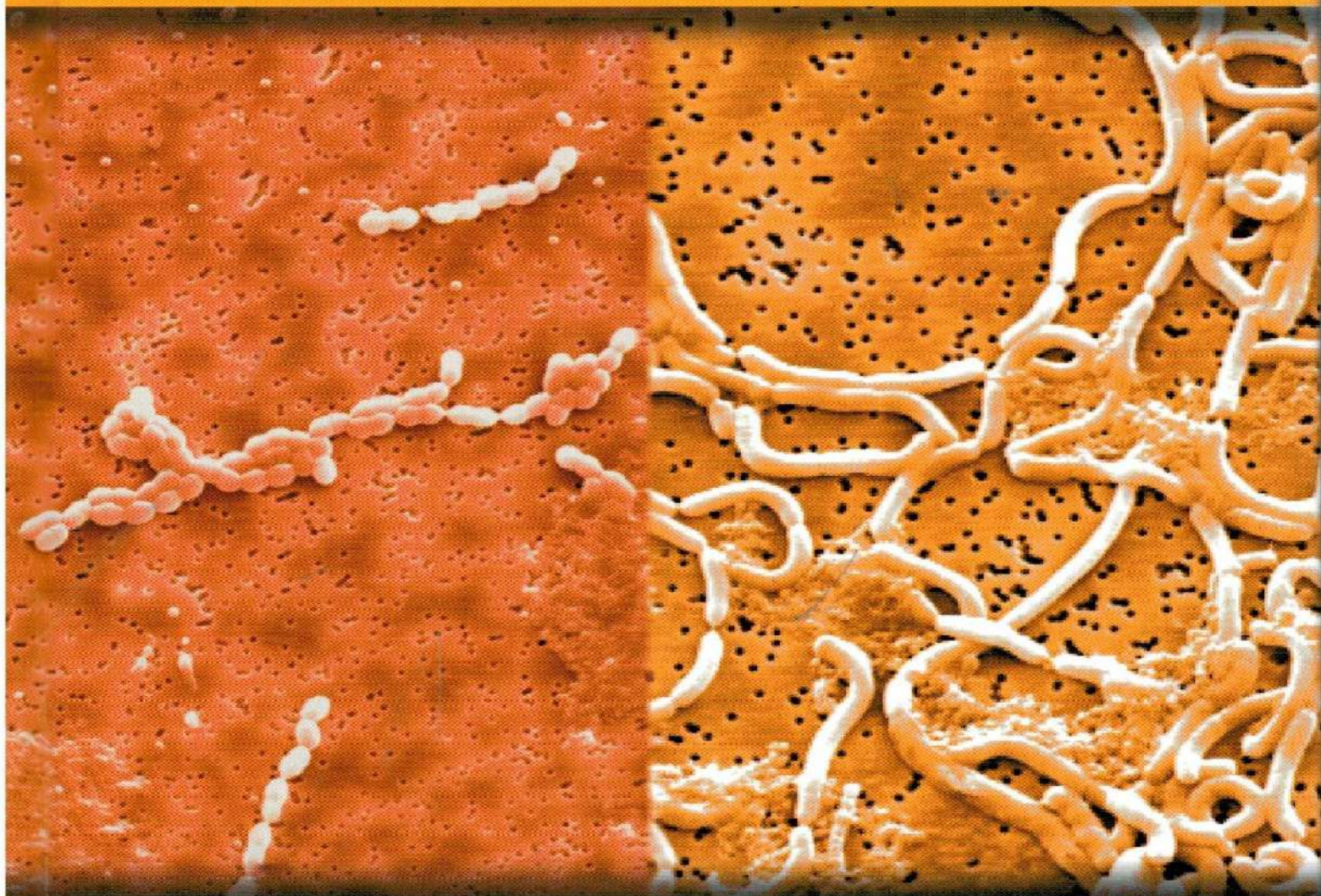




COLLECTION
SCIENCES & TECHNIQUES
AGROALIMENTAIRES

Georges Corrieu • François-Marie Luquet
coordonnateurs



Bactéries lactiques

De la génétique aux ferments

Editions
TEC
& **DOC**

Lavoisier

COLLECT
SCIENCES & TECHNIQ
AGROALIMENTAI

Président du Directoire : J.-L. MULTON

2-660-4-1



Bactéries lactiques

De la génétique aux ferments

coordonnateurs

Georges Corrieu

docteur de l'université de Dijon

responsable de l'UMR Génie et microbiologie des procédés alimentaires
Institut national de la recherche agronomique (Thiverval-Grignon)

