

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

Université « Dr. Moulay Tahar » de Saida

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire présenté en vue de l'obtention

Du diplôme de Master en : Biologie

Option: Microbiologie appliquée

Par

Dahmani sabah Benali yakout

Microorganismes fermentaires appliqués en
agroalimentaire

Soutenu le 20/09/2021 devant le jury composé de :

Président	Benreguieg Mokhtar	MCA	Université de Saida
Examineur	Halla Nouredine	MCB	Université de Saida
Promoteur	Ghellai Lotfi	MCA	Université de Saida

2020-2021

Remerciements

*Avant tout, Nous remercions le **BON DIEU** Tous Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la patience pour pouvoir accomplir ce travail.*

Tout travail de recherche n'est jamais l'œuvre d'une seule personne. A cet effet, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail en l'occurrence ma famille qui n'a jamais cessé de m'encourager.

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadreur Mr GH'ELLAI, qui m'a accompagné et guidé à travers ses conseils, critiques et recommandations tout au long de ce travail de recherche. Je ne peux que lui être reconnaissante surtout pour ses qualités intellectuelles et humaines. Je remercie également les membres du jury, Mr Benreguiég M et Mr Halla N, qui ont eu l'amabilité d'accepter d'évaluer ce travail, Qu'ils trouvent en ces lignes l'expression de ma reconnaissance.

Dédicace

Nous avons commencé avec plus d'une main, et nous avons subi beaucoup de difficultés, et nous voici aujourd'hui en train de boucler le résumé de notre voyage entre les deux couvertures de ce mémoire.

A notre messager et notre bien-aimé Mohammed....

A la fontaine du don, à la source de mon bonheur, ma mère...à celui qui a été misérable pour moi, à celui qui m'a poussé sur le chemin de succès, pour monter dans la vie, mon père A mes chers frères et sœurs.

A qui nous marché ensemble la voie du succès et de la réactivité, à qui nous avons joint la main, main dans la main, à mes amis.

Résumé

Les fermentations alimentaires, processus utilisés depuis des milliers d'années, sont initialement employées comme système de conservation. Aujourd'hui, une grande part de notre alimentation est constituée d'aliments fermentés : yaourt, pain, fromage, vin, etc. La fermentation est la transformation de matières organiques par des ferments, qui conduit à la transformation d'un aliment, notamment la modification et/ou l'amélioration de ses propriétés organoleptiques. Les ferments ou microorganismes fermentaires utilisés sont soit les bactéries (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, etc.), les moisissures (*Penicillium Geotrichum*, *Aspergillus*, etc.), et les levures (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Brettanomyces*, etc.). Chacun de ces microorganismes possède des capacités fermentaires spécifiques en fonction des conditions extrinsèques et intrinsèques et aboutit à plusieurs types de fermentations: lactique, alcoolique, acétique, propionique, etc. Actuellement, plusieurs microorganismes qualifiés comme ayant des capacités fermentaires suscitent, de plus en plus, l'intérêt des chercheurs et sont massivement étudiés et caractérisés, phénotypiquement et génotypiquement, afin qu'ils aient la possibilité d'être employés en industrie agroalimentaire.

Mots clés : Bactéries, levures, moisissures, Fermentations, Aliments fermentés.

Summary

Food fermentation, a process used for thousands of years, was initially used as a preservation system. Today, a large part of our diet consists of fermented foods: yogurt, bread, cheese, wine, etc. Fermentation is the transformation of organic matter by ferments, which leads to the transformation of a food, in particular the modification and / or improvement of its organoleptic properties. The ferments or fermentation microorganisms used are either bacteria (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, etc.), molds (*Penicillium Geotrichum*, *Aspergillus*, etc.), and yeasts (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Brettanomyces*, etc.). Each of these microorganisms has specific fermentation capacities depending on the extrinsic and intrinsic conditions and results in several types of fermentation: lactic, alcoholic, acetic, propionic, etc. Currently, several microorganisms qualified as having fermentation capacities are increasingly arousing the interest of researchers and are massively studied and characterized, phenotypically and genotypically, so that they have the possibility of being used in the food industry.

Keywords: Bacteria, yeasts, molds, Fermentations, Fermented foods

ملخص

تم استخدام تخمير الطعام ، وهو عملية تستخدم منذ آلاف السنين ، في البداية كنظام للحفاظ اليوم ، يتكون جزء كبير من نظامنا الغذائي من الأطعمة المخمرة: الزبادي ، والخبز ، والجبن ، والنبذ ، إلخ. التخمير هو تحويل المادة العضوية عن طريق المخمرات ، مما يؤدي إلى تحول الطعام ، ولا سيما تعديل و / أو تحسين خصائصه الحسية. الكائنات الحية الدقيقة للتخمير أو التخمير المستخدمة هي إما بكتيريا (*Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus, etc.*)، وعفن (*Penicillium, Geotrichum, Aspergillus, etc.*) وخمائر (*Saccharomyces, Kluyveromyces, Brettanomyces, etc.*). كل من هذه الكائنات الحية الدقيقة لها قدرات تخمير محددة اعتمادًا على الظروف الخارجية والداخلية وتؤدي إلى عدة أنواع من التخمير: اللاكتيك ، والكحول ، والخل ، والبروبيونيك ، وما إلى ذلك. حاليًا ، العديد من الكائنات الحية الدقيقة المؤهلة على أنها تتمتع بقدرات تخمير تثير اهتمام الباحثين بشكل متزايد وتتم دراستها وتمييزها على نطاق واسع ، من حيث النمط الظاهري والجيني ، بحيث يكون لديها إمكانية استخدامها في صناعة الأغذية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا ، الخميرة ، العفن ، التخمير ، الأطعمة المخمرة.

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I. Les microorganismes fermentaires	
1. Les bactéries.....	3
1.1. Les bactéries lactiques.....	3
1.1.1. Taxonomie.....	3
1.1.2. Les cocci.....	3
1.1.2.1. Le genre <i>Leuconostoc</i>	5
1.1.3. Les bacilli.....	6
1.1.3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	6
1.1.3.2. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	7
1.1.4. Rôle des bactéries lactiques dans l'alimentation.....	7
1.2. Les Entérobactéries.....	8
1.2.1. Caractères généraux du groupe.....	8
1.2.2. Les Coliforme.....	9
1.2.3. Genre <i>Escherichia</i>	9
1.2.4. Genre <i>Salmonella</i>	10
1.3. Les microcoques.....	10
1.3.1. Genre <i>Staphylococcus</i>	10
1.4. Les bactéries sporulées.....	11
1.4.1. Les bactéries sporulées aérobies.....	11

1.4.1.1. Genre <i>Bacillus</i>	11
1.4.2. Les bactéries sporulées anaérobies.....	12
1.4.2.1. Genre <i>Clostridium</i>	12
2. Les Moisissures.....	14
2.1. Constitution des moisissures	14
2.2. Reproduction des moisissures	15
3. Les levures	18
3.1. Historique.....	18
3.2. Définition –Taxonomie.....	18
3.3. Mode de reproduction.....	19
3.4. Structure cellulaire.....	19
3.5. Les levures dans les industries agro-alimentaires	20
3.5.1. Utilisation des levures pour la production des boissons alcoolisées	20
3.5.1.1. Les vins.....	21
3.5.1.2. Les cidres.....	22
3.5.1.3. Les bières.....	23
3.5.2. Utilisation des levures pour la panification	23
Chapitre II : Différents types de fermentations microbiennes et applications	
1. La fermentation lactique.....	24
1.1. Les produits laitiers.....	24
1.1.2. Les yaourts.....	25
1.1.3. Le fromage	25
1.2. La charcuterie.....	26
1.3. Les légumes lacto-fermentés.....	27
2. La fermentation alcoolique.....	28
2.1. Le pain	28
2.2. La bière	29
2.3. Le vin.....	30
3. Fermentation propionique.....	30
4. Fermentation acétique.....	31

4.1. Production du vinaigre	31
4.1.1. La méthode allemande.....	31
4.1.2. La méthode d'Orléans.....	31
Chapitre III : Les produits fermentés	
1. Le yaourt	33
1.1.Composition du lait	33
1.2. Fabrication du yaourt	34
1.2.1. Les bactéries nécessaires.....	34
1.2.3. Les étapes de la fabrication	36
1.2.3.1. Réception du lait	37
1.2.3.2. Standardisation du mélange	37
1.2.3.3. Homogénéisation	37
1.2.3.4. Traitement thermique.....	37
1.2.3.5. Temps de retenue puis refroidissement.....	38
1.2.3.6. Fermentation	38
1.2.3.7. Refroidissement et conditionnement	39
2. le kéfir de fruits	40
2.1. Les grains de kéfir	40
2.1.1Composition microbienne des grains de kéfir	40
2.1.2.Interactions symbiotiques des micro-organismes du kéfir.....	41
2.2. Procédé de fabrication du kéfir	42
2.2.1. Ingrédients et leurs apports nécessaires à la fabrication	42
2.2.2. Technologie de fabrication	42
2.2.3. Fermentations et conditions du milieu.....	44
3 .Le pain.....	46
3.1. Définition.....	46
3.2. Etapes de fabrication du pain.....	46
3.2.1. Pétrissage.....	46
3.2.2. Pointage.....	46

3.2.3. Division	46
3.2.4. Apprêt.....	46
3.2.5. Cuisson.....	47
3.2.6. Ressuage.....	47
3.3. Composition de la microflore.....	47
3.4. Différents procédés de fermentation de la pâte à pain	48
3.5.1. La fermentation principale	49
3.5.2. Les fermentations secondaires.....	49
3.5.3. Rôle de la fermentation lactique	49
Conclusion	50
Références	51

Liste des abréviations

%	Pourcentage
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADNr	Acide ribonucléique ribosomique
ATP	Adénosine Triphosphate
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. coagulans</i>	<i>Bacillus coagulans</i>
<i>B. stearothermophilus</i>	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
C°	Degré celsius
CE2	Classe Elémentaire
<i>Cl. Botulinum</i>	<i>Clostridium Botulinum</i>
<i>Cl. botulinum,</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
<i>Cl. butyricum</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Cl. Perfringens</i>	<i>Clostridium Perfringens</i>
<i>Cl. putrefaciens</i>	<i>Clostridium putrefaciens</i>
<i>Cl. Tyrobutyricum</i>	<i>Clostridium Tyrobutyricum</i>
CM1-CM2	Classe Moyenne
CO₂	Dioxyde de carbone
DMI	Dose Minimale Infectieuse
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECUP	<i>Escherichia coli</i> Uro –Pathogène
FTIR	Infrarouge à Transformée de Fourier

g	gramme
G+C	Guanine + Cytosine
GEI	Gastro-Entérite-Infantile
h	Heure
H₂S	Sulfure d'hydrogène
Kg	kilogramme
L	Litre
<i>L. brevis</i>	<i>Lactobacilles brevis</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>L. casei</i>	<i>Lactobacilles casei</i>
<i>L. mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>L. sanfranciso</i>	<i>Lactobacilles sanfranciso</i>
<i>Lb. Casei</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lb. agilis</i>	<i>Lactobacillus agilis</i>
<i>Lb. Brevis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lc. Cremoris</i>	<i>Lactococcus Cremoris</i>
LPS	Lipopolysacchride
min	minute
mm	millimètre
NaCl	Chlorure de sodium
NAD⁺	Nicotinamide Adénine Dinucleotide
O₂	Oxygène
PCR	Polymerase Chain Reaction
PH	Potentiel d'Hydrogène

PM	Poids Moléculaire
<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptocoques agalactiae</i>
<i>S. bovis</i>	<i>Streptocoques bovis</i>
<i>S. cremoris</i>	<i>Streptocoques cremoris</i>
<i>S. duranset</i>	<i>Streptocoques duranset</i>
<i>S. faecalis</i>	<i>Streptocoques faecalis</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>S. lactiset</i>	<i>Streptocoques lactiset</i>
<i>S. paratyphi</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>
<i>S. thermophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>S. typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.thermophilus</i>	<i>Streptocoques thermophilus</i>
sub sp	sous espèce
UFC	Unité Formant Colonie
α	Alpha
β	Beta
γ	gamma
μg	microgramme
μg/Kg	Microgramme par Kilogramme
μm	micromètre

Liste des figures

Figure 1	Morphologie en microscope électronique de <i>streptococcus thermophilus</i>	4
Figure 2	Morphologie en microscope électronique de <i>lactoccus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	4
Figure 3	Un hyphe cloisonné (1mm=1µm).....	14
Figure 4	Cycle de développement classique d'une moisissure	15
Figure 5	Les zygomycètes (<i>Mucor</i>).....	17
Figure 6	Les ascomycètes (<i>Aspergillus sp</i>)	17
Figure 7	<i>Aspergillus niger</i> rencontrées dans le grain de blé, observation au microscope optique (X100)	17
Figure 8	Schéma de <i>Saccaromyces cerevisiae</i>	19
Figure 9	Diagramme montrant les différentes étapes de la fabrication du vinaigre	32
Figure 10	Diagramme de fabrication du yaourt	36
Figure 11	Procédé de fabrication du kéfir de fruits.....	43
Figure 12	Schéma de la métabolisation du glucose par les bactéries du kéfir.....	44

Liste des tableaux

Tableau I	. Exemple d'utilisations des principales moisissures retrouvées en alimentaire	16
Tableau II	Nombre d'espèces de levures qui ont été retrouvées au moins une fois sur le raisin, le vin, le matériel vinaire, etc.	22
Tableau III	Composition du lait	33
Tableau IV	Bactéries et levures présentes dans les grains de kéfir.....	41

Introduction

La fermentation est un phénomène naturel, se produisant lors de la décomposition de la matière organique.

Par ailleurs, l'utilisation de la fermentation par l'homme a débuté de manière empirique. Elle était utilisée initialement pour conserver les denrées, préparer du pain, des boissons alcoolisées... Les études montrent que les Sumériens (Basse Mésopotamie), l'utilisaient déjà 8000 ans avant JC. Il faudra néanmoins attendre le XVIIIème siècle pour découvrir les microorganismes mis en cause.

En 1789, A. Lavoisier écrit le premier article sur la fermentation. Il décrit la « fermentation vineuse » comme une division du sucre en deux portions (alcool et acide carbonique) suite à la réaction d'un « ferment ». De nombreux scientifiques vont alors se lancer dans des recherches sur la fermentation et avancent différentes hypothèses quant à ses causes et déclencheurs. En 1836, trois scientifiques découvrent que la levure est un organisme vivant qui se reproduit par bourgeonnement. C'est Pasteur, en 1857 qui établira que la fermentation alcoolique est due à l'activité métabolique de *Saccharomyces cerevisiae* (levure de bière). Il étudiera ensuite les fermentations acétique, butyrique et lactique, et démontrera que la fermentation est une réaction chimique et biologique, en cultivant les bactéries et levures mises en cause. C'est par ailleurs lui qui donnera la première théorie générale des fermentations: « toute fermentation d'une solution de sucre ou de matière organique résulte de l'activité métabolique d'un micro-organisme spécifique, et s'accompagne de la formation de produits caractéristiques (alcools, acides, cétones et gaz carboniques) ». La fermentation est utilisée dans de nombreux procédés industriels, et est présente dans l'alimentation du monde entier. D'après la norme AFNOR NFX 42-000 de décembre 1986 : « bio fermentations qui utilisent les microorganismes », la fermentation se définit par la « dégradation des substrats glucidiques sans utilisation d'oxygène ». Plus récemment, et suite aux découvertes du XXIème siècle, on caractérise la fermentation comme « l'oxydation de composés organiques sans utilisation d'oxygène, grâce à des systèmes enzymatiques caractéristiques, avec divers composés organiques comme accepteurs d'électrons, souvent sans éjection d'électrons à l'extérieur de la cellule ».

