

Elaboration d'un fromage de chèvre semi-affiné à partir d'une sélection de souches lactiques autochtones isolées du lait de chèvres du Nord du Maroc

Zantar S., El Galiou O., Zerrouk H.M., Laglaoui A.

in

Chentouf M. (ed.), López-Francos A. (ed.), Bengoumi M. (ed.), Gabiña D. (ed.).
Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations

Zaragoza : CIHEAM / INRAM / FAO

Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 108

2014

pages 191-197

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=00007635>

To cite this article / Pour citer cet article

Zantar S., El Galiou O., Zerrouk H.M., Laglaoui A. **Elaboration d'un fromage de chèvre semi-affiné à partir d'une sélection de souches lactiques autochtones isolées du lait de chèvres du Nord du Maroc.** In : Chentouf M. (ed.), López-Francos A. (ed.), Bengoumi M. (ed.), Gabiña D. (ed.). *Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations*. Zaragoza : CIHEAM / INRAM / FAO, 2014. p. 191-197 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 108)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Elaboration d'un fromage de chèvre semi-affiné à partir d'une sélection de souches lactiques autochtones isolées du lait de chèvres du Nord du Maroc

S. Zantar¹, O. El Galiou², H.M. Zerrouk¹ et A. Laglaoui²

¹Unité de recherche sur les Techniques Nucléaires, l'Environnement et la Qualité, INRA-Centre Régional de la Recherche Agronomique de Tanger (Maroc)

²Equipe de recherche Biotechnologies et Génie des Biomolécules, Université Abdelmalek Essaadi, Faculté des Sciences et Techniques, BP 416, Tanger (Maroc)

³Faculté Polydisciplinaire de Larache, Université Abdelmalek Essaadi (Maroc)

Résumé. L'objectif de cette étude est de sélectionner des bactéries lactiques autochtones à partir du lait de chèvre avec des caractéristiques technologiques intéressantes et pouvant être utilisées en tant que souches starters pour la fabrication du fromage semi-affiné. Sur 220 souches isolées, 9 souches de *Streptococcus* et *Lactococcus* ont été sélectionnées pour la préparation de ferments. Avec ces ferments lactiques, nous avons élaboré trois lots de fromage et les analyses physicochimiques (l'humidité, les matières grasses, l'azote total, le lactose et les cendre), et organoleptiques (couleur, intensité des goûts, qualité du goût, et l'acceptation générale) ont été réalisées. La composition en protéine et en matières grasses est similaire à d'autres types de fromages (Camembert, Cheddar et Manchego). Les résultats de l'analyse sensorielle n'ont pas montré de défauts dans le fromage étudié. Les dégustateurs ont détecté un arrière goût intense dans le Lot 1 dû probablement à une protéolyse excessive et une forte acidification. Dans le cas des deux autres lots, les saveurs étaient intenses et de bonne qualité. Aucun lot n'a montré un goût amer ni piquant, montrant une bonne qualité globale.

Mot-clés. Fromage semi-affiné – Ferment lactique – Chèvre – *Streptococcus* – *Lactococcus*.

Preparation of semi refined cheese from a selection of indigenous lactic strains isolated from raw milk goat in the North of Morocco

Abstract. The main objective of this study was to select local lactic bacteria strains from goat milk that have interesting technological qualities and may be used as starters for an artisan or industrial production of fermented milk products. From 220 strains isolated, 9 *Streptococcus* and *Lactococcus* strains were selected for the preparation of the ferments. With these lactic acid bacteria, we have prepared three groups of cheeses and physicochemical analysis (moisture, fat, total nitrogen, lactose, ash) and organoleptic (taste, odor intensity, quality of taste, aftertaste and overall acceptance) were conducted. Protein and fat composition is similar to other types of cheeses (Camembert, Cheddar, Manchego). Sensorial analysis showed no defects in the studied cheeses. The tasters detected a strong taste in group 1 probably due to excessive proteolysis and strong acidification. In the other two groups, the flavors were intense and of good quality. No group has shown a bitter or pungent taste, showing good overall quality.

Keywords. Cheese – Tarters cultures – Goat – *Streptococcus* – *Lactococcus*.

I – Introduction

Les fromages, commercialisés actuellement sous les dénominations de «Jben» dans le Nord du Maroc, se caractérisent par l'hétérogénéité dans la saveur, la qualité, et même parfois, dans la technologie d'élaboration employée.