François-Marie Luquet

docteur ès sciences

ancien directeur du centre international
de recherches Daniel-Carasso (groupe Danone)
expert près la Cour de cassation et la cour d'appel de Paris
vice-président de Bio-K⁺ International (Canada)

**Editions
TEC
& DOC**

11, rue Lavoisier
F-75008 Paris

Table des matières

Chapitre 1

The taxonomy of lactic acid bacteria (Bruno Pot)	1
1. Introduction	1
2. Some definitions	2
3. The techniques used for the classification and identification of LAB	7
3.1. Phenotypic techniques	7
3.1.1. Morphology	7
3.1.2. Physiology	7
3.1.3. Carbohydrate fermentation patterns	7
3.1.4. Cell wall composition	8
3.1.5. Electrophoretic mobility of lactic acid dehydrogenases	9
3.1.6. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of whole-cell proteins	10
3.1.7. Serology	10
3.1.8. Chemotaxonomic markers	11
3.1.9. Structure and immunological relationships of lactic acid dehydrogenases and other enzymes	12
3.2. Genotypic techniques	12
3.2.1. Plasmid profiling	12
3.2.2. DNA base content and DNA:DNA reassociation studies	12
3.2.3. DNA:rRNA hybridization	13
3.2.4. Comparative analysis of 16S/23S rRNA sequences	13
3.3. Typing techniques	15
3.3.1. Sequencing of housekeeping genes	15
3.3.2. DNA Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	16
3.3.3. Typing methods based on the Polymerase Chain Reaction (PCR)	16
3.3.4. The Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) fingerprinting technique	17
3.3.5. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)	17
3.3.6. Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA)	18

3.4. Methods to study complex populations	18
3.4.1. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE); Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TGGE)	18
3.4.2. Identification microarrays	19
4. The taxonomy of LAB	19
4.1. A little bit of history	41
4.2. The genus <i>Lactobacillus</i>	42
4.2.1. The <i>Lactobacillus acidophilus</i> group	44
4.2.2. The <i>Lactobacillus casei</i> group	46
4.2.3. The <i>Lactobacillus coryneformis</i> group	50
4.2.4. The <i>Lactobacillus perolens</i> group and <i>Paralactobacillus selangorensis</i>	51
4.2.5. The <i>Lactobacillus plantarum</i> group	52
4.2.6. The <i>Lactobacillus buchneri</i> group	56
4.2.7. The <i>Lactobacillus reuteri</i> group	59
4.2.8. The <i>Lactobacillus salivarius</i> group and <i>Lactobacillus vitulinus</i>	65
4.2.9. Non-validated lactobacilli	71
4.2.10. The <i>Pediococcus</i> group	71
4.2.11. The genus <i>Aerococcus</i>	73
4.2.12. The genus <i>Tetragenococcus</i>	74
4.2.13. The genus <i>Enterococcus</i>	76
4.2.14. The genus <i>Carnobacterium</i>	80
4.2.15. The genus <i>Vagococcus</i>	82
4.2.16. The genus <i>Weissella</i>	83
4.2.17. The genera <i>Leuconostoc</i> and <i>Oenococcus</i>	85
4.2.18. The genera <i>Streptococcus</i> and <i>Lactococcus</i>	88
4.2.19. The genera <i>Bifidobacterium</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Scardovia</i> and <i>Parascardovia</i>	92
4.2.20. The genus <i>Sporolactobacillus</i>	103
4.2.21. The genera <i>Atopobium</i> and <i>Olsenella</i>	105
4.2.22. The genera <i>Dolosigranulum</i> and <i>Alloiococcus</i>	106
5. Conclusions and future perspectives	106
References	109