De nos jours, plusieurs microorganismes qualifiés comme ayant des capacités fermentaires suscitent, de plus en plus, l'intérêt des chercheurs et sont massivement étudiés et caractérisés, phénotypiquement et génotypiquement, afin qu'ils aient la possibilité d'être employés en industrie agroalimentaire.

Ce mémoire avait pour objectif d'établir un aperçu bibliographique général sur les microorganismes appliqués en industrie agroalimentaire pour ses capacités fermentaires.

Le manuscrit comporte trois chapitres portant sur :

- i/ Les microorganismes fermentaires ;
- ii/ Différents types de fermentations microbiennes et applications ;
- iii/ Les produits fermentés.

Chapitre I : Les microorganismes fermentaires

1. Les bactéries

1.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets Gram+, catalase-. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Les bactéries lactiques sont en général aérotolérantes. Cependant certaines espèces, habitants le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes. Même en présence d'O₂ elles sont incapables de réaliser la phosphorylation oxydative. L'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent une pseudo catalase (**Bourgeois et al., 1996**).

1.1.1. Taxonomie

Le groupe des bactéries lactiques inclut les agents de fermentations produisant de l'acide lactique : bacilles (*Lactobacillaceae*) et coques (*Streptococcaceae*).

1.1.2. Les cocci

Les *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* sont des cocci sphériques ou ovoïdes, en paires, en chaînettes ou en tétrades, en général immobiles (sauf *Ec. casseliflavus*). Le métabolisme est fermentaire et peut donner à partir des glucides, de l'acide lactique ou un mélange d'acide lactique, acétique, formique de l'éthanol et du CO₂ (*Leuconostoc*). Les besoins nutritionnels sont souvent complexes, la catalase est absente (parfois variable chez *Pediococcus*) [(**Bourgeois et al.,1996**) ;(**Guiraud,1998**)].

Les genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ont été anciennement regroupés en un genre unique *Streptococcus*.

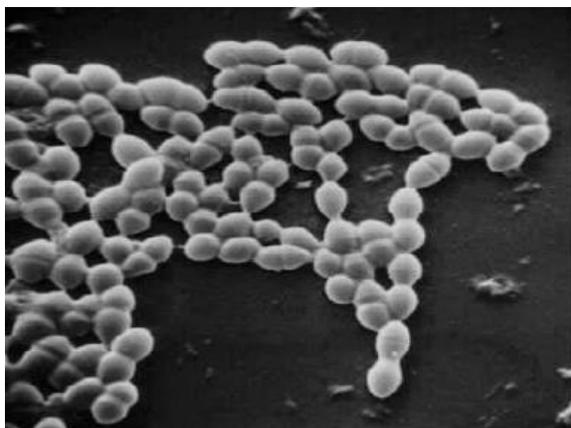


Figure 01. Morphologie en microscope électronique de *streptococcus thermophilus* (liebefeld, 2002)

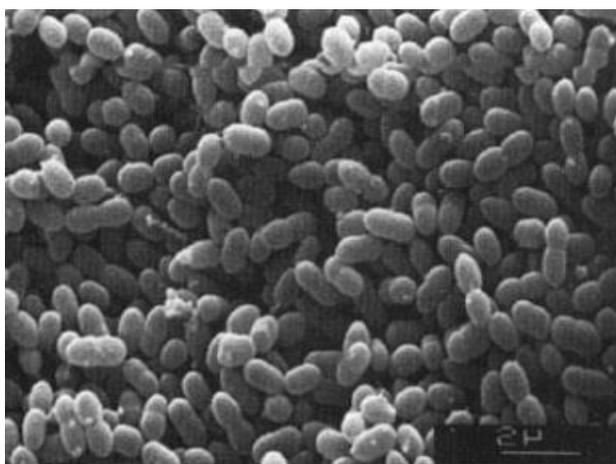


Figure02.Morphologie en microscope électronique de lactoccus lactissubsp . diacetylactis(Teuber et Geis, 2006).

Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement microaérophiles. Ils se développent bien à 37 C°. La plus part des espèces ne sont pas capsulées. Ils ont fréquemment un pouvoir hémolytique et peuvent être regroupés par des tests sérologiques. Certaines espèces sont pathogènes en dehors du cadre alimentaire ; elles peuvent cependant se trouver dans les aliments (Streptocoques des mammites dans le lait) et provoquer des infections.

De nombreuses espèces sont saprophytes, en particulier dans les produits laitiers.

Certaines espèces sont abondamment utilisées dans les industries de fermentation lactique (laiterie, beurrerie, fromagerie, mais aussi saumures et salaisons. Ce sont les agents d'acidification et de coagulation lactiques en fromagerie. Les Streptocoques ont été classés au départ en quatre groupes d'espèces de *Streptococcus* selon les critères de Shermann[(**Bourgeois et al., 1996**) ; (**Guiraud, 1998**)].

- **Le groupe pyogenes** contient des streptocoques pathogènes, hémolytiques (hémolyse β) et appartenant aux groupes sérologiques de Lancefield A B C E F G H. L'espèce type est *S. pyogènes* (groupe A). Après 1 à 3 jours d'incubation, les troubles se manifestent par des maux de gorge, céphalées, vomissement et fièvre. Les aliments incriminés sont le lait, les œufs et crèmes glacées, les pâtisseries. L'espèce *S. agalactiae* (groupe B), agent de mammites, est parfois rencontrée dans l'alimentation.

- **Le groupe viridans** comprend les streptocoques à hémolyse α ou γ (groupe K).

L'espèce *S. thermophilus* est un agent d'acidification fréquent dans certains fromages et surtout les yaourts.

- **Le groupe lactique** comprend les streptocoques non hémolytiques (γ), appartenant au groupe sérologique N et contient des espèces très importantes en fromagerie, *S. lactis* et *S. cremoris* désormais appelé *Lactococcus lactis*, *Lc. Cremoris*

- **Le groupe des entérocoques** est le groupe des streptocoques fécaux appartenant au groupe sérologique D. Ce sont des commensaux de l'intestin à hémolyse α , β ou γ . Les germes les plus rencontrés en alimentation sont essentiellement *S. faecalis*, *S. durans* et *S. bovis*, ils sont maintenant classés comme *Enterococcus*. Ce sont des germes test de contamination fécale, ils ne sont qu'exceptionnellement pathogènes, ce sont alors des pathogènes opportunistes avec des doses infectantes fortes (10^8 à 10^{10} cellules). *Enterococcus faecalis* résiste à 6.5 % de Na Cl et 30 minutes à 60 C° [(**Bourgeois et al., 1996**) ; (**Guiraud, 1998**)].

1.1.2.1. Le genre *Leuconostoc*

Les *Leuconostoc* sont des cellules Gram-positives : coccoïdes, par paires ou par chaînettes. Non mobiles, a sporulées, anaérobies facultatives. Leur métabolisme est fermentatif et respiratoire. En anaérobiose, elles fermentent le glucose principalement en acide lactique,

éthanol et CO₂ (fermentation hétérolactique). Elles sont généralement capsulées ce qui entraîne l'apparition d'une viscosité dans le milieu. Elles ne sont pas hémolytiques ni pathogènes. Elles produisent des accidents de fabrication dans les produits acides et sucrés (piqûre lactique gazogène, viscosité), dans certains fromages (bleus) elles facilitent l'ouverture par la production de CO₂. Elles interviennent aussi dans les ensilages (*L. mesenteroides*) et les végétaux fermentés : les olives, la choucroute, etc., mais aussi le cacao et le café. Elles se trouvent notamment sur divers produits laitiers et boissons fermentées. Le pourcentage G+C est environ 38 à 44. L'espèce type est : *L. mesenteroides* [(Singleton ,1999) ; (Guiraud, 1998)].

1.1.3. Les bacilli

Les *Lactobacillus* et les *Carnobacterium* sont des bactéries Gram+, pléomorphes, asporogènes, immobiles (sauf *Lb. agilis*). Oxydase et catalase-, pour la plupart aérotolestants, saccharoclastiques, nitrate-, gélatine-, caséine-, indole-, H₂S-, pigmentation-. Certaines souches possèdent une pseudocatalase. Leur GC % varie de 32 à 53 % [(Singleton ,1999) ; (Guiraud, 1998)].

1.1.3.1. Le genre *Lactobacillus*

Ce genre contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles souvent allongés ou coccobacilles, Gram+, asporulés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles. Anaérobies, microaérophiles ou aérobies facultatifs. Habituellement catalase-(certains ont une pseudocatalase). Certains sont homofermentaire obligés (*Lactobacillus delbrueckii*), d'autres sont hétérofermentaires (*Lb. brevis*) et d'autres sont hétérofermentaires facultatifs (*Lb . casei*). Ils sont acidophiles, peut protéolytiques et peut lypolytiques. Se trouvent sur la végétation, dans la microflore naturelle de l'homme et dans divers produits alimentaires fermentés. Le pourcentage de G+C est d'environ 32 à 53.

L'espèce type est : *Lb. Delbrueckii* [(Singleton ,1999) ; (Guiraud, 1998)].

1.1.3.2. Le genre *Bifidobacterium*

Chez l'homme, les *Bifidobacterium* sont des commensaux de la bouche, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin, des bronches et du vagin. Chez l'animal, ils sont surtout mis en évidence dans la flore intestinale. Ces bactéries sont des bâtonnets de morphologie variées, cellules courtes, coccoidales, cellules ramifiées, bifurquées, spatulées, isolées ou en chaînes, disposition en V ou en palissade. Ces bactéries sont Gram+, non acido-alcool-résistantes, non sporulées, immobiles, anaérobies, bien que quelques espèces tolèrent l'O₂ en présence de CO₂. Le genre est caractérisé par la présence d'une enzyme : la fructose-6-phosphate phosphocétolase. La température optimale de croissance ne dépasse pas 39 °C pour les espèces d'origine humaine, alors que les espèces d'origine animale préfèrent 43-45°C. *Bifidobacterium bifidus* meurt à 60 °C. La croissance des *Bifidobacterium* n'est pas possible à pH 4,5-5 et pH 8-8,5. Ces bactéries sont glucidolytiques et donnent de l'acide acétique et lactique; elles produisent de petites quantités d'acide formique, d'éthanol et d'acide succinique. L'acide butyrique et propionique ne sont pas produits. Les espèces en général sont catalase-. La présence d' α -galactosidase différencie rapidement les *Bifidobacterium* des *Lactobacillus*. Le GC % est de 57,2-64,5 % (**Bourgeois et al.,1996**).

Les *Bifidobacterium* ainsi que les espèces de *Lactobacillus* peuvent avoir une fonction préventive contre la colonisation par les entéropathogènes. *Bifidobacterium* anciennement *Lactobacillus bifidus* est utilisé dans certains yaourts «probiotiques». Sa présence entraînerait un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène(**Guiraud,1998**).

1.1.4 Rôle des bactéries lactiques dans l'alimentation

Le pH normal du lait est de 6,6, la croissance des bactéries lactiques se traduit par une acidification du milieu entraînant la coagulation de la caséine, à partir du pH 4,6 on obtient ainsi le caillé. La viscosité du lait peut être modifiée par les capsules mucilagineuses de quelques bactéries telles que *Leuconostoc*spp. Les bactéries lactiques produisent une variété de substances impliquées dans la saveur : acétoïne, acétaldéhyde, acétone, éthanol, diacétyl. Ces substances contribuent aux caractères organoleptiques des produits laitiers.

On a également une lipolyse qui hydrolyse les acides gras libres avec formation d'acides cétoniques et de méthyle cétone, une protéolyse donnant : des peptides, des acides aminés jusqu'à l'ammoniac; cette succession d'opérations enzymatiques contribue à l'affinage des fromages [(**Bourgeois et al.,1996**) ;(**De Roissart et Luquet, 1994**)].

Les potentialités inhibitrices des bactéries lactiques sont importantes.

Le phénomène d'inhibition peut inclure un ou plusieurs mécanismes : compétition nutritionnelle, changement physico-chimique du milieu (pH, formation d'agents réducteurs), formation de produits antimicrobiens à large spectre (acides organiques, peroxyde d'hydrogène) et production de bactériocines[(**Bourgeois et al., 1996**) ;(**De Roissart et Luquet, 1994**)].

Les bactéries lactiques interviennent aussi par l'amélioration de la digestibilité et des qualités sensorielles des produits de fermentations, en libérant des enzymes exocellulaires et, après leur lyse, des enzymes endocellulaires[(**Bourgeois et al,1996**) ;(**De Roissart et Luquet, 1994**)].

1.2. Les Entérobactéries

1.2.1. Caractères généraux du groupe

Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* se trouvent comme parasites, parfois pathogènes ou commensaux chez l'homme et autres animaux, et comme saprophytes dans le sol et les eaux. Ils sont très répandus dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par les matières fécales animales et des eaux d'égouts.

Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents. Certains sont dangereux et peuvent être à l'origine d'intoxications. Cette famille comprend des bacilles Gram-, non sporulant, anaérobies facultatifs, mobiles (le plus souvent flagellés péri triches) ou non, isolés ou par paires. Chimioorganohétérotrophes, croissent habituellement sur des milieux de base.

Les sources de carbones incluent les sucres. Métabolisme respiratoire et fermentatif. Oxydase-, catalase+, à l'exception de quelques souches [(Singleton, 1999) ;(Guiraud,1998)].

Bactéries indicatrices, elles peuvent signifier un défaut d'hygiène lors des processus de fabrication: une contamination fécale, environnementale, une insuffisance des procédés de traitements, un défaut d'hygiène du matériel et de l'équipement utilisés, ou une contamination croisée d'une autre origine (végétale par exemple). Pour les produits prêts à consommer et conservés sous réfrigération, les entérobactéries peuvent également signifier une conservation à des températures trop élevées ou pendant une durée trop longue.

1.2.2. Les Coliforme

C'est un groupe de bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. On appelle coliforme tout bacille Gram-négatif, non sporulant, anaérobie facultatif, capable de fermenter le lactose dans 48 heures, avec formation d'acide et de gaz, à 37°C, *Escherichia coli* est un coliforme typique. Mais il y a aussi d'autres coliformes: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. En microbiologie alimentaire les coliformes sont une flore indicatrice de contamination fécale et de bons marqueurs de la qualité hygiénique générale d'un aliment [(Singleton,1999) ;(Sutra et al., 1998)].

1.2.3. Genre *Escherichia*

Il existe plusieurs espèces d'*Escherichia*, la plus importante est *E. coli*. Elle est lactose+, gazogène, réalise une fermentation mixte, elle produit de l'indole. C'est un hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux, et est très abondant dans les matières fécales.

Certains sérotypes peuvent être pathogènes et provoquent des troubles digestifs spécifiques, possédant une ou plusieurs toxines (hémolysine, cytotoxine, et entérotoxine).

On trouve les *E. coli* GEI responsables de Gastro-Entérite-Infantile (céphalée, fièvre, vomissement, diarrhée), certains biotypes sont rencontrés dans les infections urinaires: ECUP (*E. coli* Uro -Pathogène). Des produits d'origine animale (viandes et certains produits laitiers), parfois l'eau, sont incriminés dans la contamination par *E. coli*. Les infections sont le plus souvent causées par la consommation de viande de boeuf contaminée et insuffisamment cuite, mais peuvent également être dues à la consommation d'eau, de lait cru, de fruits, légumes, etc. [(Sutra et al., 1998) ;(Guiraud, 1998)].

