.16	76.00
HTH5	6.57	25.50	6.55	26.50	6.52	27.50	4.84	98.00

Annexe 5 : Dosage des arômes du ferment par GC-MS :

	Nom	Pourcentage	surface	Temps de rétention
1	Prpanediol	5.28	2.66	5.86
2	cyclobutanol	1.05	0.42	9.69
3	Butane	3.48	2.41	11.33
4	Acetaldehyde	4.36	4.53	11.55
5	Ethanediol	4.75	5.07	11.99
6	Diacétyl	1.27	2.49	14.68
7	Butanediol	3.09	3.12	29.62
8	Ethyl butyl	25.42	17.69	48.31
9	cyvlobutanone	51.30	61.62	55.66
		100	100	

**Annexe 6 : Aptitude acidifiante du ferment utilisé**

	0 heure	2 heures	4 heures	6 heures	24 heures
pH	6.64	6.57	6.5	6.48	5.32
Acidité	18.5	26	26.5	29.5	82.5

**Annexe7 : Fiche de dégustation du fromage**

	Inacceptable	médiocre	moyenne	bonne	Très bonne	observation
Aspect						
Odeur						
Structure						
Texture						
Saveur						
note	1	2	3	4	5	

### Résumé

Les analyses physicochimiques des échantillons d'huile d'olive vierge collectés de trois régions de la wilaya de Jijel montrent que ces huiles présentent une acidité élevée et sont dépourvues de critères positifs du goût, et sont ainsi considérées de qualité lampante.

De même, l'analyse de la composition montre que ces huiles contiennent des faibles teneurs en polyphénols. Au niveau des acides gras, l'acide oléique reste le composant majoritaire de ces huiles.

D'autre part, on a mis en place un souchier composé de 25 isolats dominé par le genre *Lactococcus* qui occupe à lui seul une proportion de 56%. Cependant, l'étude de leurs aptitudes technologiques a permis de reconstituer un levain mésophile ayant des potentiels technologiques intéressants. Ce dernier a été utilisé pour une application en industrie des fromages frais à l'échelle du laboratoire.

**Mots clés :** Huile d'olive vierge, Flore Lactique, Aptitude Technologique, Levain Mésophile, Fromage Frais.

### Abstract

The physico-chemical analyses of the samples of virgin olive oil collected of three areas from the wilaya of Jijel show that these oils have a high acidity and are deprived of positive criteria of the taste, and are thus considered of illuminating quality.

In the same way, the analysis of the composition shows that these oils contain low contents polyphenols. On the level of the fatty acids, the oleic acid remains the component majority one of these oils.

In addition, one set up strains made up of 25 isolates dominated by the *Lactococcus* kind which occupies with him only a proportion of 56%. However, the study of their technological aptitudes made it possible to reconstitute a leaven mesophil having interesting technological potentials. This last was used for an application in industry of fresh cheeses on the scale of the laboratory.

**Key words:** Virgin olive oil, Lactic Flora, Technological Aptitude, Mesophil Leaven, Fresh Cheese.

### ملخص

التحليل الفيزيوكيميائية لعينات من زيت الزيتون أخذت من ثلاث مناطق لولاية جيجل بينت أن هذه الزيوت تتميز بكموضه عالية و تفنقر للخصائص الموجبة للذوق، و على هذا الأساس فقد اعتبرت ذو نوعية رديئة. أيضا، تحليل مكونات هذه الزيوت بين أن هذه الأخيرة تحتوي على نسبة ضئيلة من عديد الفينول، فيما يخص الأحماض الدهنية، تبين أن حمض oléique يبقى المركب السائد لهذه الزيوت.

من جهة أخرى تم عزل مجموع 25 عزلة لبكتيريا حمض اللبن حيث أن الجنس السائد فيها *Lactococcus* الذي يحتل لوحده نسبة 56%، في حين دراسة القدرات التكنولوجية لهذه البكتيريا سمحت بتشكيل خميرة لبنية *mésophile* تتميز بقدرات هائلة. هذه الخميرة استعملت لتحضير الجبن الطازج على مستوى المخبر  
الكلمات المفاتيح: زيت الزيتون، البكتيريا اللبنية، القدرات التكنولوجية، خميرة *mésophile*، الجبن الطازج.