Chapitre 2

Génétique des bactéries lactiques (Pierre Renault)	153
1. Introduction	153
2. Techniques de biologie moléculaire	154
2.1. Méthodes d'analyse des écosystèmes et de la biodiversité	154
2.1.1. Analyse de la diversité des espèces	155
2.1.2. Analyse de la diversité des souches	159
2.1.3. Méthode de suivi des individus dans les écosystèmes	162
2.1.4. Analyse de la viabilité et de l'activité métabolique au sein des écosystèmes	164
2.1.5. Conclusion	166
2.2. Techniques de modification des bactéries lactiques	167
2.2.1. Vecteurs et hôtes	167
2.2.2. Transformation	169
2.2.3. Modifications ciblées et remplacement de gène	171
2.3. Séquençage des génomes	171

2.4. Analyse bio-informatique des génomes et bases de données	176
2.4.1. Outils d'analyse et d'annotation des séquences	176
2.4.2. Bases de données	177
2.5. Nouvelles techniques moléculaires	178
2.5.1. Transcriptomique	178
2.5.2. Protéomique	185
2.5.3. Réseau d'interaction des protéines	188
2.5.4. Métabolomique	190
3. Génomes et évolution	191
3.1. Génome des bactéries lactiques	191
3.1.1. Chromosome	191
3.1.2. Éléments génétiques mobiles	192
3.2. Mécanismes régissant les échanges génétiques	199
3.2.1. Conjugaison	200
3.2.2. Transduction	203
3.2.3. Transformation naturelle	203
3.2.4. Barrières aux transferts de gène	205
3.3. Variabilité des génomes	205
3.3.1. Vues actuelles sur l'évolution des génomes procaryotes	206
3.3.2. Modifications spontanées du génome	207
3.3.3. Perte massive de gènes	208
3.3.4. Acquisition de gènes	209
3.4. Conclusion : « le génome » et « l'espèce » chez les bactéries lactiques	210
4. Contrôle de l'expression et adaptation	212
4.1. Mécanismes de bases	213
4.2. Régulation des signaux de l'environnement	216
4.2.1. Facteurs sigma	216
4.2.2. Systèmes à deux composants (TCS)	218
4.2.3. Réponses aux changements d'osmolarité, aux ions et au stress oxydatif	220
4.2.4. Contrôle des gènes impliqués dans les chocs thermiques	221
4.3. Contrôle du métabolisme carboné	223
4.3.1. Contrôle du catabolisme des sucres	223
4.3.2. Régulation transcriptionnelle des gènes de la glycolyse	229
4.3.3. Régulation du métabolisme des acides organiques	230
4.4. Contrôle du métabolisme des composés azotés	231
4.4.1. Régulation du système protéolytique	232
4.4.2. Régulation des voies de biosynthèse des acides aminés	235
4.4.3. Régulation du métabolisme de l'urée	239
4.5. Contrôle des voies de synthèse des nucléotides	240
4.6. Réseaux de régulation	241
4.7. Communication cellulaire	243
5. Conclusion et perspectives	245
Références bibliographiques	245