1.2.4. Genre *Salmonella*

Les *Salmonella* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Habituellement mobiles, leurs réactions typiques sont les suivantes : tests IMViC -, +, -, + ; glucose+ (formation d'acide et de gaz à 37 °C); généralement lactose-, H₂S+. Uréase-; lysine et ornithose décarboxylase+. Les salmonelles peuvent croître sur les milieux de base par exemple, sur la gélose Mac Conkey. Pathogènes chez l'homme et les animaux. % GC environ 50-52. Les salmonelles s'identifient selon les sérotypes. La classification de Kaufmann-White répertorie environ 2000 sérotypes Chacun d'eux est défini par ses antigènes O et H et pour certains, par l'antigène Vi (**Singleton, 1999**).

La contamination des produits alimentaires peut être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains du germe. On retrouve les salmonelles surtout dans les produits d'origine animale (œufs, lait, viandes, volaille, charcuterie, poisson), l'eau polluée et les produits consommés crus. Les salmonelles produisent deux types de toxine (entérotoxine et cytotoxine). *S. typhi* et *S. paratyphi A, B et C* provoquent des maladies infectieuses appelées respectivement fièvre typhoïde et paratyphoïde, la dose infectante est de l'ordre de 10⁵ germes. L'incubation dure de 1 à 25 jours, généralement 15 jours. La maladie se déclenche avec des symptômes digestifs (vomissement, diarrhée, douleurs abdominales) avant d'entrer dans une phase septicémique lymphatique avec fièvre et torpeur (typhos), cette action est due à l'action au niveau cérébrale d'une endotoxine neurotrope LPS (**Guiraud, 1998**).

1.3. Les microcoques

1.3.1. Genre *Staphylococcus*

Les membres de ce genre sont des coques Gram+, souvent en amas. Certaines espèces contiennent des pigments caroténoïdes orange ou jaune. Non mobiles, anaérobies facultatifs, chimioorganohétérotrophes. Leurs sources de carbone incluent divers sucres, communément halotolérants et catalase+. Les staphylocoques sont répartis en souches coagulase+ et souches coagulase-. Parmi les premières, figurent *S. aureus* et *S. intermedius*; parmi les dernières, *S. epidermidis*. Ils sont commensaux et pathogènes chez l'homme et chez d'autres animaux. Le pourcentage de G+C est d'environ 30 à 39. Les milieux habituellement utilisés pour leur

culture sont: le milieu Chapman et le milieu Baird -Parker [(Singleton, 1999) ;(Catteau, 1996)].

S. aureus coagulase+ est pathogène, il produit des entérotoxines thermostables libérées dans l'aliment lors de la croissance, il s'agit d'une protéine (PM 26000 à 35000) qui agit sur les récepteurs intestinaux et gastriques (nerf pneumogastrique, hypothalamus).

L'intoxication est caractérisée par une incubation de courte durée (1 à 6 heures en moyenne 3 heures), puis par des symptômes variés: nausée, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, céphalée, chute de la tension artérielle, hypermobilité intestinale, quelque fois fièvre. La DMI (Dose Minimale Infectieuse) est de l'ordre de 10^5 à 10^6 germe/g, la quantité de toxine dangereuse pour l'homme est de 0,1 à 10 $\mu\text{g/Kg}$. Les aliments dangereux sont nombreux: viandes, plats cuisinés, produits à base de lait ou d'œufs, pâtisserie, crèmes glacées, etc. Les entérotoxines ne sont pas hydrolysables par les protéases digestives (pepsine, trypsine), très résistantes aux traitements thermiques, résistent à la pasteurisation (60°C/30 min), elles résistent jusqu'à 30 min/100°C.

L'empoisonnement alimentaire se fait usuellement par l'aliment contaminé par des blessures infectées des mains, par la flore normale de la peau ou de l'appareil respiratoire des manipulateurs. Les aliments à haute concentration en sels et en sucres constituent un bon milieu de croissance pour *S. aureus* [(Catteau, 1996) ;(Guiraud, 1998)].

1.4. Les bactéries sporulées

1.4.1. Les bactéries sporulées aérobies :

1.4.1.1. Genre *Bacillus*

Ce sont des bâtonnets Gram+, habituellement mobiles à endospores, la morphologie de la spore est un critère important pour la classification. Aérobies ou anaérobies facultatifs selon les espèces, catalase+. Leur métabolisme est respiratoire ou facultativement fermentatif.

La plupart des espèces sont chimioorganohétérotrophes. Beaucoup peuvent croître sur la gélose nutritive. Se trouve comme saprophytes dans le sol et les eaux. Certaines espèces peuvent être pathogènes pour l'homme et d'autres animaux (y compris les insectes), le pourcentage de G+C est de 30 à 70. Ils contaminent de nombreux produits alimentaires et sont souvent protéolytiques. En raison de leur aptitude à la sporulation, ils résistent à des conditions défavorables et peuvent être des agents de dégradation des conserves alimentaires. *B. stearothermophilus*, *B. coagulans* et *B. cereus* sont des espèces fréquentes dans le sol, sur les végétaux, et en particulier les céréales, la peau des animaux. Elles sont souvent impliquées dans des toxi-infections (ufc 104 à 107 germe/g) [(Singleton, 1999) ; (Catteau, 1996) ; (Guiraud, 1998)].

B. cereus produit cinq toxines : l'hémolysine, la phospholipase C, la murine, la cytolysine, une toxine émétisante), les aliments incriminés sont les viandes, les plats cuisinés, le lait, les pâtisseries, certains produits végétaux.

1. 4.2. Les bactéries sporulées anaérobies :

1.4.2.1. Genre *Clostridium*

Ces bactéries appartiennent à la famille des *Bacillaceae*. Il s'agit de bactéries communément rencontrées dans le sol, les eaux d'égout et l'intestin. Elles peuvent contaminer et dégrader les produits alimentaires dans des conditions anaérobies (conserves).

Les *Clostridium* sont des bacilles Gram+, souvent de grande taille, isolés ou en chaînettes.

La forme et la position de la spore est importante en taxinomie (la spore résiste plusieurs minutes à 100 °C), ils sont généralement immobiles. Catalase- et anaérobies strict, l'oxygène est létal pour ces espèces. Ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires.

En anaérobiose ils sont protéolytiques ou saccharolytiques selon les espèces et fréquemment gazogènes. Ils contaminent de nombreux produits : l'eau, le lait, le poisson, les aliments fermentés ou congelés et surtout les conserves alimentaires.

Ils dégradent les sucres et les protéines en libérant de l'acide butyrique ou de l' H_2S . Quelques espèces sont responsables d'intoxication ou gastroentérite (*Cl. perfringens*) ou de graves intoxications souvent mortelles (*Cl. botulinum*).

Les *Clostridium* sont classés en fonction de leur métabolisme et de leur action sur les substrats, on distingue :

- **Les *Clostridium saccharolytiques*** sont gazogènes (CO_2 , H_2 , H_2S), ils produisent souvent de l'acide butyrique, acidifient et coagulent le lait, ne liquéfient pas la gélatine, il s'agit d'espèces mésophiles : *Cl. butyricum*, *Cl. Tyrobutyricum*
- **Les *Clostridium*protéolytiques ou putréfiants** sont des agents très actifs de dégradation des protéines, peut fermentatifs et peut gazogènes (H_2S), liquéfient la gélatine, digèrent la caséine du lait avec ou sans coagulation : *Cl. botulinum*, *Cl. putrefaciens*
- **Les *Clostridium*** à la fois protéolytiques et saccharolytiques liquéfient la gélatine, mais possèdent également une intense activité fermentaire (H_2S), ils sont souvent appelés des *Clostridium* «sulfitoréducteurs» [(Singleton, 1999) ; (Guiraud, 1998)].

2. Moisissures

Le terme moisissures désigne certains micro-organismes au développement filamenteux (**Peyru et Granperri, 2014**).

Ce sont des champignons microscopiques qui se propagent au moyen de spores.

Les moisissures sont des organismes pluricellulaires le plus souvent hétérotrophes, c'est-à-dire que ces organismes ne synthétisent pas leur propre matière organique et qu'ils ont besoin de prélever des constituants organiques préexistants pour s'approvisionner en carbone.

2.1. Constitution des moisissures

Les champignons forment un règne à part : le règne fongique qui se différencie de celui des plantes et des animaux bien qu'ils soient eucaryotes. Leurs cellules sont donc dépourvues de chlorophylles et de plastes.

Ce sont thallophites cryptogames cellulaires, c'est-à-dire qu'ils n'ont ni feuilles et de tige, ni fleurs et graines et, qu'ils n'ont ni vaisseaux ni racines.

Le champignon forme un enchevêtrement de filaments microscopiques ramifiés et diffus, tubulaires et très minces (de 2 à 5 μm de diamètre) que l'on appelle mycélium (**Peyru et Granperri, 2014**).

Ces filaments multinucléaires, ou hyphes, sont constitués de cellules cylindriques dont les parois sont composées de callose, d'hémicellulose, de chitine et de polysaccharides (glucane). A l'intérieur de ces cellules on trouve un noyau de petite taille, une vacuole centrale et un cytoplasme qui contient des ribosomes, des mitochondries et un réticulum endoplasmique.

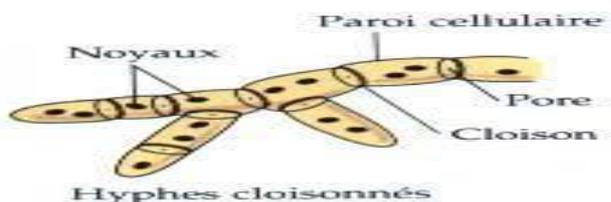


Figure 03. Un hyphe cloisonné (1mm=1 μm) (**Anonyme1**).

Les moisissures sont :

-hétérotrophes et saprophytes (pour la plupart) : ils prélèvent leurs constituants organiques au détriment d'un substrat inerte ou en décomposition.

-absorbotrophes.

Elles absorbent la matière au travers de leur paroi.

Les moisissures se développent dans les endroits humides lorsque la température est comprise entre 5 et 23°C.

2.2. Reproduction des moisissures

Le cycle de développement d'une moisissure comprend une phase de croissance (ou phase végétative) et de nutrition puis, une phase de reproduction.

Celle-ci se fait par l'intermédiaire de spores, emportées par l'air, issues d'une reproduction asexuée ou sexuée (Peyru et Granperri, 2014). Ces spores germent donnant un hyphes puis un mycélium.

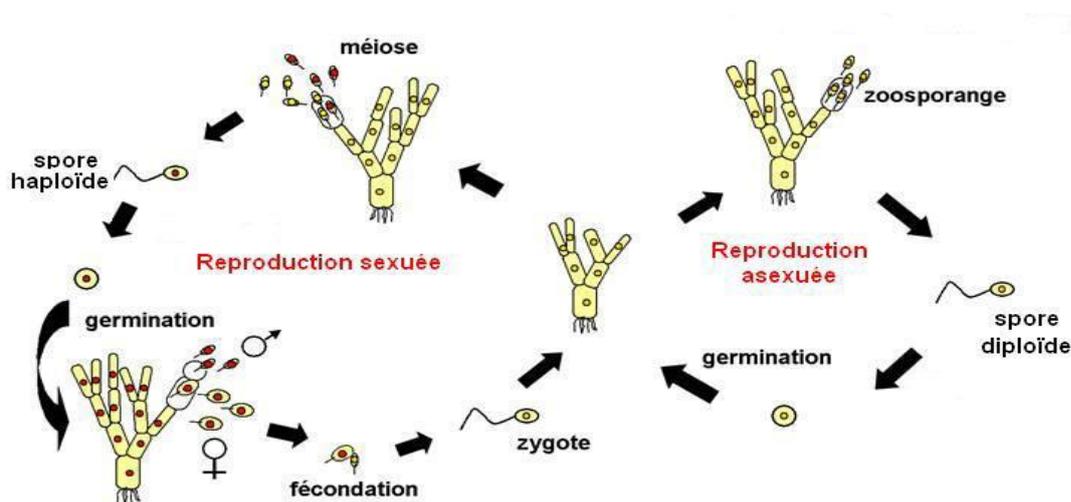


Figure 04.Cycle de développement classique d'une moisissure (Cycle d'Allomyces macrogynus)

Tableau I. Exemple d'utilisations des principales moisissures retrouvées en alimentaire [(Branger, 2004) ;(Moreau, 1979)]

Espèces	Utilisation
<i>Penicillium roqueforti</i>	Fromages à pâte persillée
<i>Penicilium camemberti</i>	Fromages à croûte fleurie
<i>Penicilium nalgiovensis</i>	Flore de surface du saucisson, fromages d'Ellisshauer (semblable au camembert)
<i>Penicillium album</i>	Flore de surface du saucisson, couverture de certains fromages
<i>Geotrichum candidum</i>	Affinage des fromages, fabrication de gari (condiment japonais)
<i>Mucor</i>	Flore de surface de certains fromages, transformation de produits divers
<i>Rhizopus</i>	Transformations de produit divers
<i>Aspergillus oryzae</i>	Fermentation de produits à base de riz et de soja
<i>Aspergillus niger</i>	Production de molécules diverses (acide citrique, protéase...)
<i>Fusarium solani</i>	Production de molécules diverses (acide citrique, protéase...) Flore de surface de certains fromages, intervient dans la fabrication du café

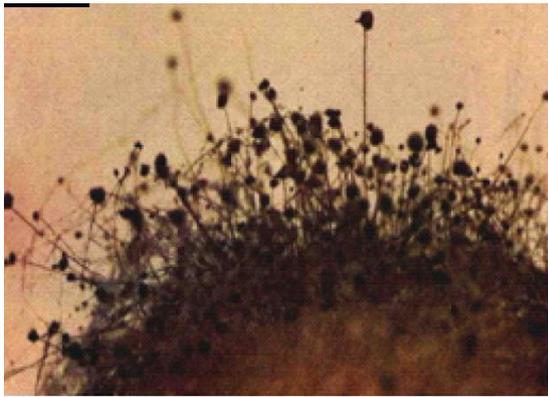


Figure 05. Les zygomycètes (*Mucor*) (Azzoune, 2009, In In Belarbi, 2011)



Figure 06. Les ascomycètes (*Aspergillus sp*) (Azzoune, 2009, In Belarbi, 2011)

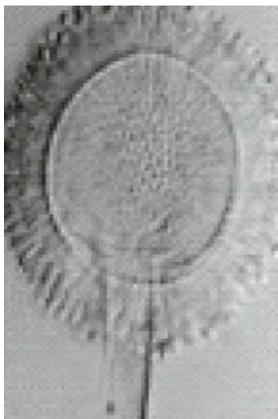


Figure 07. *Aspergillus niger* rencontrées dans le grain de blé, observation au microscope optique (X100) (Pitt et al., 2009).

3. Les levures

3.1. Historique

Les levures sont les premiers micro-organismes utilisées par l'homme depuis des millénaires, en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation (**Bouix et Leveau, 1991 et Pol, 1996**).

Elles sont également les premiers micro-organismes à être observés au microscope par A.

Van Leeuwenhoek en 1680 qui les a dessinées. Ce n'est qu'avec les travaux de Pasteur (1866-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence.

A la même époque, la levure fut à l'origine du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Büchner. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d'eucaryotes (**Pol, 1996**).

Elle est largement utilisée comme « usine cellulaire » pour plusieurs applications, comme la production de protéines recombinantes d'intérêt pharmaceutiques, de divers produits chimiques et plus récemment pour la production de bioéthanol [(**Lim et al., 2011**) ; (**Martin et al., 2012**) ; (**Neagu et Bahrim, 2012**)].