Au Nord du Maroc, le fromage frais de chèvre «Jben» est fabriqué d'une manière traditionnelle et empirique. Généralement, les transformateurs utilisent des ferments sauvages (Lben ou lactoserum de la veille de la production de fromage) pour ensemercer le lait du jour. L'utilisation non maîtrisée et empirique de cette flore conduit le plus souvent à des accidents de fabrication liés aux problèmes d'acidification qui apparaissent fréquemment aux niveaux des exploitations impliquant des répercussions sur leurs revenus ainsi que des problèmes hygiéniques.

Dans la plupart des procédés industriels de transformation du lait, les bactéries lactiques présentes dans le lait cru sont détruites lors de la pasteurisation. Elles doivent être réintroduites par des ferments composés de souches préalablement sélectionnées suivant des critères d'aptitudes technologiques et organoleptiques : acidification, dégradation des protéines et des lipides, etc. L'un des défis les plus importants de l'industrie laitière est donc de choisir les genres, les espèces et les souches bactériennes les mieux adaptés aux fonctions qui leur sont imparties dans les diverses technologies de transformation du lait par fermentation.

Les consommateurs apprécient les fromages artisanaux pour leurs arômes et saveurs typiques, qui sont généralement attribués à l'activité métabolique de la microflore autochtone présente dans le lait cru. Divers auteurs ont observé que l'utilisation du lait pasteurisé avec les ferments lactiques autochtones aide à obtenir des fromages avec des caractéristiques similaires aux produits élaborés avec du lait cru.

Face à l'industrie laitière nationale florissante et dans la perspective de la production de levains lactiques locaux, nous avons entrepris un travail portant sur la détermination et la distribution des bactéries lactiques de lait cru de chèvre de la race locale au Nord du Maroc et l'évaluation de la contribution des différentes souches autochtones sélectionnées sur les caractéristiques physico-chimiques et sensorielles des fromages semi-affinés de chèvre au Nord du Maroc.

II – Matériel et méthodes

1. Isolement et purification des bactéries lactiques

220 souches ont été isolées à partir du lait de 28 chèvres de la race locale issues de huit exploitations laitières situées dans trois différentes régions du Nord du Maroc : Tanger, Tétouan et Chefchaouen. L'isolement a été réalisé sur gélose MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant quelques gouttes des dilutions 10⁻⁴ et 10⁻⁵ à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 h à 48 h en conditions d'anaérobiose. La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à 37°C pendant 24 h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches (Idoui *et al.*, 2008).

2. Identification morphologique et biochimique des souches lactiques isolées

Les bactéries isolées ont été identifiées en se basant sur des caractères morphologiques et biochimiques, selon les techniques d'identification décrites par Larpent (1997), Idoui et Karam (2008) et Gusils *et al.* (2010).

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, et dans le but d'écarter tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram. Celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement.

La catalase est mise en évidence en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester.

Une souche hétérofermentaire se caractérise par le dégagement de CO₂. Cette production a été mise en évidence par incubation des souches sur bouillon MRS avec une cloche de Durham. La présence de bulles de gaz dans la cloche signifiait que la souche est hétérofermentaire.

3. Caractérisation technologique des souches lactiques

L'acidité titrable a été mesurée avec une solution de NaOH 0,111 mol/l en présence de phénol-phtaléine. L'aptitude à l'acidification a été analysée par la mesure de pH₀, pH_{24 h}, ΔpH, acidité titrable initial (a₀), acidité titrable après 2, 5 h 30 et 24 h d'acidification, (a₁ : 2h, a₂ : 5 h 30, a₃ : 24 h), capacité initiale d'acidification = a₂ – a₀, capacité maximale d'acidification = a₃ – a₀ (FIL-IDF, Standard 1997). L'activité protéolytique des souches a été testée par la méthode au réactif Frazier (Frasier, 1926). La détermination de l'activité lipolytique a été faite par la méthode au sulfate de cuivre (FIL-IDF, Standard 1997).

4. Fabrication de fromage

Après la caractérisation phénotypique et technologique des souches lactiques isolées à partir du fromage de chèvre, six souches ont été sélectionnées pour utilisation comme ferments lactiques. La fabrication du fromage a eu lieu au sein de la fromagerie de l'INRA Tanger. Traditionnellement, les étapes sont les suivantes : Le lait est pasteurisé (74°C / 15 secondes), refroidi à 32°C, addition de Cl₂Ca (10g/100ml) et addition des ferments lactiques.