Chapitre 3

Métabolisme et ingénierie métabolique (<i>Véronique Monnet, Danièle Atlan, Catherine Béal, Marie-Christine Champomier-Vergès, Marie-Pierre Chapot-Chartier, Hichem Chouayekh, Muriel Cocaigh-Bousquet, Marie Deghorain, Philippe Gaudu, Christophe Gilbert, Eric Guédon, Isabelle Guillouard, Philippe Goffin, Jean Guzzo, Pascal Hols, Vincent Juillard, Victor Ladero, Nic Lindley, Sylvie Lortal, Pascal Loubière, Emmanuelle Maguin, Christophe Monnet, Françoise Rul, Raphaëlle Tourdot-Maréchal et Mireille Yvon</i>)	271
1. Vue globale du métabolisme et des voies de production d'énergie chez les bactéries lactiques	271
1.1. Les bactéries lactiques : des bactéries au métabolisme carboné relativement simple	271
1.2. Les bactéries lactiques : des bactéries aux sous-produits métaboliques intéressants mais qu'il faut domestiquer !	274
1.3. Les bactéries lactiques : des bactéries bien adaptées à leur niche écologique	274
1.4. Les bactéries lactiques : des bactéries qui n'ont pas encore tout dit de leur métabolisme ?	275
2. Outils de modification génétique des bactéries lactiques	277
2.1. Vecteurs de clonage	278
2.1.1. Vecteurs de clonage réplicatifs chez les bactéries lactiques	278
2.1.2. Vecteur de clonage intégratif en un site spécifique du chromosome des bactéries lactiques	279
2.2. Inactivation de gènes	280
2.2.1. Inactivation par recombinaison homologe	280
2.2.2. Inactivation par transposition	283
2.2.3. Retrohoming par les introns de groupe II	285
2.3. Promoteurs inductibles et production contrôlée de protéines chez les BL	285
2.4. Gènes rapporteurs – Mesure de l'expression des gènes	288
2.5. Marqueurs de sélection chez les bactéries lactiques	288
2.6. Conclusions	290
3. Métabolisme carboné des bactéries lactiques	291
3.1. Transport des sucres	291
3.1.1. Système perméase	291
3.1.2. Système PTS	292
3.1.3. Système d'entrée en fonction du sucre	293
3.1.4. Régulation de l'entrée des sucres	294
3.2. Catabolisme des sucres	297
3.2.1. Voies métaboliques centrales	297
3.2.2. Voies métaboliques spécifiques des sucres	298
3.2.3. Voies métaboliques en aval du pyruvate	300
3.2.4. Régulation des voies métaboliques	301
3.3. Métabolisme de l'acide citrique	307
3.3.1. Transport du citrate	307
3.3.2. Hydrolyse du citrate	309
3.3.3. Décarboxylation de l'oxaloacetate	309
3.3.4. Utilisation du pyruvate	310
3.4. Métabolisme de l'acide malique	313

3.4.1. Acide L-malique et maturité du fruit.	313
3.4.2. Métabolisme de l'acide malique ou fermentation malolactique des vins.	313
3.4.3. Enzymes impliquées dans le métabolisme du L-malate	314
3.4.4. Le métabolisme de l'acide malique génère une force protomotrice membranaire	317
3.4.5. La fermentation malolactique est-elle régulée ?	318
3.5. Production de polysaccharides	319
3.5.1. Nature des exopolysaccharides produits par les bactéries lactiques.	320
3.5.2. Hétéropolysaccharides.	323
3.5.2. Aspects qualitatifs et quantitatifs de la production des EPS chez les bactéries lactiques	327
3.5.3. Applications industrielles des EPS de bactéries lactiques	329
2.5.4. Conclusions	331
2.6. Ingénierie du métabolisme carboné	332
2.6.1. Ingénierie des voies de transport et du catabolisme des sucres	332
3.6.3. Réorientation des intermédiaires de la glycolyse	340
3.6.4. Conclusions et perspectives	342
4. Métabolisme azoté	343
4.1. Auxotrophies, besoins en azote et protéase de paroi	343
4.1.1. Auxotrophies	343
4.1.2. Besoins azotés et rôle du système protéolytique	348
4.1.3. Les protéases de paroi	349
4.2. Transport des acides aminés et des peptides	356
4.2.1. Le transport : une nécessité pour la bactérie	356
4.2.2. Le transport des acides aminés	356
4.2.3. Le transport des peptides	357
4.2.4. Rôle des différents transporteurs sur la croissance en lait	363
4.2.5. Conclusions	363
4.3. Peptidases et ingénierie de la protéolyse	364
4.3.1. Nomenclature – classification des peptidases	364
4.3.2. Peptidases spécifiques d'une espèce	372
4.3.2. Localisation cellulaire des peptidases	372
4.3.3. Rôle physiologique et technologique des peptidases	372
4.3.4. Ingénierie de la protéolyse	374
4.4. Régulation du système protéolytique	375
4.4.1. La régulation de la protéolyse par la source d'azote chez les lactocoques : Un modèle de régulation globale	375
4.4.2. La régulation de la protéolyse par la source d'azote chez d'autres bactéries lactiques	377
4.4.3. D'autres signaux, d'autres régulateurs pour d'autres modèles de régulation.	378
4.5. Catabolisme des acides aminés, production de molécules aromatiques et ingénierie.	379
4.5.1. Voies cataboliques impliquées dans la production d'énergie	379
4.5.2. Voies cataboliques impliquées dans la production de molécules aromatiques	382
4.5.3. Ingénierie du catabolisme des acides aminés par les bactéries lactiques pour la production de molécules aromatiques	392
5. Métabolisme lipidique : lipases et estérases, synthèse et hydrolyse d'esters.	393