3.2. Définition –Taxonomie

Les levures sont des microorganismes. Ce sont des cellules eucaryotes appartenant au règne des Mycètes. Contrairement aux moisissures, elles forment un thalle levure forme (**Bartschi, 2009**)

Ce sont des cellules unicellulaires généralement ovoïdes de quelques μm de diamètre, *Saccharomyces cerevisiae* mesurant entre 4 à 10 μm de diamètre par exemple

(**Boidin et al., 2014**)

Il existe énormément de levures et on distingue des levures saprophytes, commensales et très rarement pathogènes (*Candida albicans* étant la plus connue).

3.3. Mode de reproduction

Les levures sont capables de se reproduire de manière sexuée lorsqu'elles sont placées dans des conditions défavorables, formant ainsi des ascospores ou des basidiospores ou bien de manière asexuée (ou végétative) par bourgeonnement ou par cloisonnement/fission (Bartschi, 2009).

Après un bourgeonnement, il y a une « cicatrice » visible sur la paroi.

3.4. Structure cellulaire

Les levures possèdent une paroi qui représente entre 6 à 30 % du poids de la cellule, constituée majoritairement de glucides. A l'intérieur des levures, on trouve généralement une grande vacuole, souvent sphérique.

Des mitochondries et un réticulum endoplasmique, dont les caractéristiques sont proches des autres cellules eucaryotes, sont également inclus dans le cytoplasme.

Les levures, étant des cellules eucaryotes, possèdent un noyau délimité par une membrane plasmique.

Il existe également dans le cytoplasme un petit fragment d'ADN circulaire, généralement relié à la paroi, qui s'apparente à un plasmide.

Chez certaines levures, on peut retrouver une capsule à la périphérie de la cellule ou bien encore des fimbriae fungiques.

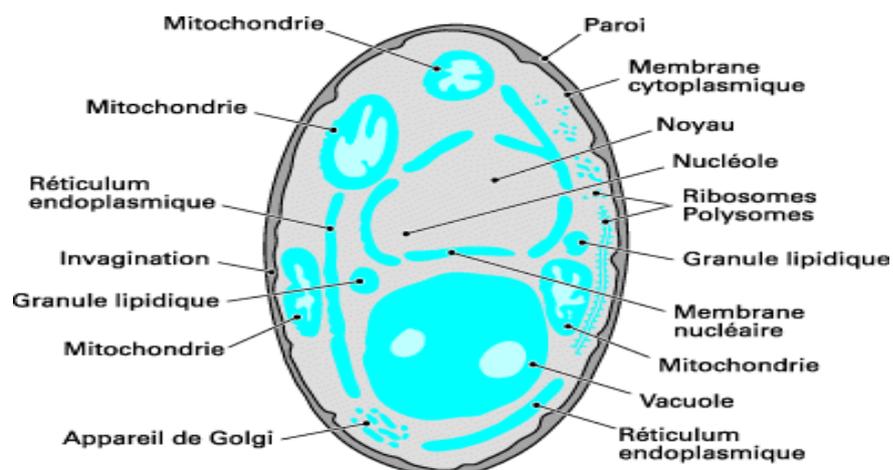


Figure 8 : Schéma de *Saccharomyces cerevisiae* (Loiez, 2003).

3.5. Les levures dans les industries agro-alimentaires :

De nombreux produits de consommation quotidienne sont élaborés grâce à l'activité précieuse et importante des micro-organismes. Les levures, par leur activité de fermentation assurent des caractéristiques bien particulières de texture et d'arôme, mais aussi une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits.

Les Levures qui en sont responsables sont toutes regroupées sous la même appellation de bactéries lactiques. Depuis des siècles jusqu'à l'avènement des biotechnologies, où la biologie moléculaire et le génie génétique permettent de transformer facilement les micro-organismes pour les rendre plus performants, la fermentation concernent tous les types de produits alimentaires comme le lait (fromages, crèmes, yaourt et autres laits fermentés), la viande (saucisse fermentée et produit saumuré sec), les végétaux (vins, bières, cidres) et les pains (**Abdelguerfi et Ramdane, 2003**).

3.5.1. Utilisation des levures pour la production des boissons alcoolisées :

Le rôle le plus ancien des levures est la fabrication des boissons alcoolisées.

Cette fabrication repose sur la fermentation alcoolique qui consiste à transformer les sucres simples en alcool. Ainsi, elles interviennent au cours de la vinification et de l'élaboration de la bière.

En anaérobiose, la levure catalyse la fermentation alcoolique, transformant une molécule de glucose en deux molécules de CO₂ et deux molécules d'éthanol, ainsi qu'une production faible d'énergie sous forme d'ATP.

Cependant en aérobiose elle produit beaucoup d'énergie (**Béguin et al., 2008**).

Les levures sont largement répandues dans le domaine alimentaire. Les utilisations traditionnelles, telles que le vin, le cidre, la bière, le saké et autres boissons alcoolisées (rhum, whisky, gin, vodka), des produits à base de soja (sauce de soja, miso), le pain et les produits laitiers (fromage, kéfir) sont connues par la majorité des gens. Les levures ont bien d'autres utilités dans le domaine biotechnologique.

Puisque plusieurs pays du monde ne produisent pas domaine biotechnologique.

Puisque plusieurs pays du monde ne produisent pas suffisamment de protéines pour l'alimentation de leurs populations, beaucoup de travaux ont été faits afin d'utiliser les levures comme sources de protéines (**Phaff et al., 1978**).

3.5.1.1. Les vins

Le vin, tout comme la bière, est né quand l'homme commença à domestiquer les récoltes et qu'il les stocka.

Dans le cas du raisin, en présence d'une aération bénéfique, les fermentations spontanées devaient permettre d'obtenir un produit, certes stimulant être vigoureux, mais pas toujours très savoureux.

On retrouve des traces de l'existence du vin en Mésopotamie, en Arménie, en Egypte et en Grèce.

Longtemps inexplicée, la fermentation alcoolique du jus de raisin n'a été maîtrisée que très tard. C'est ainsi qu'au Moyen âge, les vins étaient additionnés de miel, d'épices ou piments sans doute pour atténuer certains défauts de fermentation. Une grande majorité des opérateurs utilisent désormais les levures sélectionnées pour sécuriser les fermentations et marquer le vin sur des critères spécifiques, recherchés par le consommateur (arômes agréables, acidité moindre...) (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Cependant, une frange grandissante de professionnels pour des raisons culturelles ou médiatiques fait le choix de fermentations spontanées.

Quelles que soient les raisons objectives ou subjectives de ces choix, le vinificateur doit maîtriser de manière fiable les conditions de développement de ces flores levuriennes, afin qu'elles puissent durablement exprimer leurs potentialités au cours de la fermentation alcoolique et éviter les accidents et les déviations organoleptiques (**Béguin et al., 2008**).

Une relation entre la levure et la fermentation alcoolique a été pour la première fois mise en évidence *Cagnard Latour, Schwann et Kutzin* au 19^{ème} siècle (**Pasteur, 1866**), dans ses études sur le vin, qui apporta la preuve formelle que la fermentation était provoquée par des cellules vivantes.

Tableau II. Espèces de levures présentes au moins une fois sur le raisin, le vin, et le vinaigre, etc. (Bourgeois et Larpent ,1996).

Espèce	Nombre D'apparition	Espèce	Nombre D'apparition
- <i>Brettanomyces</i>	11	- <i>Leucosporidium</i>	2
- <i>Candida</i>	29	- <i>Metschnikowia</i>	2
<i>Cryptococcus</i>	6	- <i>Nadsonia</i>	1
<i>Debaryomyces</i>	8	- <i>Pichia</i>	9
- <i>Dekkera</i>	2	- <i>Rhodotorula</i>	7
- <i>Endomyces</i>	1	- <i>Saccharomyces</i>	57
- <i>Endomycopsis</i>	2	- <i>Saccharomyces</i>	2
- <i>Hanseniaspora</i>	6	<i>Schizosaccharomyces</i>	7
- <i>Hansenula</i>	6	- <i>Sphaerulina</i>	1
- <i>Hyaladendron</i>	1	- <i>Sporobolomyces</i>	1
- <i>Kloeckera</i>	8	- <i>Torulopsis</i>	22
- <i>Kluyveromyces</i>	4	- <i>Trichosporon</i>	6

3.5.1.2. Les cidres

Microbiologie du cidre est voisine de celle du vin. Les levures intervenant dans la fermentation alcoolique sont : *G. Kloeckera*, *S. ellipsoides*, *S. uvarum*.

Ces levures sont celles retrouvées normalement sur les pommes. Une fermentation malolactique, qui est le fait de levures hétérofermentaire, et presque toujours observée.

Le cidre est une boisson de faible teneur en alcool (2 à 3°) (Béguin et al., 2008).

Au fur et à mesure du déroulement de la fermentation, l'anaérobioses s'établit et ces souches laissent la place à des levures appartenant au genre *Saccharomyces*, mieux adaptées à l'éthanol et pouvant assurer la totalité de la fermentation des sucres (Larpent, 1991).

3.5.1.3. Les bières

La bière est une boisson alcoolique qui s'obtient par la fermentation du moût préparé avec du malt d'orge ou de froment, qu'on a fait bouillir en présence d'eau avec généralement du houblon. Certaines quantités de céréales non maltées (maïs et riz, par exemple) peuvent éventuellement être utilisées pour la préparation du moût. L'addition de houblon a pour effet de développer des principes amers et aromatiques et de permettre une meilleure conservation du produit. Elle est parfois aromatisée en cours de fermentation à l'aide de cerises ou d'autres produits.

On ajoute parfois à la bière des sucres, des colorants, du dioxyde de carbone ou encore d'autres substances (**Béguin et al., 2008**).

3.5.2. Utilisation des levures pour la panification

La levure de boulangerie est caractérisée par le fait qu'elle est composée de cellules vivantes de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*: 19 de levure fraîche contient environ 10^{10} cellules.

Le pain traditionnel correspond au produit résultant de la cuisson dans un four d'une pâte pétrie et composée uniquement de farines panifiables, en mélange ou non d'eau potable et de sel de cuisine. Cette pâte est fermentée par des agents de fermentation autorisés, employés simultanément ou non: levure de panification, levain. On ajoute éventuellement des additifs ou adjuvants dont l'emploi est limité et autorisé (**Larpen, 1992**).

Chapitre II : Différents types de fermentations microbiennes et applications

1. La fermentation lactique

Chez les organismes vivants en aérobiose, l'ATP qui est la forme majeure d'énergie directement utilisable par la cellule, est produit au fil de réactions métaboliques incluant l'oxydation de sucres, notamment du glucose, lors de la glycolyse. La glycolyse met en jeu des cofacteurs oxydés (NAD^+ et FAD) qui sont réduits. Ils nécessitent donc d'être régénérés au niveau de la chaîne respiratoire (**Camus, 2011**). Dans des conditions d'anaérobiose, la molécule acceptant des protons des cofacteurs réduits est l'acide pyruvique, alors réduit en acide lactique (**Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et le Réseaut'information sur les opérations après récolte (INPhO), 1998**).

Ce dernier permet à la glycolyse de perdurer dans des conditions d'anaérobiose, ce qui conduit à la production de 2 molécules d'ATP contre 36 en présence d'oxygène.

1.1. Les produits laitiers

Le lait est composé de diverses substances, notamment des matières grasses, qui sont stabilisées par une protéine, la caséine, et des glucides représentés principalement par le lactose.

La fermentation du lait permet de le conserver plus longtemps et rend les produits laitiers fermentés plus digestes.

Cette transformation du lait est due à la déstabilisation des micelles de caséine par protéolyse, ce qui entraîne sa coagulation.

Les caséines représentent 79,5% des protéines totales du lait de vache. Elles sont présentes sous forme de micelles formées par l'association des différentes caséines maintenues entre elles par du phosphate de calcium. Ces micelles sont en suspension dans la phase aqueuse du lait, celles-ci peuvent être dégradées par acidification, c'est ce qu'on appelle la technologie lactique. Le lait est alorsensemencé par des ferments lactiques (le lactose est leur substrat qui sera transformé en acide lactique) qui provoquent son acidification détruisant ainsi les interactions protéines-minéraux et l'édifice micellaire est donc désagrégé. En fromagerie, on retrouve en plus la technologie présure, la coagulation de la caséine est dans ce cas réalisée via une action enzymatique notamment par la chymosine.

Cette coagulation va avoir diverses conséquences : elle modifie la texture, le goût et la qualité du lait. Le pH est également diminué ce qui permet de limiter la croissance de bactéries indésirables. Quant à eux, les ferments se multiplient et produisent des composés à l'origine des propriétés organoleptiques des produits laitiers fermentés.

1.1.2. Les yaourts

Le yaourt résulte de la fermentation du lait par deux bactéries lactiques, *Streptococcus thermophilus* vivant en symbiose avec *Lactobacillus bulgaricus*. L'appellation « yaourt » est réservée à ce lait ayant été fermenté par ces deux souches de Bactéries.

La fabrication de yaourts se réalise en diverses étapes (**Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière**).

Tout d'abord, le lait est pasteurisé, c'est à dire qu'il est chauffé à 72°C pendant 15 secondes. Cela permet d'éliminer les microorganismes pathogènes.

Il est ensuiteensemencé après avoir été préalablement refroidi et maintenu à une température de 43°C qui est la température optimale de croissance des bactéries lactiques (**Delaunay, 2015**).

Puis, il y a l'étape d'étuvage, où le lait est mis en pot pendant 3h, ce qui permet aux ferments de se développer et de transformer le lait.

Les bactéries présentes doivent être encore vivantes au moment de la consommation du yaourt, ce qui permet une meilleure digestion et un meilleur transit. La teneur en ferments viables à la commercialisation doit être supérieure à 10^7 germes/g de produit.

De plus, il existe différents types de yaourts : fermes, brassés et à boire qui diffèrent notamment par le temps et la température d'incubation. Ils sont, par exemple, caractérisés par leur teneur en acide lactique : les yaourts fermes ont une teneur de 0,75% et les yaourts brassés ont une teneur de 1,2%

1.1.3. Le fromage

« Le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure, qui peut être enrobé et dans lequel le rapport lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, et qui est obtenu : par coagulation complète ou partielle du lait [...] grâce à l'action de présure[...] tout en respectant le principe selon lequel la fabrication du fromage entraîne la concentration des protéines du lait ou par l'emploi de techniques de fabrication

entraînant la coagulation des protéines du lait. » (Codex Alimentarius, World Health Organization, 1978).

On peut distinguer au moins 4 grandes familles : pâtes dures, pâtes pressées, pâtes molles et pâtes fraîches. La texture va dépendre de la vitesse de progression de l'acidification et l'aromatisation va, quant à elle, dépendre du métabolisme des ferments utilisés (Branger et al., 2012).

Dans le circuit de fabrication du fromage, après pasteurisation du lait, de la même façon que pour la fabrication de yaourts, celui-ci est caillé par ajout de présure et de ferments lactiques (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière).

Il est transféré dans des moules qui diffèrent selon le type de fromage. Le lait, une fois caillé, est séparé du petit lait (c'est la partie liquide issue de la coagulation du lait) ce qui permet de prolonger sa conservation (étape non obligatoire qui se réalise suivant le type de fromage) (Mahaut et al., 2000).

Après cette étape d'égouttage, les fromages frais et blancs sont consommés directement. Les fromages, qui ont été démoulés, sont ensuite salés soit par du sel fin via un saupoudrage superficiel, soit par de la saumure (immersion dans une solution saturée en chlorure de sodium). L'étape finale est l'affinage, qui est une période de maturation permettant l'évolution physico-chimique des fromages et est caractéristique de leurs goûts et de leurs saveurs. Elle est permise par le salage, c'est à dire que le sel va pénétrer au cœur du fromage, qui va donc progressivement acquérir des propriétés organoleptiques, une couleur et une texture particulières. Le saumurage a pour but de diminuer l'activité de l'eau, et donc de compléter l'égouttage et de limiter la croissance des microorganismes. Par ailleurs, cela peut éventuellement participer à la formation de la croûte.