Trois lots ont été fabriqués :

- Lot 1 : une souche de *Lactococcus* (210) qui a présenté une forte acidité après 5 h d'incubation / une souche de *Lactococcus* (191) avec une protéolyse intense (0,5%).
- Lot 2 : une souche de *Streptococcus* (120) qui a présenté une acidité moyenne / une souche de *Lactococcus* (210) avec une protéolyse moyenne (0,5%).
- Lot 3 : une souche de *Lactococcus* (215) qui a présenté une acidité faible / une souche de *Streptococcus* (228) où la protéolyse est faible voire absente (0,5%).

Après l'addition des ferments, on procède à une agitation douce durant 20 min avec mesure de pH. La présure est ajoutée (0.25 ml/l) à une température de 30-31°C durant 45 min. Le caillé est ensuite découpé, salé (6.5 g/l), égoutté et moulu. Les fromages sont introduits dans la chambre froide (5°C, humidité 90-95%) pour la maturation (7 jours).

5. Contrôle des fromages élaborés

La détermination des protéines a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1997). La détermination de l'extrait sec du fromage semi-affiné est réalisée sur une prise d'essai de 5 g en présence de sable purifié (AFNOR, 1993). Le dosage de la matière grasse est réalisé selon la méthode de Van Gulik (NF V 04-210, AFNOR, 1993). Le dosage de lactose est effectué par la méthode de Bertrand (NF V 04-213, AFNOR, 1993). La teneur en cendre est déterminée par incinération directe d'un échantillon de 5 g de fromage à une température de 530 ± 20°C (NF V 04-208, AFNOR, 1993).

Quant aux analyses sensorielles, les séances de dégustation des fromages semi-affinés préparés se sont déroulées dans des conditions non normalisées, par un panel de cinq personnes non entraînés mais habitués à la dégustation de leurs fromages. Ces analyses ont été effectuées J7 après stockage au froid à 5°C (Edima, 2007).

III – Résultats et discussion

1. Distribution des souches lactiques

L'observation microscopique des 220 souches a révélé une seule forme de cellules : la forme cocci. Ces coques sont disposées en paires ou en chaînettes plus ou moins longues.

Sur les 220 isolats, 36 souches se sont avérées à gram positif et catalase négatif ce qui est caractéristiques des bactéries lactiques et ont été choisis pour des analyses plus poussées.

Dans la collection des coques, 9 sont des *Lactococcus* (110, 210, 215, 175, 174, 191, 162, 201 et 206), et 9 souches sont des *Streptococcus* (226b, 228, 121, 314, 200 i, 120, 317, 144 et 85) et 18 souches sont des *Enterococcus*. Les souches non *déterminées* (ND) sont des souches qui présentent des caractères douteux et elles exigent d'autres tests complémentaires pour les identifier.

Les souches étudiées sont pourvues d'un caractère homofermentaire car elles n'ont présenté aucune capacité de production de gaz.

2. Détermination de l'activité acidifiante

La capacité acidifiante chez les *Lactococcus* a été mesurée au cours du temps $t = 0$, $t = 2$ h, $t = 5$ h 30 et $t = 24$ h (Fig. 1). Après 6 h d'incubation, l'acidification augmente légèrement chez la souche 210, par contre chez les autres souches, la variation est faible. Après 24 h d'incubation, l'acidité augmente rapidement chez les souches 210, 174 et 162. La valeur maximale de l'acidité est de 61°D (souche 210) alors que la souche 215 présente l'acidité Dornic la plus faible (21°D). Concernant les *Streptococcus* (Fig. 2), les résultats montrent que dans les premières heures d'in-



Fig. 1. Pouvoir acidifiant de *Lactococcus* dans le lait chèvre.



Fig. 2. Pouvoir acidifiant de *Streptococcus* dans le lait chèvre.

cubation, l'acidité du lait reste stable; toutes les souches présentent un degré Dornic entre 13 et 14°D qui est égal à l'acidité initiale du lait (13°D). Après 24 h heures d'incubation à 30°C, l'acidité du lait augmente selon les souches, les souches 314 et 144 présentent une acidité maximale après 24 d'incubation. La valeur minimale de l'acidité 21.5°D est donnée par la souche 85. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Masle et Morgan, 2001) qui ont démontré que la capacité des laits de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques varie selon les souches.