5.1. Activités estérases des bactéries lactiques	394
5.1.1. Contenu en estérases	394
5.1.2. Spécificité d'hydrolyse des estérases	397
5.2. Synthèse versus hydrolyse : quels sont les paramètres qui font pencher la balance ?	397
5.1.3. Rôles des estérases	398
5.1.4. Ingénierie de la lipolyse et perspectives	399
6. Métabolisme de la paroi et lyse des bactéries lactiques	399
6.1. Composition, biosynthèse et catabolisme de la paroi	399
5.1.1. Le peptidoglycane	400
6.1.2. Les acides téichoïques	403
6.1.3. Les polysaccharides de paroi	407
6.1.4. La couche S	407
6.2. Autolysines des bactéries lactiques et mécanisme de lyse	408
6.2.1. Caractérisation moléculaire des hydrolases du peptidoglycane	409
6.2.2. Mécanismes de lyse	413
6.2.3. Conditions environnementales et déclenchement de la lyse	415
6.2.4. Conclusion	415
6.3. Lyse et conséquences sur la protéolyse et la formation d'arômes	415
6.3.1. La lyse des levains dans les fromages : état des connaissances	416
6.3.2. Lyse des levains dans les fromages et impact sur l'affinage	417
6.3.3. Impact sur l'affinage et accélération de la lyse, perspectives	419
6.3.4. Les questions qui demeurent	421
6.3.5. Conclusions	422
7. Remaniements métaboliques liés aux stress	423
7.1. Réponses générales aux stress : cas des <i>Heat Shock Proteins</i>	423
7.2. Réponses spécifiques : Les stress acide et oxydant et leurs interactions	425
7.2.1. Le stress oxydant	425
7.1.2. Systèmes de défense limités contre les espèces oxygénées	428
7.2. Le stress acide	429
7.2.1. Effet toxique de l'acide lactique	429
7.2.2. Les cibles cellulaires	431
7.2.3. Rôle des ATPases	431
7.3. Interactions entre l'acidité et l'oxygène	432
7.4. Remaniements métaboliques liés aux stress	432
7.4.1. Voies dépendantes de l'oxygène	432
7.4.2. Voies indépendantes de l'oxygène	434
7.5. Conclusions et perspectives	436
8. Interactions métaboliques	436
8.1. Classification des interactions	437
8.2. Phénomènes d'interaction observés lors de l'élaboration des laits fermentés	438
8.2.1. Interactions entre bactéries lactiques thermophiles du yaourt	438
8.2.2. Interactions entre bactéries lactiques et probiotiques	440
8.3. Phénomènes d'interaction observés en fabrication fromagère	441
8.3.1. Interactions entre bactéries lactiques protéolytiques et non protéolytiques	442
8.3.2. Interactions entre bactéries lactiques mésophiles	442
8.3.3. Interactions entre bactéries lactiques et propioniques	442
8.3.4. Interactions entre bactéries lactiques et levures ou moisissures	443

8.4. Autres phénomènes d'interaction faisant intervenir des bactéries lactiques	444
8.4.1. Interactions lors de la fabrication de la choucroute	444
8.4.2. Interactions lors de l'élaboration des vins	444
8.4.3. Interactions lors de l'élaboration de la pâte à pain	446
8.5. Conclusions et perspectives	446
9. Conclusions générales et perspectives de recherche sur les bactéries lactiques	447
Références bibliographiques	449