Suivant la technologie fromagère utilisée, on peut distinguer différentes classes de fromages, caractérisées en fonction de l'extrait sec et donc suivant la méthode de coagulation

1. 2. La charcuterie (Branger et al., 2012) :

Le saucisson sec est un produit cru et fermenté. Il est composé d'un boyau animal dans lequel est introduit un mélange de viande hachée, du porc en général, de sel, de sucre (glucose, lactose...), d'épices et de ferments. Le produit formé subit ensuite une phase d'étuvage de 72h à une température comprise entre 20 et 25°C puis une phase de séchage entre 13 et 14°C d'une durée variable, entre 15 et 75 jours. Ces deux phases ayant pour même objectif la

dessiccation du produit et le développement de la flore. La viande de porc ne contient que très peu de glucides, c'est pour compenser ce manque que du sucre est ajouté à la viande hachée, fournissant ainsi des substrats pour la fermentation bactérienne.

Les deux ferments ajoutés à la préparation sont :

-Des *Lactobacilles*, bactéries à Gram positif anaérobies. Ils dégradent le lactose et le glucose en acide lactique par voie fermentaire, ce qui entraîne une acidification du milieu.

-Des *Micrococcaceae* dont *Staphylococcus* est le genre le plus adapté au milieu du saucisson. Ils réduisent les nitrates en nitrites et jouent alors un rôle dans la coloration du produit. Ils réalisent également une lipolyse permettant la synthèse de molécules aromatiques (cétones)

Ces deux ferments, en plus d'élaborer le goût, la texture et la couleur du saucisson entraînent une inhibition de la croissance des microorganismes pouvant altérer le goût du saucisson ou être pathogènes. Cette inhibition est permise par l'acidification du milieu et le développement de la flore positive, cela s'ajoute à l'abaissement de l'activité de l'eau entraîné par le salage.

D'autres ferments, des levures et des moisissures, sont également déposés à la surface des saucissons. Leur développement permet de contribuer au séchage des saucissons, à leur maturation, au développement des arômes et à l'aspect général du produit. Par sa présence physique à la surface des saucissons, cette flore constitue elle aussi un frein au développement des microorganismes indésirables.

1.3. Les légumes lacto-fermentés

La fermentation lactique n'est pas seulement utilisée pour conserver les produits laitiers elle permet également la conservation de champignons et de légumes de toutes sortes : choux, betterave, carotte, haricot, oignon, etc. Cette technique consiste à conserver les légumes en favorisant le développement de bactéries lactiques qui acidifient le milieu et inhibent ainsi la croissance des autres organismes indésirables.

Pour que la fermentation ait lieu, il faut que toutes les conditions de développement des bactéries lactiques soient réunies. Ainsi, les légumes doivent fournir du sucre, des vitamines du groupe B et des sels minéraux. La fermentation se déroulant en milieu anaérobie, l'oxygène doit être chassé du milieu, pour cela, les légumes sont le plus souvent recouverts d'eau salée (le sel inhibant les bactéries responsables de la décomposition des légumes). Enfin, la température doit se trouver entre 18 et 22°C en début de fermentation.

La fermentation se déroule ensuite en 3 phases :

-La préfermentation, d'une durée de 2-3 jours où de nombreuses espèces de microorganismes se développent, entraînant la décomposition et le ramollissement des légumes.

-La fermentation, qui débute lorsque les bactéries lactiques prennent le dessus sur les autres microorganismes.

-Le stockage, lorsque le pH descend en dessous de 4. Les microorganismes indésirables ne sont plus capables de se développer et de nouveaux arômes se révèlent.

Les légumes peuvent ensuite être conservés durant au moins un an même si la température monte au-dessus de 10°C. Cette méthode de conservation est donc non seulement Economique puisque qu'elle ne nécessite aucun apport d'énergie mais également bonne pour la santé car les bactéries lactiques produisent en parallèle de nombreuses vitamines et l'acide lactique a de nombreuses vertus digestives.

2. La fermentation alcoolique

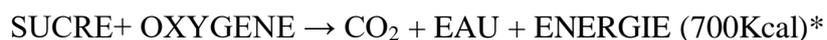
Lors de la fermentation alcoolique, plusieurs changements peuvent apparaître : un dégagement de gaz carbonique, une augmentation de la température et de la couleur, un changement d'odeur et de saveur, une diminution de la densité (transformation du sucre en alcool) et une augmentation des volumes.

Quelques exemples :

2.1. Le pain

Les levures de boulangerie sont de type aéroanaérobie (**Agropolis Museum. Fiche animation**)

En aérobiose : les levures respirent et se multiplient abondamment au dépend du glucose, mais sans formation d'alcool(**Le petit boulanger. La levure biologique industrielle**)



En anaérobiose : le sucre est en grande partie transformé en alcool au détriment de l'énergie libérée.

On observe une faible multiplication des cellules.



* énergie libérée par oxydation totale d'une molécule de glucose

Action de la levure en panification :

Son activité débute dès son incorporation dans la pâte et s'arrête 5 minutes après le début de la cuisson.

Au cours du pétrissage en aérobiose, les cellules se multiplient rapidement.

Puis durant le pointage (1ère fermentation), la levure fermente et produit du CO₂ mais également beaucoup d'alcool, ce qui se traduit par un développement des arômes et parallèlement une diminution du pH (acidification).

Après 1 heure d'activité, les sucres simples préexistants dans la farine sont consommés. Elle poursuit alors son action grâce au maltose provenant de l'hydrolyse de l'amidon.

Durant l'apprêt (2ème fermentation), la production de CO₂ est plus importante, elle s'accroît encore au cours des premières minutes de cuisson jusqu'à 50 °C, température où la levure est inactivée.

2.2. La bière (Bières cultes. La fermentation).

La présence de levures est une condition indispensable à une bonne fermentation alcoolique.

Celles-ci doivent avoir un métabolisme anaérobie et être immergées. La température doit se situer entre 20 et 25°C

.Il existe 4 types de fermentations :

-La fermentation spontanée : dans ce procédé ancestral, les levures sauvages naturellement présentes dans l'air libre contaminent le mout, l'ensemencent et stimulent ainsi sa fermentation.

-La fermentation haute : on ajoute des levures de type *Saccharomyces cerevisiae* au moût.

Une fois qu'elles ont épuisé le glucose, les levures remontent à la surface. Les bières ainsi produites ont une forte teneur en alcool.

-La fermentation basse : on ajoute des levures de type *Saccharomyces carlsbergensis* au moût. Ces levures ont la particularité de migrer vers le fond de la cuve. Les bières ainsi produites sont moins alcoolisées, mais ont une teneur plus riche en CO₂, et un goût prononcé de houblon.

-La fermentation mixte qui allie les deux processus de fermentation haute et basse.

2.3. Le vin (Montel et al., 2005).

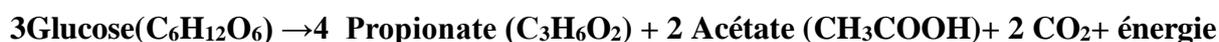
En 1876, Pasteur écrivait : « le goût et les qualités du vin dépendent certainement par une grande part de la nature spéciale des levures qui se développent pendant la fermentation de la vendange ».

Ainsi les souches *Saccharomyces cerevisiae* sont appréciées pour leur aptitude à révéler l'arôme soufré des vins Sauvignons (en libérant des thiols volatils lors de la fermentation qui interviendront dans l'arôme du vin).

Cependant, un moût de vin ayant des potentialités aromatiques très complexes, il est difficile de savoir si les levures utilisées sont les plus performantes. Ces variations possibles permettent d'échapper à la standardisation et de personnaliser les crus ou les millésimes.

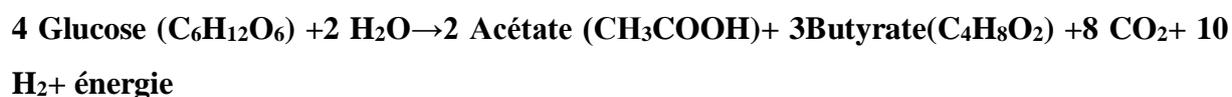
3. Fermentation propionique

Elle est réalisée par des bactéries anaérobies appartenant aux genres *Clostridium* ou *Propioni bacterium*. Les bactéries fermentent le glucose et il y a alors production de propionate et d'acétate. La réaction est la suivante:



Les étapes d'affinage des fromages à pâte cuite font souvent intervenir à cette fermentation afin de donner de la flaveur au produit (Meyer et al., 2004).

L'acide butyrique est synthétisé par des *Clostridium* saccharolytique comme *Clostridium butyricum* qui utilise le glucose de la façon suivante:



Cette fermentation est caractéristique des boîtes de conserves périmés, il y a dégagement d'une forte odeur rance, et gonflement de la boîte du à la libération du dihydrogène.

En industrie alimentaire, cette fermentation si elle est contrôlée et limitée peut être désirée. L'exemple type est son utilisation dans la fabrication de l'emmental qui permet d'obtenir les trous (Meyer et al., 2004).

4. Fermentation acétique

Cette fermentation est particulière, en effet elle est réalisée par des souches aérobies (*Acetobacter, gluconobacter*).

La présence d'oxygène est nécessaire à la formation de coenzymes réduits (NADH, H⁺) . Cependant c'est une fermentation car les bactéries ne peuvent pas oxyder complètement le substrat.

L'alcool éthylique (éthanol) présent dans le milieu sera que partiellement oxydé en acide acétique. La réaction est la suivante:



L'application la plus connue de cette fermentation est la production de vinaigre.

Le vinaigre est fabriqué à partir d'une substance contenant de l'alcool (vin, cidre).

Pour obtenir du vinaigre il suffit de laisser un vin à l'air libre, il y a alors colonisation à la surface par *Acetobacter* et synthèse d'acide acétique.

Une autre application de la fermentation acétique est la fabrication de la choucroute (**Anonyme, 1989**) ;(**Branger, 2004**);(**Bourdichon et al., 2012**).

4.1. Production du vinaigre

Il existe plusieurs méthodes de production du vinaigre :

4.1.1. La méthode allemande : elle consiste en un mélange d'alcool et de copeaux de hêtre, qui contiennent la bactérie nécessaire au déroulement de la fermentation. Le tout est placé dans un tonneau ventilé de bas en haut.

Le vinaigre est récupéré en bas du tonneau (**Anonyme 2**).

4.1.2. La méthode d'Orléans: elle consiste à faire une culture d'*Acetobacteracetien* mélangeant dans un tonneau ventilé le vin et du vinaigre. Les bactéries sont alors présentes principalement à l'interface air-liquide c'est à dire en surface. Il s'agit d'une méthode de culture statique. Aujourd'hui cette méthode est utilisée pour produire du vinaigre traditionnel et de qualité (**Roig, 2012**)

Depuis les travaux de Pasteur, la bactérie *Acetobacteraceti* est mise en culture rationalisée pour une production de vinaigre industrielle. Le processus de fermentation est ainsi accéléré, autrefois de 3 semaines, il est aujourd'hui possible de produire d'importantes quantités de vinaigre en 24 heures (**Anonyme 2**)

La méthode industrielle implique l'utilisation d'un bioréacteur fonctionnant avec un niveau élevé d'aération et des bactéries immergées dans la solution de culture. La fabrication du

vinaigre industriel utilise différents processus résumés dans le diagramme suivant:

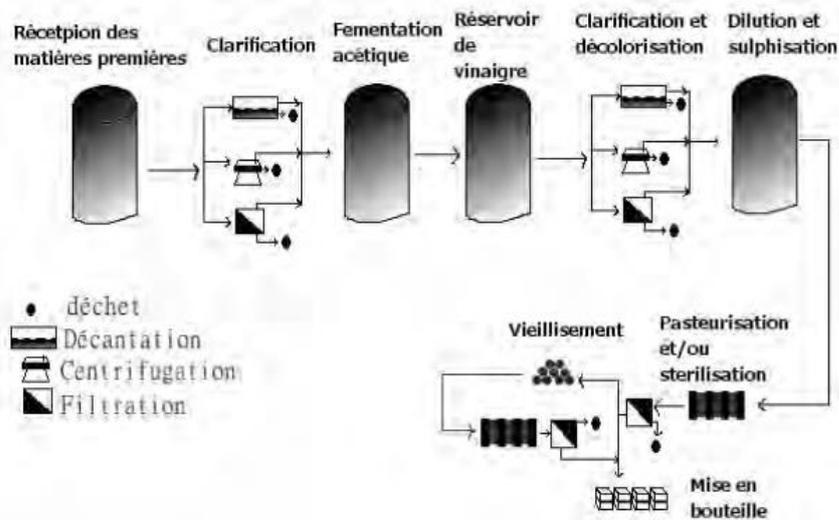


Figure 09 : Diagramme montrant les différentes étapes de la fabrication du vinaigre (Lopez, 2013).

Le vinaigre peut être fabriqué à partir de différentes matières premières notamment du raisin, du riz, des pommes, des baies, des céréales, du petit-lait ou du miel.

La législation concernant l'appellation vinaigre varie selon les pays: en Europe la concentration en acide acétique doit être au moins de 60g.L^{-1} et aux Etats-Unis elle doit être d'au moins 40g.L^{-1} (Lopez, 2013).

Chapitre III : Les produits fermentés

1. Le yaourt

Selon le Codex Alimentarius, norme A-11a de 1975 «Le yogourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbueckii* sub sp. *Bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à partir du lait ou de produits laitiers, avec ou sans adjonction de substances. Dans le produit fini, les micro-organismes doivent être à l'état viable et en quantités abondantes».

Quel est donc le procédé de fabrication du yaourt? La composition du lait puis les étapes de fabrication du yaourt seront détaillés par la suite.

1.1. Composition du lait

Le lait contient principalement de l'eau, mais aussi des lipides, des protéines, des glucides et des minéraux essentiels qui sont présents sous différentes formes.

Le sérum est l'ensemble des constituants du lait moins les matières grasses (**Vignola, 2002**).

Tableau III. Composition du lait (**Vignola, 2002**).

Composition	Eau	Glucides	Protéines	Lipides	Minéraux
Pourcentage	85-90%	3,5-5,5%	3-5%	2,5-5,5%	0,7-0,9%

L'eau forme une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum et une solution vraie avec les glucides et les minéraux (**Vignola, 2002**).

Le glucide principal est le lactose qui est contenu dans la solution vraie du sérum du lait. Le lactose a un faible pouvoir sucrant (17) comparé à celui du saccharose (100). Il peut subir différents types de transformations comme sa transformation par fermentation par les micro-organismes (**Vignola, 2002**).