3. Détermination de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique des souches lactiques autochtones isolées à partir du lait de chèvre a été déterminée sur gélose nutritive à 10% du lait stérile (Tableau 1). Toutes les *Lactococcus* présentent une activité protéolytique par l'apparition d'un halo autour des colonies, leur diamètre varie entre 0,1 et 0,37 cm selon les souches. Par contre, les *Streptococcus* ont une activité protéolytique nulle. Ces résultats sont en accord avec (Desmazeaud et Vassal, 1979). Selon ces auteurs, les souches de *Lactococcus* étudiées présentent toutes une activité protéolytique dosable permettant leur classement après 24 h d'incubation en présence de caséine entière. D'autres travaux (Chatelin *et al.*, 2002) ont montré que généralement, l'activité protéolytique globale des bactéries lactiques est considérée comme faible comparée à celle d'autres genres bactériens comme *Bacillus* ou *Pseudomonas*. Les résultats des souches de *Streptococcus* ont une activité acidifiante très importante alors qu'elles ne sont pas des bactéries protéolytiques. Ceci est en accord avec les résultats de (El Soda *et al.*, 2003) qui ont conclu qu'il n'y a aucune relation entre l'activité protéolytique et l'acidification.

Tableau 1. Activité protéolytique des souches lactiques isolées

Souche	Genre	Observation	Diamètre (cm)
110	<i>Lactococcus</i>	+	0,1
210	<i>Lactococcus</i>	+	0,2
215	<i>Lactococcus</i>	+	0,1
175	<i>Lactococcus</i>	+	0,3
174	<i>Lactococcus</i>	+	0,3
191	<i>Lactococcus</i>	+	0,37
162	<i>Lactococcus</i>	+	0,2
201	<i>Lactococcus</i>	+	0,2
106	<i>Lactococcus</i>	+	0,2
226b	<i>Streptococcus</i>	—	0
228	<i>Streptococcus</i>	—	0
121	<i>Streptococcus</i>	—	0
314	<i>Streptococcus</i>	—	0
85	<i>Streptococcus</i>	—	0
120	<i>Streptococcus</i>	—	0
317	<i>Streptococcus</i>	—	0
200 i	<i>Streptococcus</i>	—	0

4. Détermination de l'activité lipolytique

La capacité lipolytique des souches étudiées a été évaluée en utilisant un milieu de culture à 20% de beurre. Aucune des souches isolées ne présentent un précipité bleu sur la gélose. Les mêmes résultats ont été obtenus par (Morais, 2004) qui ont montré que les bactéries lactiques sont peu lipolytiques, bien que quelques espèces possèdent des lipases et/ou des estérases qui sont capables d'hydrolyser des matières grasses du lait.

5. Essai de fabrication de fromage avec les ferments autochtones

Le Tableau 2 montre la composition des fromages obtenus avec les ferments autochtones (Lot 1, Lot 2, Lot 3) après 7 jours de maturation:

Tableau 2. Analyses physicochimiques des 3 lots de fromage fabriqués à partir des souches autochtones

Paramètres	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Protéines g/100 g	13,48	13,77	13,75
Extrait sec g/100 g	48,8	49,39	49,51
Matière grasse g/100 g	30,5	31,0	31,0
Lactose g/100 g	2,49	2,22	2,5
Cendres g/100 g	2,33	2,40	2,27

Nous n'avons pas observé de différences importantes dans la composition générale des 3 lots de fromage. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par (Katsiari *et al.*, 2009) dans l'étude de fromage Galotyri élaboré avec différents ferments lactiques. Généralement, la composition en protéines est similaire au fromage semi affiné Manchego (Gómez *et al.*, 1999) et inférieure à d'autres types de fromage : Camembert (Corrolier, 1998), Cheddar (Jeantet *et al.*, 2006) et Emmental (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004). La teneur en matière grasse est comparable au Fromage semi-affiné Manchego et Emmental.

Les résultats de l'analyse sensorielle n'ont pas montré de défauts dans le fromage étudié. Les dégustateurs ont détecté un arrière goût intense dans le Lot 1 dû probablement à une protéolyse excessive et une forte acidification. Dans le cas des deux autres lots, les saveurs étaient intenses et de bonne qualité. Aucun lot n'a montré un goût amer ni piquant, montrant une bonne qualité globale (Tableau 3). En effet, plusieurs auteurs ont montré que l'utilisation du lait pasteurisé et des ferments lactiques autochtones aident à maintenir les caractéristiques typiques des fromages traditionnels. Gómez *et al.* (1999) et González *et al.* (2003) ont trouvé une valorisation de la qualité, de la saveur et d'intensité similaires entre les fromages expérimentaux et les fromages contrôles et ont démontré que la caractérisation technologique correcte des souches autochtones permet de sélectionner les souches avec les propriétés désirées dans les ferments lactiques pour utilisation dans les productions industrielles en maintenant quelques caractéristiques typiques des fromages traditionnels.