Chapitre 4

Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques

(Christophe Monnet, Éric Latrille, Catherine Béal et Georges Corrieu) 512

1. Croissance des bactéries lactiques	512
1.1. Généralités sur la croissance bactérienne	512
1.2. Méthodes d'évaluation de la croissance	513
1.2.1. Dénombrements sur milieux gélosés	514
1.2.2. Comptages microscopiques	517
1.2.3. Microscopie de fluorescence	518
1.2.4. Cytométrie en flux	521
1.2.5. Comptage électronique	522
1.2.6. Mesures spectrophotométriques	522
1.2.7. Méthode pondérale	523
1.2.8. Méthodes basées sur l'analyse des acides nucléiques	523
1.2.9. Autres méthodes d'évaluation de la croissance	526
1.3. Facteurs influençant la croissance des bactéries lactiques	527
1.3.1. Milieu de culture	527
1.3.2. Effet de la température et du pH	533
1.3.3. Effet de l'oxygène	534
1.3.4. Nature du micro-organisme	534
1.4. Les cultures mixtes de bactéries lactiques	537
1.4.1. Classification et caractérisation des interactions	537
1.4.2. Conséquences des interactions microbiennes	539
1.4.3. Méthodes d'étude des interactions	540
1.4.4. Principales interactions intéressant les bactéries lactiques	542
2. Activité acidifiante des bactéries lactiques	542
2.1. Considérations générales	542
2.2. Mécanismes et réaction d'acidification	543
2.3. Propriétés acidifiantes des bactéries lactiques	546
2.4. Détermination de l'activité acidifiante	548
2.4.1. Mesure de l'acidité titrable et du pH	549
2.4.2. Détermination dynamique de l'activité acidifiante avec le système CINAC	550
2.4.3. Méthodes indirectes de mesure de l'activité acidifiante	559
3. Modélisation de la croissance et de l'acidification	560
3.1. Méthodes de modélisation	560
3.1.1. Modèles de connaissance	561
3.1.2. Modèles statistiques ou « boîte noire »	563
3.2. Des modèles pour décrire et comprendre les processus de fermentation lactique	563

3.2.1. Le découplage entre la croissance, l'acidification et l'état physiologique.	563
3.2.2. La dynamique de développement des chaînettes de <i>Streptococcus thermophilus</i>	566
3.3. Des modèles pour concevoir des capteurs logiciel intéressant la fermentation lactique	568
3.3.1. Le suivi de la fermentation.	568
3.3.2. L'aide à la décision d'arrêt de la fermentation	569
3.3.3. La prédiction de l'instant d'arrêt de la fermentation en production de yaourt brassé	572
3.4. Des modèles pour prédire le comportement de bactéries lactiques en mélange.	574
3.4.1. Détermination des proportions d'un mélange de souches constituant un ferment	574
3.4.2. Prédiction de la proportion des souches dans une culture mixte continue	575
4. Autres propriétés fonctionnelles.	576
4.1. Propriétés aromatisantes.	576
4.1.1. Diacétyle.	576
4.1.2. Acétaldéhyde	581
4.2. Propriétés gazogènes.	582
4.2.1. Méthodes d'analyse	583
4.2.2. Production de CO ₂ par les bactéries lactiques.	584
4.3. Propriétés texturantes.	587
4.3.1. Méthodes d'analyse	588
4.3.2. Amélioration de la texture des produits laitiers par les bactéries lactiques	591
5. Conclusion générale	592
Références bibliographiques	594

Chapitre 5

Les phages des bactéries lactiques (Alain Chopin, Susana Domingues et Marie-Christine Chopin)

1. Généralités	614
1.1. Présentation.	614
1.2. Deux modes de vie : phages et prophages	616
1.3. Structure « mosaïque » et évolution des génomes de phages.	618
1.4. Diversité et ressemblance ; classification des phages	620
2. Le cas des bactéries lactiques.	622
2.1. Des phages spécifiques pour chaque espèce de bactérie lactique	622
2.1.1. Les phages de lactocoques	623
2.1.2. Les phages de <i>Streptococcus thermophilus</i>	626
2.1.3. Les phages de lactobacilles	626
2.2. Biologie des phages de bactéries lactiques.	627
2.2.1. Adsorption et injection de l'ADN	628
2.2.2. Réplication de l'ADN	630
2.2.3. Morphogenèse	630
2.2.4. Lyse cellulaire	631
2.2.5. Régulation de l'expression	632