Les protéines du lait sont séparées en deux groupes: les caséines et les protéines du sérum. **(Vignola, 2002).**

Les caséines constituent 80% des protéines et sont sous forme de micelles en suspension colloïdale. Elles précipitent par diminution du pH. Ce sont ces protéines qui donnent la couleur blanche et opaque au lait **(Vignola, 2002).**

Les protéines du sérum, en solution colloïdale, représentent 20% des protéines. Les protéines membranaires sont surtout les lipoprotéines et servent à stabiliser l'émulsion des globules de matière grasse. La stabilisation se fait grâce aux charges négatives des protéines qui entraînent une répulsion des globules entre eux. Ces protéines précipitent par augmentation de la température **(Vignola, 2002).**

Les principaux lipides présents sont les triglycérides, les phospholipides, les bêta-carotènes et le cholestérol. Les lipides sont sous formes de globules en suspension dans l'eau, ils forment ainsi une émulsion. Ils sont composés de plusieurs couches de matières grasses. La couche externe est constituée de lipoprotéines qui stabilisent l'émulsion. Si les globules perdent leur couche de phospholipides et de lipoprotéines, ils remontent en surface et s'agglutinent pour former une crème **(Vignola, 2002).**

Le lait contient divers minéraux comme du sodium, du potassium, du calcium, du phosphore et du magnésium dans le lactosérum. En revanche le lait est pauvre en fer, mais cela permet de limiter la croissance des bactéries **(Vignola, 2002).**

1.2. Fabrication du yaourt

1.2.1. Les bactéries nécessaires

Deux bactéries sont nécessaires pour pouvoir appeler un lait fermenté un yaourt, ce sont *Lactobacillus delbureckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries sont des bactéries à Gram positif, catalase-négatives et hétérotrophes.. Ce sont des ferments thermophiles, c'est-à-dire que leur température optimale de croissance est située entre 37°C et 47°C (37°C pour le streptocoque et 47°C pour le lactobacille). *L. bulgaricus* est une bactérie de forme de bâtonnet, rectangulaire et allongé, tandis que *S. thermophilus* est en forme de coque **(Vignola, 2002).**

La protéolyse joue un rôle important dans la croissance des bactéries du yaourt. Après ensemencement, les bactéries commencent à croître exponentiellement en utilisant les acides aminés, dipeptides, tripeptides, et oligopeptides présents. Cependant, les acides aminés sont en nombre limité, et le taux de croissance diminue. La coexistence mutuelle des deux bactéries est aussi basée sur d'autres interactions, comme l'échange de plusieurs facteurs de croissance (**Sander Sieuwerts, Frank A. M. de Bok, et al, 2008**).

Pendant la première phase *S. thermophilus* se développe et il n'y a pas de croissance de *L. bulgaricus*. *S. thermophilus* active la croissance de *L. bulgaricus* grâce à la synthèse d'acide formique, d'acide pyruvique, d'acide folique et de dioxyde de carbone. Dans le lait traité à haute température, le taux de CO₂ et d'acide formique est trop bas pour *L. bulgaricus*, et donc, elle profite de ces composés produits par *S. thermophilus* à partir de l'urée présente dans le lait. Les effets positifs de l'acide formique et de l'acide folique sur la croissance de *L. bulgaricus* sont reliés à la synthèse de purines. Le dioxyde de carbone est un précurseur pour la synthèse d'aspartate, glutamate, arginine et nucléotides.

Dans un second temps, *L. bulgaricus* commence à croître et hydrolyse la caséine en petits peptides. Les peptides libérés servent de source en acides aminés pour *S. thermophilus*, permettant ainsi une deuxième phase de croissance (**Sander Sieuwerts, Frank A. M. de Bok, et al, 2008**)

Lors de leur croissance, ces ferments lactiques hydrolysent le lactose en glucose et galactose. Le glucose est ensuite utilisé lors de la glycolyse, puis dans la fermentation lactique. Cela entraîne la formation d'acide lactique, qui abaisse le pH du milieu (**Vignola, 2002**). *S. thermophilus* a également une légère activité peptidique qui permet de prévenir l'amertume, et produit des arômes et des polysaccharides qui donnent le goût et la fermeté au yaourt (**Vignola, 2002**). Ces deux bactéries fonctionnent en association; la production d'acide est plus forte lorsqu'elles sont ensemble (**Beal et Sodini, 2003**).

1.2.3. Les étapes de la fabrication

La fabrication du yaourt comprend plusieurs étapes (figure 11).

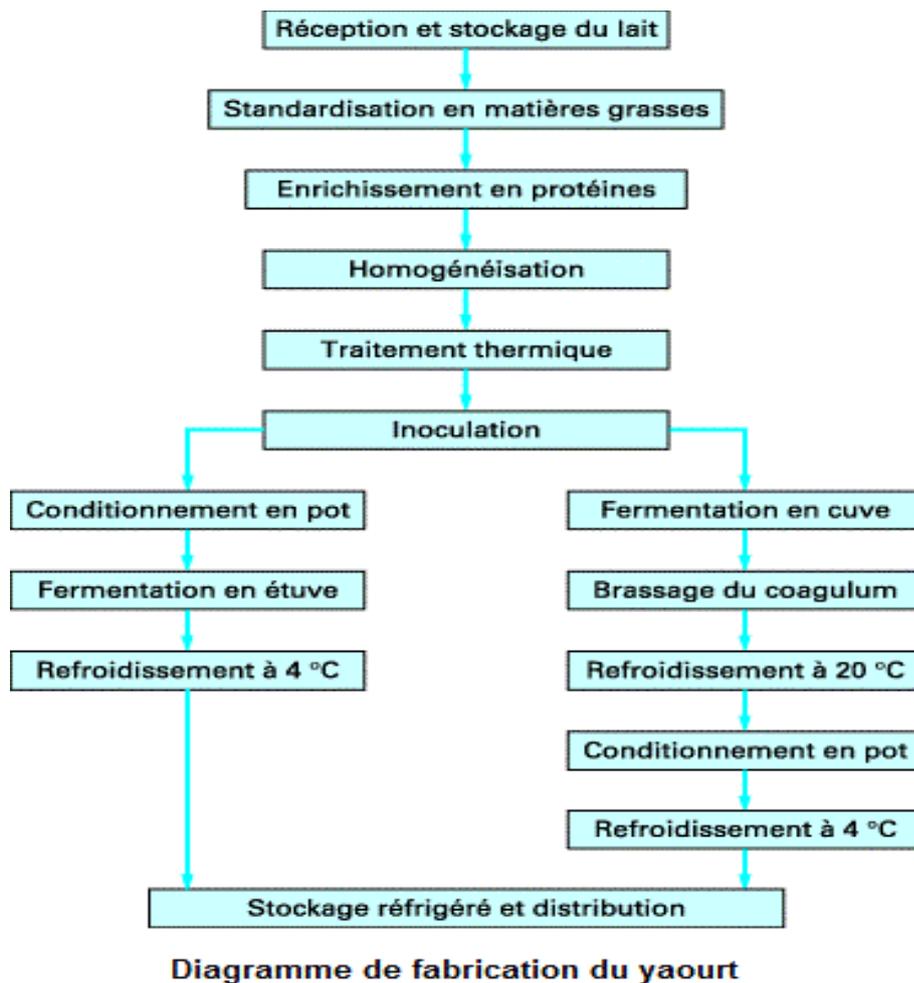


Figure 10 : Diagramme de fabrication du yaourt (Béal et Sodine, 2003)

1.2.3.1. Réception du lait

Le lait doit avoir une qualité microbiologique et chimique. Le respect des critères microbiologiques a pour but de conserver un lait sain pour le consommateur, d'éviter la dégradation de ses composants indésirables. Le respect de la chimie permet d'obtenir un yaourt conforme aux exigences (**Vignola, 2002**).

1.2.3.2. Standardisation du mélange

Tous les laits n'ont pas tous exactement la même composition. Pour fabriquer un yaourt ayant toujours les mêmes qualités, il faut donc avoir un lait standardisé. Cela se fait par ajout de substances tel que de la matière grasse et des protéines (**Béal et Sondini, 2003**).

1.2.3.3. Homogénéisation

Cette étape agit sur la matière grasse et les protéines. Elle a pour but d'éviter la séparation entre les globules de gras et le reste du lait. En effet si les globules de matière grasse ne sont plus liés aux autres molécules, ils s'agglutinent entre eux et remontent à la surface pour former une couche de crème, ce qui n'est pas un caractère recherché. Elle permet également de rendre les protéines plus stables et plus hydrophiles, ce qui évite la séparation du lait en sérum et en phase solide, appelé synérèse. L'homogénéisation doit se faire à température et pression très contrôlées. En effet une pression trop faible peut entraîner la synérèse, un produit plus liquide ou la formation de crème en surface. Une pression trop élevée peut diminuer l'onctuosité ou changer la viscosité du lait (**Vignola, 2002**).

1.2.3.4. Traitement thermique

Ce traitement agit sur 3 paramètres importants:

- Il permet la pasteurisation. En effet le traitement à haute température permet de détruire les microorganismes pathogènes, et d'assainir le lait.
- La texture, la couleur et le goût. Le traitement thermique permet de dénaturer les protéines du sérum et ainsi d'améliorer la viscosité et la consistance du lait fermenté. En inactivant les enzymes, cela induit également une diminution du risque de mauvais goût du produit obtenu.

-L'activité des microorganismes. Le traitement thermique permet de changer l'environnement des bactéries et de le rendre favorable à leur croissance. En effet il y a une diminution de dioxygène dans le milieu, ce qui le rend réducteur et le rend plus favorable à la fermentation anaérobie (**Vignola, 2002**).

1.2.3.5. Temps de retenue puis refroidissement

Le temps de retenu est le temps de «repos» du mélange, qui permet de laisser agir les effets de la dénaturation. Il dure une dizaine de minutes à 90°C environ. Puis le mélange est refroidi et maintenu à 43°C, température moyenne optimale d'activité des enzymes des deux souches. Enfin on y ajoute les ferments *L. bulgaricus* et *S. thermophilus* (**Vignola, 2002**).

1.2.3.6. Fermentation

A partir de cette étape, on peut former deux types de yaourt: le yaourt brassé et le yaourt ferme. Pour le yaourt brassé, la fermentation a lieu dans une cuve, puis le lait fermenté est placé dans les pots. Pour le yaourt ferme, le lait est directement placé dans les pots et y subit la fermentation (**Béal et Sandoni, 2003**).

La production d'acide lactique entraîne une acidification du milieu, ce qui modifie la structure des caséines. Quand le pH descend de 6,7 à 5,5, il y a une agglomération entre les micelles de caséine. Cela est dû au fait que les charges négatives des caséines sont neutralisées, et entraîne une augmentation du diamètre des micelles.

Quand le pH passe à 5,0, les micelles forment des agrégats et certaines fusionnent.

Au pH isoélectrique de la caséine, soit 4,65, les caséines et les micelles changent totalement leur structure. Les caséines ne forment plus la suspension colloïdale, elles précipitent, et acquièrent la propriété d'être étirées. Elles peuvent alors former un gel par enchevêtrement les une entre les autres (**Vignola, 2002**).

Quelques paramètres sont importants lors de l'ajout des ferments

-La température du milieu. Si elle est trop élevée, *L. bulgaricus* est favorisé, donc l'acidité est augmentée. Si elle est trop faible, *S. thermophilus* est favorisé, donc l'acidification est diminuée. Cela modifie également l'arôme du produit

-La qualité du ferment. Un ferment jeune favorise *S. thermophilus* donc une faible acidité, un ferment vieux favorise *L. bulgaricus*, et donc l'acidité.

-Le pH en fin de fermentation. Si l'acidité est trop forte, il peut y avoir un risque de synérèse, des grumeaux, un gout acide. Si l'acidité est trop faible, il peut y avoir une fermeté trop faible, un gout d'eau, une synérèse (**Vignola, 2002**).

1.2.3.7. Refroidissement et conditionnement

Le refroidissement à 4°C sert à stopper la réaction d'acidification en arrêtant l'activité des enzymes. Cependant l'acidification peut continuer un peu lors de cette étape qui est longue, il est donc conseillé de refroidir lorsque le pH désiré n'est pas encore atteint (**Vignola, 2002**).

2. le kéfir de fruits

Le kéfir de fruits (ou kéfir d'eau) est une boisson aqueuse, pétillante et rafraîchissante provenant des populations musulmanes implantées à un ord du Caucase. Cette boisson est produite à partir de sucre, de citron et de fruits secs tels que la figue par exemple, et de ferments de kéfir de fruits, appelés grains de kéfir. Elle se distingue du kéfir de lait où les grains de kéfir sont insérés dans du lait. Le kéfir était très consommé depuis sa découverte mais il avait disparu après la 2e guerre mondiale. Avec l'apparition de multiples produits d'origine biologique, sains et bénéfiques, il fait son grand retour pour ses bienfaits sur la santé. En effet, le mot kéfir est d'origine turque et il signifie «bien se sentir».

2.1. Les grains de kéfir

2.1.1 Composition microbienne des grains de kéfir

Les grains de kéfir sont utilisés pour ensemercer la boisson afin de produire le kéfir. Ils se présentent sous forme de grains transparents de petite taille (2 à 6 mm). Plusieurs études scientifiques ont permis de mettre en évidence que la matrice des grains de kéfir de fruits contient un polysaccharide, appelé kéfiran où la microflore est enchâssée. Le kéfiran est composé de D-Glucose et de D-Galactose et est à l'origine de la cohésion des grains entre eux.

La microflore des grains de kéfir est constituée de multiples bactéries lactiques, acétiques et de levures. L'identification de ces bactéries a été réalisée par PCR (Polymérase chaîne réaction) et par séquençage de l'ADNr 16S, et celle des levures par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). (tableau IV). (**Franzetti et al., 1998, Galli et al., 1995, Horisberger, 1969, Lutz, 1999 ; Neve et Heller, 2002**).

Tableau IV. Bactéries et levures présentes dans les grains de kéfir (Gülitz et al., 2011)

Genre	Espèces	
Bactéries lactiques	<i>*Lactobacillus casei</i>	<i>*Lactobacillus hilgardii</i>
	<i>*Lactobacillus hordei</i>	<i>*Leuconostoc mesenteroides</i>
	<i>*Lactobacillus nagelii</i>	<i>*Leuconostoc citreum</i>
Bactéries acétiques	<i>*Acétobacter fabarum</i>	<i>*Acétobacter orientalis</i>
Levures	<i>*Lachanceafermentati</i>	<i>*Zygorulaspora Florentina</i>
	<i>*Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>*H. valbyensis</i>

Selon (Gülitz et al., 2011), le consortium de kéfir de fruits est composé d'environ 10^8 lactobacilles, 10^6 bactéries acétiques et 10^6 levures par gramme de grains de kéfir.

2.1.2. Interactions symbiotiques des micro-organismes du kéfir

Les divers micro-organismes, levures et bactéries, du kéfir vivent en symbiose. Selon (Antonde Bary, 1879), il s'agit de la vie en commun de 2 espèces différentes dont l'association est bénéfique pour ces 2 espèces. Il existe une dépendance métabolique entre celles-ci, se traduisant par des échanges nécessaires à leur développement.

Afin d'étudier la synergie entre les levures et les bactéries du kéfir, Stadie (Stadie et al., 2013) a réalisé un système de modèle de co-culture. Cette étude a mis en évidence que la co-culture augmentait le rendement cellulaire. C'est pourquoi, l'interaction entre les divers micro-organismes du kéfir est définie comme étant mutualiste, c'est-à-dire, qu'ils tirent chacun profit de cette relation. Par exemple, *Zygorulaspora Florentina* libère de l'arginine nécessaire à la croissance de *Lactobacillus nagelii* et d'autre part, la croissance de *Zygorulaspora Florentina* est possible grâce à l'acidification du milieu par les lactobacilles.

2.2. Procédé de fabrication du kéfir :

2.2.1. Ingrédients et leurs apports nécessaires à la fabrication :

Les bactéries et les levures présentes dans les grains de kéfir ont besoin, pour se développer, de composés carbonés, de composés azotés, de minéraux et de vitamines. Le sucre est la source de carbone, et donc la source énergétique, présente dans le milieu de développement. Les fruits secs sont également une source d'énergie, en fournissant du fructose notamment, mais ils permettent aussi d'apporter au milieu les vitamines, minéraux et composés azotés nécessaires au développement des micro-organismes. Le citron apporte l'acidité du kéfir

2.2.2. Technologie de fabrication

Le kéfir peut être préparé à partir d'eau minérale en bouteille ou d'eau du robinet. L'eau du robinet devra préalablement être bouillie, pour éliminer tous contaminants, puis refroidie avant la fabrication afin de ne pas détruire les micro-organismes des grains. Les fruits utilisés doivent être lavés et les ustensiles préférablement en verre, bois ou plastique, car le métal peut altérer le goût de la boisson. L'hygiène doit également toujours être respectée en utilisant du matériel stérile (**Bauwens, 2010**).