Tableau 3. Analyses sensorielles des 3 lots de fromage fabriqués à partir des souches autochtones

Paramètres	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Couleur	4,55	4,15	4,05
Intensité des goûts	3,20	2,10	2,30
Qualité des goûts	2,50	2,60	2,35
Acceptation générale	3,25	3,20	3,34

IV – Conclusion et perspectives

La sélection des souches autochtones de bactéries lactiques et leur utilisation pour la fabrication du fromage permet d'obtenir des fromages plus personnalisés et des produits similaires quant à leurs caractéristiques organoleptiques. Ces résultats doivent être complétés par l'analyse du pro-

fil des acides gras et des acides aminés libres chez les 3 lots de fromage ce qui permettrait de mieux caractériser la qualité nutritionnelle de ces produits et ouvrir la voie vers l'obtention des produits avec une dénomination d'origine contrôlée.

Références

- AFNOR/DGCCRF, 1993.** *Contrôle de la qualité des produits alimentaires lait et produits laitiers : analyses physico-chimiques*. 4^{ème} édition, Paris, pp. 220-251.
- AOAC, 1997.** *Official Methods of Analysis*. 15^e Ed. Association of Official Analytical Chemistry, Washington, D.C.
- Chatelin Y.-M., David V. et Laithier C., 2002.** Identifier les facteurs ayant une incidence sur l'acidification des laits dans les technologies fromagères fermières (les caillés lactiques). Institut de l'Elevage. <http://www.ins-elevage.asso.fr/>
- Desmazeaud M. et Vassal L., 1979.** Activité protéolytique intra-cellulaire de streptocoques lactiques méso-philés. Rôle au cours de l'affinage des fromages. Dans : *Lait*, 59 (587), pp. 327-344.
- Corroler D., Mangin I., Desmasure N. et Gueguen M., 1998.** An ecological study of *Lactococci* isolated from raw milk in the camembert cheese registered designation of origin area. Dans : *Applied Environmental Microbiology*, 64, pp. 4729-4735.
- Edima H.C., 2007.** *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, pp. 57-66.
- El Soda M., Ahmed N., Omran N., Osman G. et Morsi A., 2003.** Isolation, identification and selection of lactic acid bacteria cultures for cheesemaking. Dans : *Emir. J. Agric. Sci.*, 15 (2), pp. 51-71.
- Frasier W.C., 1926.** A method for detection of change in gelatin due to bacteria. Dans : *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 39, No. 4 (Oct., 1926), pp. 302-309.
- Gómez M.J., Rodríguez E., Gaya P., Núñez M. et Medina M., 1999.** Characteristics of Manchego cheese manufactured from raw and pasteurized ovine milk and with defined-strain or commercial mixed-strain starter cultures. Dans : *Journal Dairy Science*, 82, pp. 2300-2307.
- González J., Mas M., Tabla R., Moriche J., Roa I., Rebollo J.E. et Cáceres P., 2003.** Autochthonous starter effect on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics of Iborea goat's milk cheeses. Dans : *Lait*, 83, pp. 193-202.
- Gusils C., Chaia A.P., Olivier G. et González S., 2010.** Microtechnique for identification of lactic acid bacteria. Dans : *Methods in molecular biology*, Vol. 268 : Public Health Microbiology: Methods and Protocols. Humana Press. Otowa, pp. 453-458.
- IDF, 1997.** Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (LAB). Standard of identity IDF Standard 149A. Brussels: International Dairy Federation.
- Idoui T. et Karam N.E., 2008.** Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. Dans : *Grasas y Aceites*, 59, pp. 361-367.
- Jéantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brulé G., 2007.** *Science des aliments : Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits*. 2) *Technologie des produits alimentaires*. Paris: Tec & Doc, Lavoisier, 456 pp.
- Katsiari M.C., Kondyli E. et Voutsinas L.P., 2009.** The quality of Galotyri-type cheese made with different starter cultures. Dans : *Food Control*, 20, pp. 113-118.
- Larpent J.P., 1997.** *Microbiologie alimentaire*. Tec & doc, Lavoisier. Paris. 10-72.
- Masle I. et Morgan F., 2001.** Aptitude du lait du chèvre à l'acidification par les ferments lactiques- facteurs de variation liés à la composition du lait. Dans : *Lait*, 81 (2), pp. 561-569.
- Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., 2004.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. Salminen S, Wright AV, Ouwehand A (Eds). 3^e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 73-102.
- Morais J., 2004.** Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja guirra para la elaboración de queso. Thèse doctorale. UAB.