2.2.6. Intégration et excision des phages tempérés	633
3. Mécanismes bactériens de résistance et adaptation des phages	634
3.1. Adsorption du phage et injection de l'ADN	635
3.2. Restriction/Modification	636
3.3. Les systèmes d'infection abortive.	637
3.4. Accumulation des mécanismes de résistance.	640
3.5. Perte et acquisition des mécanismes de résistance.	640
4. Comment limiter les nuisances provoquées par les phages ?	640
4.1. Au niveau de l'usine	641
4.1.1. Limiter la multiplication des phages	641
4.1.2. Limiter l'introduction de nouveaux types de phages dans l'usine	642
4.2. Au niveau du producteur de levains	643
4.2.1. Organisation de la distribution de levains	643
4.2.2. Choix d'un système de levains.	644
4.2.3. Isolement de souches de bactéries lactiques résistantes aux phages.	644
5. Conclusions et perspectives	646
Références bibliographiques	647

Chapitre 6

Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques

(Catherine Béal, Michèle Marin, Éloi Fontaine, Fernanda Fonseca
et Jean-Philippe Obert)

1. Production de ferments commerciaux	661
1.1. Modes d'ensemencement	662
1.2. Formes commerciales	663
1.3. Spécifications des ferments commerciaux.	664
1.4. Pratique de l'ensemencement dans l'industrie laitière	664
1.5. Le marché des ferments lactiques.	665
2. Production de ferments lactiques concentrés.	666
2.1. Critères de sélection des ferments	667
2.1.1. Critères de sécurité.	667
2.1.2. Fonctionnalités technologiques	668
2.1.3. Performances	668
2.1.4. Propriétés probiotiques.	669
2.1.5. Mise au point des ferments	670
2.2. Diagramme général de production	670
2.3. Préparation des milieux de culture.	671
2.3.1. Critères de choix des composants du milieu	672
2.3.2. Choix de la source de carbone	673
2.3.3. Choix de la source d'azote	674
2.3.4. Besoins en vitamines	675
2.3.5. Autres besoins nutritionnels.	676
2.3.6. Mélange des composants du milieu	677
2.4. Traitement thermique des milieux	677
2.4.1. Objectifs	677
2.4.2. Conséquences du traitement thermique.	678
2.4.3. Réalisation pratique	678
2.5. Inoculation	679

2.5.1. Conservation des souches	679
2.5.2. Contrôle de la qualité de la souche inoculum	680
2.5.3. Préparation d'une préculture inoculum	680
2.5.4. Réalisation de l'inoculation	680
2.6. Mise en œuvre de la fermentation	681
2.6.1. Fermenteurs et instrumentation	682
2.6.2. Culture discontinue, ou batch	684
2.6.3. Culture continue	686
2.6.4. Culture continue avec élimination	687
2.6.5. Cultures de cellules immobilisées	689
2.7. Influence des conditions de fermentation	689
2.7.1. Vitesse d'agitation	690
2.7.2. Température de fermentation	690
2.7.3. Contrôle du pH de fermentation	692
2.7.4. Type de neutralisant	693
2.7.5. Concentration en acide lactique	694
2.7.6. Atmosphère	695
2.7.7. Potentiel d'oxydoréduction (redox)	696
2.7.8. Activité de l'eau	696
2.7.9. Cultures pures ou cultures mixtes ?	698
2.8. Suivi et contrôle de la fermentation	699
2.8.1. Croissance bactérienne	699
2.8.2. Consommation de neutralisant	700
2.8.3. Conductivité électrique	701
2.8.4. Calorimétrie	702
2.9. Récolte et concentration	703
2.9.1. Instant d'arrêt de la fermentation	703
2.9.2. Refroidissement et récolte des cellules	704
2.9.3. Concentration et lavage éventuel des cellules	704
3. Stabilisation des ferments lactiques concentrés	706
3.1. Principaux mécanismes physiques et biologiques intervenant lors de la congélation et de la lyophilisation	706
3.1.1. Mécanismes physiques intervenant lors de la congélation	707
3.1.2. Mécanismes physiques intervenant lors de la sublimation	709
3.1.3. Mécanismes physiques lors de la désorption	710
3.1.4. Dommages cellulaires provoqués par la congélation	711
3.1.5. Dommages cellulaires provoqués par la lyophilisation	713
3.2. Cryoprotection et lyoprotection des ferments	714
3.2.1. Molécules protectrices	715
3.2.2. Mécanismes d'action des cryoprotecteurs et des lyoprotecteurs	716
3.2.3. Propriétés physiques des mélanges protecteurs	719
3.2.4. Molécules protectrices utilisées chez les bactéries lactiques	722
3.3. Techniques de congélation	725
3.3.1. Influence de la vitesse de congélation	726
3.3.2. Stabilité au stockage	726
3.3.3. Influence des conditions de décongélation	727
3.3.4. Méthodes employées pour la congélation des bactéries lactiques	728
3.4. Lyophilisation	728
3.4.1. Techniques de lyophilisation	729