Selon le procédé de fabrication traditionnel du kéfir (figure 11), les grains de kéfir (5 à 10%, w/v) sont mélangés aux fruits secs (13 figues sèches pour 1L), au citron (1 demi-citron coupé en 4 pour 1L) et au sucre (50g pour 1L) dans un bocal. Puis, l'eau y est ajoutée. La première fermentation se réalise pendant 24 à 48 heures à température ambiante. Après celle-ci, les grains et les fruits sont séparés du kéfir obtenu. Il est placé dans une bouteille où se réalise la seconde fermentation. Il peut être conservé à 4°C pendant un mois. Les grains de kéfir sont séchés pour une prochaine utilisation.

Il est possible de suspendre la prolifération des grains pendant une période de non-fabrication. S'il s'agit d'une courte durée, soit quelques jours, les grains doivent être placés dans un récipient, recouvert d'eau et avec ajout d'un peu de sucre. Le récipient doit être recouvert d'un linge et placé au réfrigérateur. S'il s'agit d'une période plus longue, il faut laisser les grains de kéfir sécher dans un linge pendant environ une semaine dans un endroit sec et chaud. Les grains séchés peuvent être conservés dans un récipient hermétique. Pour réactiver les grains, il est nécessaire de les faire tremper dans de l'eau renouvelée régulièrement (**Bauwens, 2010**).

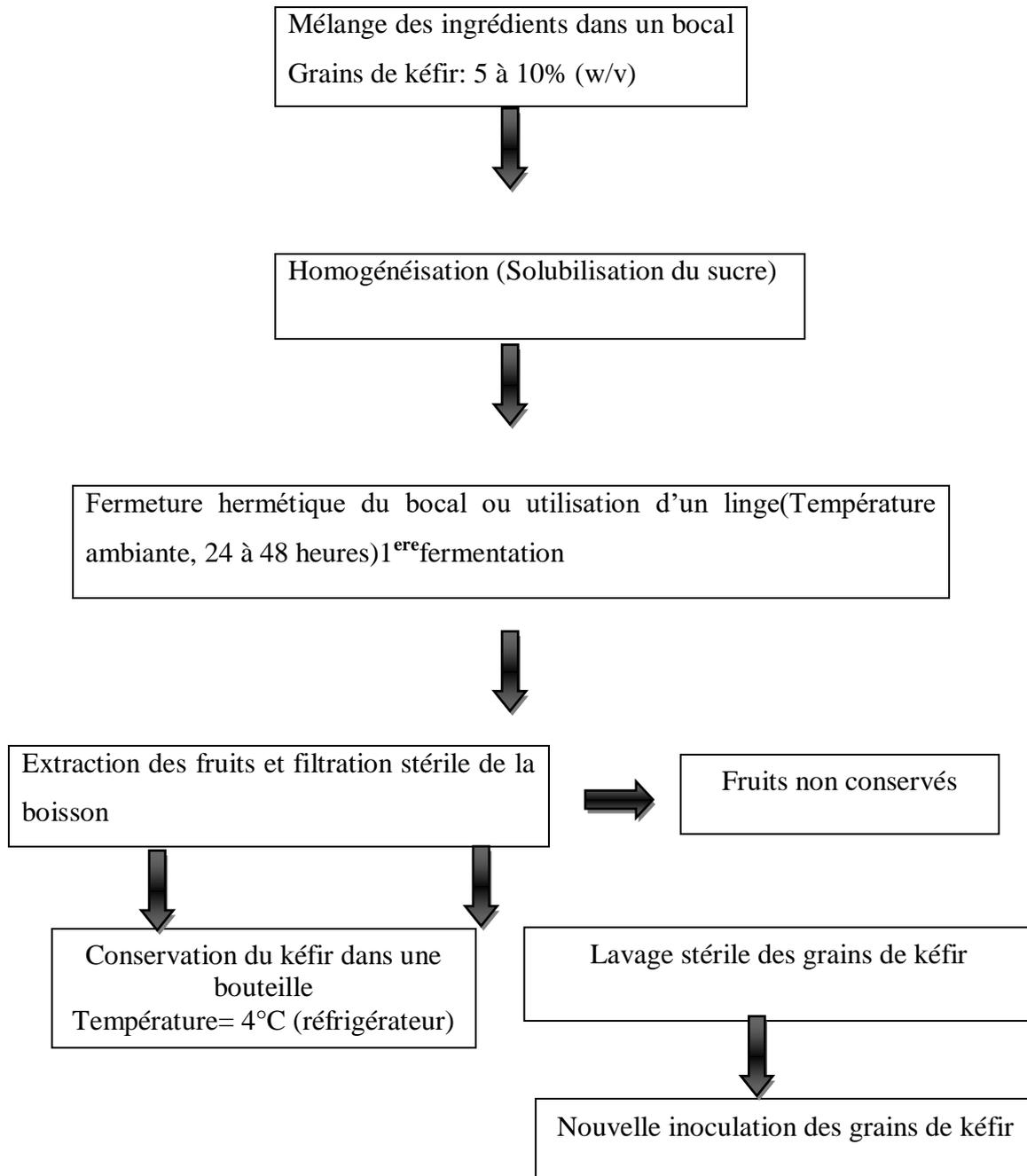


Figure 11 : Procédé de fabrication du kéfir de fruits

2.2.3 Fermentations et conditions du milieu

Les bactéries lactiques, présentes dans les grains de kéfir, sont hétérofermentaires. En effet, elles fermentent les glucides en acide lactique, éthanol et en gaz carbonique par (figure 12). Ces bactéries permettent d'acidifier un peu le milieu et de produire des substances aromatiques. Les levures vont également dégrader les glucides présents dans la boisson en éthanol et en CO₂ par l'intermédiaire d'un métabolisme fermentatif. La fermentation produite est dite alcoolique et sa réaction est la suivante :

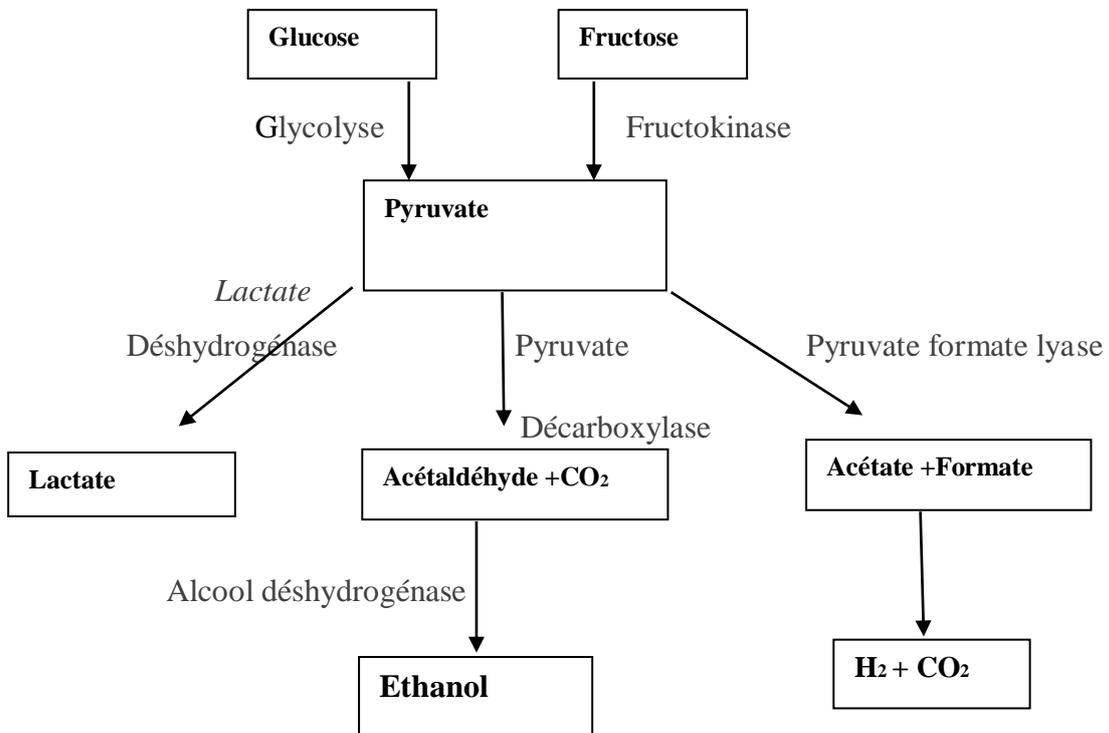
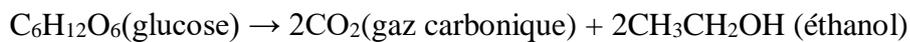


Figure12 : Schéma de la métabolisation du glucose par les bactéries du kéfir

Les premières bulles de gaz carbonique peuvent être observées au bout de quelques heures. Après 48 heures, le kéfir peut être consommé. Il contient entre 0,5 et 2% d'alcool. Pour une boisson très peu alcoolisée, pour les enfants par exemple, il faut laisser fermenter seulement 24 heures et couvrir le bocal d'un linge. En effet, plus la fermentation est longue, plus le kéfir sera alcoolisé et acide. Lors de la fermentation alcoolique, d'autres composés peuvent être produits (alcools supérieurs, acides...) mais en moindre quantité. Ces produits sont responsables des saveurs du kéfir, c'est-à-dire de l'ensemble des sensations olfactives et gustatives ressenties lors de sa dégustation.

Une seconde fermentation a lieu spontanément lorsque l'on verse le kéfir filtré dans une bouteille hermétique. Il continue à fermenter sans les grains pendant 24 à 48 heures. Cette seconde fermentation permet d'accroître la saveur et la digestibilité de la boisson.

Le milieu se développe à température ambiante qui correspond à la température optimale de développement des levures et bactéries des grains de kéfir (entre 18 et 25°C). Le pH du milieu doit se situer entre 3 et 4,6, soit un pH acide. Cette acidité du milieu nécessaire au développement est apportée par le citron. Dans ces conditions, et pendant la fermentation, les bactéries et levures vont se multiplier et les grains de kéfir vont augmenter en taille. Les grains vont ensuite se diviser et se séparer pour poursuivre leur croissance.

3 .Le pain

3.1. Définition

Le pain traditionnel ,comme on le rencontre le plus souvent, est un produit issu de la cuisson dans un four d'une pâte pétrie au préalable et composée de farines, d'eau potable et de sel de cuisine. Dans cette pâte des agents de fermentation qui sont autorisés en boulangerie, levure de panification (de boulanger) et/ou levain, sont ajoutés (**Larpent, 1992**). Le levain est une pâte formée de farine, d'eau potable, de sel, et qui subit une fermentation assurée par les microorganismes présents dans la farine et par ceux qui proviennent de l'environnement du site de fabrication (instruments et matériel. Dans cette pâte une flore microbienne constituée de bactéries acidifiantes lactiques et acétiques ainsi que des levures spécifiques du levain est présente (**Montelet al. , 2005**).

3.2. Etapes de fabrication du pain

3.2.1. Pétrissage : La farine, l'eau, le sel et les agents de fermentation sont mélangés ensemble.

3.2.2. Pointage : C'est la première fermentation que subit la pâte dans la cuve de pétrin. Cette étape peut varier entre 5 minutes et 2 heures et se déroule à 25°C.

Ceci a pour rôle de donner de la force à la pâte: le gluten (protéine qui forme un fin réseau élastique et assure la cohésion de l'ensemble) devient plus ferme, plus élastique et moins extensible

3.2.3. Division : pesée et façonnage la pâte est divisée en plusieurs morceaux. Ceux-ci sont appelés pâtons: ils ont le poids et la forme des futurs pains. Cette forme est acquise par une méthode de «façonnage»

3.2.4. Apprêt : Les pâtons sont placés dans des «bannettes» où les pâtons subiront une deuxième fermentation. Elle se déroule aussi à 25°C et dure de 1 heure à 3 heures 30 en fonction des paramètres suivants: quantité de levure incorporée à la pâte, pouvoir enzymatique de la farine, température du four, hydratation de la pâte et le mode de pétrissage.

3.2.5. Cuisson : Les pâtons sont enfournés et cuits à 250°C. Ils ont été préalablement incisés en surface pour permettre un meilleur développement des pains. Cette étape dure entre 10 et 45 minutes selon le volume des pâtons.

3.2.6. Ressuage : Les pains refroidissent et leurs humidités doit être équilibrées pour une bonne conservation (**Larpen, 1992**).

3.3. Composition de la microflore:

La farine, élément de base de la fabrication du pain, contient une population initiale de levures et de bactéries lactiques évaluée entre 10^3 et 10^4 par gramme selon les types de farines. Les levains naturels (utilisés pour la technique dite sur levain) présentent une flore comprenant 10^6 à 10^7 levures par gramme de levain et 109 bactéries lactiques par gramme de levain. Les levures sont principalement représentées par *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis* et *Saccharomyces dairensis* (**Larpen, 1992**).

Les espèces les plus fréquentes de la flore lactique des levains sont des *Lactobacilles* (*Lactobacilles plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. sanfrancisco*...). Cette flore est hétérogène: elle présente des espèces homofermentaires (espèces qui ne produisent que de l'acide lactique par fermentation des sucres de la pâte à pain) et des espèces hétérofermentaires (espèces qui produisent de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂). (**Montel et al., 2005**).

Il existe également une autre flore microbienne dans les levains. Celle-ci apparait notamment lors de fermentations dite anormales. Cette flore se multiplie et entraîne des défauts de fabrication. Dans cette flore, on peut retrouver des *Micrococcus*, *Escherichia coli*, des *streptocoques* et des *Bacillus*. (**Larpen, 1992**)

3.5.1. La fermentation principale :

En début de fermentation, la levure doit utiliser les petites quantités (1% de sucre) directement dégradables par fermentation de la farine. Les deux oses utilisés sont le glucose et le fructose mais également des oligosaccharides (gluco-difuctose, lévuline...). Le saccharose est fermenté après avoir été hydrolysé en glucose et en fructose par l'invertase de levure

.Les sucres de la farine sont très rapidement consommés (environ 20mn) mais ils ne sont pas capables de fournir le tiers du CO₂nécessaire à la levée de la pâte. Les produits de dégradation de l'amidon sont ensuite utilisés. L'amidon est hydrolysé en maltose et en dextrans par les amylases de la farine. Une fois les molécules transformées en glucose, ce glucide est pris en charge par la glycolyse pour aboutir à la formation d'acide pyruvique. C'est à partir de ce moment, que la fermentation alcoolique débute.

La fermentation alcoolique joue un rôle important durant la fabrication du pain. Au pointage (1^{ère}fermentation), la levure utilise les sucres pour produire le CO₂et l'éthanol. A cette étape, la production d'alcool est plus importante que celle du CO₂qui se redissout dans l'eau. Durant l'apprêt (2^{ème}fermentation), la libération de CO₂est plus importante que la production d'éthanol. Le gaz remplit alors les alvéoles du réseau de gluten formé au pétrissage (alvéolage de la mie de pain.

Au cours de la cuisson, une activation thermique des enzymes de la farine et des permet une accélération de la fermentation. Le gaz carbonique subit une expansion et l'éthanol s'évapore

3.5.2. Les fermentations secondaires :

Une grande partie des sucres est utilisée dans la conversion en CO₂et en éthanol. Mais certains glucides subissent des réactions secondaires à partir de l'acide pyruvique. Ceci aboutit à la formation de composés volatils intervenant dans l'arôme du pain.

3.5.3. Rôle de la fermentation lactique :

La technique de fermentation dite sur levain utilise également une autre fermentation que la fermentation alcoolique : c'est la fermentation lactique. Sur de longues périodes de fermentation, le mélange farine-eau des pâtes constitue un milieu favorable au développement des ferments lactiques. Le milieu, plutôt anaérobie, est acidifié par les bactéries lactiques. Cette fermentation lactique entraîne une acidification développée dans le pain et qui se traduit par un goût aigrelet.(Larpen, 1992)

Conclusion

Les fermentations alimentaires sont un phénomène de conservation utilisé depuis des milliers d'années. Elles concernent de nombreux produits présents dans l'alimentation quotidienne. Elles résultent de la transformation de la matière organique par des ferments.

Ces microorganismes se répartissent en trois groupes : les bactéries, les moisissures et les levures. Les ferments, par définition, consomment un substrat présent dans le produit brut et le métabolise. Les produits de ce métabolisme, ou les déchets présentent un intérêt quant aux propriétés organoleptiques. Cette grande diversité d'organismes permet la réalisation de multiples fermentations.

Actuellement, la fermentation s'utilise industriellement, de nombreuses recherches ont été réalisées en vue de contrôler ce procédé, et ce en s'appuyant sur les propriétés physico-chimiques des microorganismes utilisés, en vue de favoriser la flore utile.

Quatre fermentations se retrouvent dans le domaine alimentaire. Les ferments lactique, alcoolique et propionique utilisent les sucres pour former respectivement de l'acide lactique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone, et du propionate. Les ferments acétiques, quant à eux, utilisent l'éthanol pour produire de l'acide acétique.

Références bibliographiques

A

Abdelguerfi. A, Ramdane. S.A, 2003. Evaluation Des Besoins En Matière De Renforcement Des Capacités Nécessaires A La Conservation Et L'Utilisation Durable De La Biodiversité Importante Pour L'Agriculture, Bilans Des Expertises Sur «La Biodiversité Importante Pour L'Agriculture En Algérie » Mate-Gef/Pnud : Projet Alg/97/G31 (Tome Xi).

Agropolis Museum.Fiche Animation : La Panification [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Www.Museum.Agropolis.Fr/Pedago/Base/Animations/Panification/Panification.Pdf](http://Www.Museum.Agropolis.Fr/Pedago/Base/Animations/Panification/Panification.Pdf). [Consulté Le 02/11/15]

Anonyme1, Les microorganismes dans l'alimentation

Anonyme 2, Les fermentations alimentaires

Anonyme1989,CPE (Centre de Prospectives et d'Etudes) Ministère de la Recherche et de la Technologie, Les Procédés de Fermentation dans l'industrie, édition Innovation Paris, 307p

Azzoune, 2009, In Belarbi, 2011 Isolement et identification des espèces d'Aspergillus section Flavi aflatoxinogènes contaminant les amandes commercialisées en Algérie

B

Bartschi, Claire, 2009. Les Levures Et Les Moisissures: Classification, Développement Et Reproduction. Non Edité

Bauwens.P, 2010, Kéfir De Fruits Et De Lait, Chantecler, 72 Pages.

Béal.C, Sodini.I, 2003, Fabrication des yaourts et des laits fermentés

Béguin. J, Coarer. M, Poulard. A, Poupault. P Et Vinsonneau .E ,2008.Maîtrise Des Fermentations Spontanées Et Dirigées. Institut Français De La Vigne Et Du Vin. Pp: 29-48.

Bières Cultes.La Fermentation [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Bierescultes.Fr/Bierescultes/Racine/Default.Asp?Id=2435](http://Bierescultes.Fr/Bierescultes/Racine/Default.Asp?Id=2435). [Consulté Le 03/11/15]

Boidin, Jacques, Fiol, Jean-Bernard Poncet, Simone. Levures. Dans: Encyclopædia Universalis[En Ligne]. [Consulté Le 6 Novembre 2014]. [Url:Http://Www.Universalis-Edu.Com/Encyclopedie/Levures](http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/levures)

Bouix .M. Et Leveau J-Y, 1991.Les Levures .Techniques D'Analyse Et De Contrôle Dans Les Industries Agroalimentaires, Edition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3. Pp: 206-229.

Bourdichon. F,Casaregola. S, Farrokh. C, Frisvad. J.C, Gerds. M, Hammes. W, Harnett. J, Huys. G, Laulund. S, Ouwehand. A, Powell. I, Prajapati. J, Seto. Y, Schure. E, Van Boven. A, Vankerckhoven. V, Zgoda.A, Tuijelaars. S, Bech Hansen. E, 2012,Food Fermentations: Microorganisms With Technological Beneficial Use, In : International Journal Of Food Microbiology, [En Ligne], , 7p, Disponible Sur [Www.Sciencedirect.Com/Science/Article/Pii/S0168160511007586](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511007586)[Consulté Le 03/12/2013]

Bourgeois .C-M Et Larpent.J-P, 1996. Microbiologie Alimentaire tome 2 : Aliments Fermentés Et Fermentations Alimentaires -2ème Editioned. Tec & Doc. Pp: 523..

Bourgeois C.M., Mescle J.L., Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire. Tome 1. 2ème Edition. Lavoisier, Paris.

Branger, A., 2004. Fabrication De Produits Alimentaires Par Fermentation : Les Ferments. Techniques De L'ingénieur, F3500, 1-15.

Branger, A., Richer, M.-M., Roustel, S., 2012. Microbiochimie Et Alimentation. Educagri Editions, Chapitre 8 : Aliments Et Fermentations : Ferments Et Stratégies, 180-185.

Branger, A., Richer, M.-M., Roustel, S., 2012. Microbiochimie Et Alimentation. Educagri Editions, Chapitre 7 : Quelques Systèmes Microbiens : La Métabiose Du Saucisson Sec, 150-157.

Branger.A, 2004,Fabrication De Produits Fermentés Par Fermentation: Les Ferments, In: Techniques De L'ingénieur [En Ligne] Réf: F3500, 17p, Disponible Sur [Www.Techniques-Ingenieur.Fr.Bases-Doc.Univ-Lorraine.Fr/Res/Pdf/Encyclopedia/42431210-F3500.Pdf](http://www.techniques-ingenieur.fr/bases-doc/univ-lorraine.fr/res/pdf/encyclopedia/42431210-f3500.pdf)[Consulté Le 22/11/2013]

C

Camus, G., 2011. La Fermentation Lactique Et Son Utilisation Dans La Fabrication Du Yaourt[En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Www.Snv.Jussieu.Fr/Vie/Dossiers/Fermentation-Lactique/Fermentation-Lactique.Html/](http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/fermentation-lactique/fermentation-lactique.html). [Consulté Le 16/11/15].

Catteau M. (1996). Microbiologie Alimentaire Tome 1, Aspect Microbiologique De La Sécurité Et De La Qualité Des Aliments, Edité Par: Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J., Tec & Doc, Paris, 672 P.

Centre National Interprofessionnel De L'economie Laitière. Circuit De Fabrication Des Yaourts [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Www.Produits-Laitiers.Com/Le-Circuit-De-Fabrication-Des-Yaourts/](http://www.produits-laitiers.com/le-circuit-de-fabrication-des-yaourts/). [Consulté Le 16/11/15].

Codex Alimentarius, World Health Organization, 1978. C Odex Standard 283-1978 :Norme Générale Codex Pour Le Fromage [En Ligne]. Disponible Sur : [Www.Codexalimentarius.Org/Input/Download/Standards/175/Cxs_283f.Pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/175/Cxs_283f.pdf). [Consulté Le 16/11/15].

Cycle D'allomyces Macrognus, [Image031], Institut De Génétique Et Microbiologie, [En Ligne], [Http://Cgdc3.Igmors.U-Psud.Fr/Microbiologie/Partie1/Chap3_03_Chrytrids.Htm](http://cgdc3.igmors.u-psud.fr/microbiologie/partie1/chap3_03_chytrids.htm)(Page Consultée Le 11/01/2015)

D

De Roissart H., Luquet F.M. (1994). Bactéries Lactiques. Aspects Fondamentaux Et Appliqués, Vol 1. Lorica (Ed). Uriage/ France.

Delaunay, S., 2015. L'hybridation Moléculaire. Ensaia 1ère Année

F

Franzetti.L,Galli.A, Pagani.M.A, De Noni.I, 1998, Enquêtes Microbiologiques Et Chimiques Sur Les Boissons "Sugar Kéfir", Annales De Microbiologie Ed Enzimologia, 48, Pages 67-80.

G

Galli, Fiori.E, Pagani.M.A, Ottogalli.G, 1995, Composizione Microbiologica E Chimica dei Granuli Di Kéfir "Di Frutta", Annales De Microbiologie Ed Enzimologia, 45, Pages 85-95.

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie Alimentaire, Dunod, Paris. 652 P.

Gülitz.A , Stadie. J, Wenning. M, Ehrmann.M.A , Vogel.R, 2011, La Diversité Microbienne De L'eau Kéfir, International Journal Of Food Microbiology, Volume 151, Issue 3, , Pages 284-288.

H

Horisberger, 1969.structure Du Dextrane Du Grain Tibi, Recherche De Glucides, 10, Pages 379-385.

L

Larpent .J-P, 1991.Biotechnologie Des Levures. Ed. Masson. Paris. Pp : 97-426.

Larpent .J-P, 1992.La Microbiologie De La Fermentation Panaire. Ed. Apria/cdiupa. Pp: 65.

Larpent.J.P, 1992, La Microbiologie De La Fermentation Panaire –, «Agro-Alimentaire Information» No.8, Edition Apria/Cdiupa,

Le Lait 59, p.219-233.

Le Petit Boulanger. La Levure Biologique Industrielle [En Ligne]. Disponible Sur : [Http://Lepetitboulanger.Com/Panification/Agentsdefermentation.Htm](http://Lepetitboulanger.Com/Panification/Agentsdefermentation.Htm). [Consulté Le 02/11/15].

Leyral.G, Vierling.E, 2007, Microbiologie Et Toxicologie Des Aliments: Hygiène Et Sécurité Alimentaires, Edition Doin/Crdpaquitaine, Collection Biosciences Et Techniques.

Liebefeld, 2002. Microbiologie Des Cultures. Unité De Recherche «Lait, Fromage»

Loïez, Annie, 10 Mars 2003. Production De La Levure De Panification Par Biotechnologie. Dans : Techniques De L'ingénieur [En Ligne], Ref: J6013. [Consulté le 06/11/2014].
[Url:Http://Www.Techniques-Ingenieur.Fr/Base-Documentaire/Procedes-Chimie-Bio-Agro-Th2/Bioprocedes-Dans-Les-Domains-De-La-Sante-De-L-Agroalimentaire-Et-De-La-Chimie-42163210/Production-De-La-Levure-De-Panification-Par-Biotechnologie-J6013](http://Www.Techniques-Ingenieur.Fr/Base-Documentaire/Procedes-Chimie-Bio-Agro-Th2/Bioprocedes-Dans-Les-Domains-De-La-Sante-De-L-Agroalimentaire-Et-De-La-Chimie-42163210/Production-De-La-Levure-De-Panification-Par-Biotechnologie-J6013)

Lopez, F., 2013. Membrane Processing : Dairy And Beverage Applications. Wiley-Blackwell, Chapter 15 : Application Of Membrane Technology In Vinegar, 334-338.

Lutz, 1999, Recherches Biologiques Sur La Constitution Du Tibi, Bulletin De La Société Mycologique De France, 15, Pages 68-72.

M

Mahaut, M., Jeantet, R., Brule, G., 2000. Initiation A La Technologie Fromagère, Deuxième Edition. Tech & Doc, Chapitre 5 : Egouttage Du Coagulum, 86.

Meyer. A, Deiana. J, Bernard. A, 2004, Cours De Microbiologie Générale Avec Problèmes Et Exercices, 2ème édition Doin, , 437p, Biosciences Et Techniques. Anonyme 1989, Cpe (Centre De Perspectives Et D'études) Ministère De La Recherche Et De La Technologie, Les Procédés De Fermentation Dans L'industrie, Edition Innovation Paris, 307p

Montel, M., C., Beranger, C., Bonnemaire , L., 2005. Les Fermentations Au Service Des Produits De Terroir. Inra Editions, 137 -142.

Montel.M.C, Beranger.C, Bonnemaire.J, 2005, Les Fermentations Au Service Des Produits De Terroir, Edition Quae.

Moreau, C., 1979. Nomenclature des Penicillium utiles à la préparation du Camembert. Hal,

N

Neve.H, Heller.K.J, 2002, La Microflore Du Kéfir D'eau: Un Coup D'œil Par Microscopie Electronique A Balayage, Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, 54, Pages 337-349.

O

Organisation Des Nations Unies Pour L'alimentation Et L'agriculture (Fao) Et Le Réseau d'information Sur Les Opérations Après Récolte (Inpho) 1998. Le Lait Et Les Produits Laitiers Dans La nutrition Humaine [En Ligne]. Collection Fao: Alimentation Et Nutrition N° 28, Chapitre 5 : Laites Fermentés. Disponible Sur : [Http://Www.Fao.Org/Docrep/T4280f/T4280f0d.Htm#Chapitre 5 Laites fermentés](http://Www.Fao.Org/Docrep/T4280f/T4280f0d.Htm#Chapitre%205%20Laites%20fermentés). [Consulté Le 16/11/15].

P

Pasteur. L, 1866. Etude Sur Le Vin. 1ère édition. Masson. Paris.

Peyru Pierre, Grandperri Didier & Co, Biologie Tout-En-Un Bcpst 2e Année, 3ème Edition Dunod, Collection J'intègre, 2014, 672 Pages.

Phaff. H, William. T, Starmer. H Et Kricher .J, 1978. Evolution And Speciation Of Host Plant Specific. Widmer Tanner, F.A. Loewus. Pp: 137-149

Pitt John I And Hocking Ailsad. (2009). Fungi And Food Spoilage. Third Edition. Springer Science. P: 519.

Pol .D, 1996. Travaux Pratiques De Biologie Des Levures. Pellipse, Edition Marketing. 158. Pp : 21-151.

R

Roig, V., 2012. Académie Aix-Marseille : La Fabrication Du Vinaigre Par Les Bactéries [En Ligne]. Disponible Sur: https://Www.Pedagogie.Ac-Aix-Marseille.Fr/Upload/Docs/Application/Pdf/2012-09/Fabrication_Vinaigre_Acetobacter.Pdf. [Consulté Le 08/11/15].

S

Sieuwerths.S, De Bok F.A.M, Et Al, 2008, Unraveling Microbial Interactions In Food Fermentations: From Classical To Genomics Approaches

Singleton P. (1999). Bactériologie. 4 Eme Edition, Dunod, Paris. 415p.

Stadie.J, Gulitz.A, Ehrmann. M, Vogel. R, 2013. metabolic Activity And Symbiotic Interactions Of Lactic Acid Bacteria And Yeasts Isolated From Water Kefir, Food Microbiology, Volume 35, Issue 2, Pages 92–98.

Sutra L., Federighi M., Jouve J. (1998). Manuel De Bactériologie Alimentaire, Polytechnica. 304 P.

T

Teuber Michael, Geis Arnold, 2006. The Genus Lactococcus. Prokaryotes4:205-228

V

Vignola C, 2002, Sciences Et Technologies Du Lait, Transformation Du Lait. Fondation De Technologie Laitière Du Québec Inc. Presses Internationales Polytechnique