3.4.2.	Influence de la cinétique de congélation	730
3.4.3.	Dessiccations primaire et secondaire : facteurs de maîtrise du temps de séjour et de la qualité	731
3.4.4.	Stabilité au stockage	731
3.4.5.	Réhydratation	733
3.5.	Techniques alternatives de stabilisation	733
3.5.1.	Mécanismes de dénaturation des micro-organismes lors du séchage	734
3.5.2.	Technologies de déshydratation	735
3.5.3.	Séchage des bactéries lactiques	736
3.5.4.	Microencapsulation des bactéries lactiques	737
3.6.	Effet des facteurs opératoires sur l'aptitude à la stabilisation	738
3.6.1.	Effet de l'espèce bactérienne	738
3.6.2.	Effet du milieu de culture	739
3.6.3.	Effet du mode de conduite de la culture	741
3.6.4.	Effet de la température de culture	741
3.6.5.	Effet du pH de culture	741
3.6.6.	Effet de l'aération	742
3.6.7.	Effet d'une déprivation nutritionnelle	743
3.6.8.	Effet de l'instant d'arrêt de la croissance	743
3.6.9.	Effet des conditions de refroidissement	744
3.6.10.	Effet de la concentration des cellules	744
3.6.11.	Effet de la densité cellulaire	745
3.6.12.	Synthèse des informations	745
3.7.	Adaptation des cellules préalablement à la stabilisation	745
3.7.1.	Adaptation thermique	746
3.7.2.	Adaptation acide	746
3.7.3.	Adaptation nutritionnelle	747
3.7.4.	Adaptation osmotique	747
3.7.5.	Adaptation oxydative	747
3.7.6.	Synthèse des informations	747
3.8.	Conditionnement, stockage, étiquetage et utilisation	747
3.8.1.	Conditionnement des ferments concentrés	748
3.8.2.	Étiquetage	749
3.8.3.	Utilisation des ferments commerciaux	750
4.	Évaluation de la qualité des ferments	751
4.1.	Contrôle de la qualité microbiologique	751
4.2.	Microscopie directe	751
4.3.	Détermination de la viabilité cellulaire	752
4.3.1.	Dénombrements sur milieux sélectifs	752
4.3.2.	Dosage de l'ATP intracellulaire	754
4.3.3.	Mesure de viabilité par fluorescence	754
4.3.4.	Impédancemétrie	755
4.3.5.	Turbidimétrie	756
4.4.	Mesure de l'activité acidifiante	756
4.4.1.	Acidité titrable et pH-métrie	756
4.4.2.	Activité acidifiante CINAC	757
4.4.3.	Métabolisme des sucres	761
4.4.4.	Conductimétrie	761
4.4.5.	Mesure optique du pH	762

4.5. Autres activités	762
4.5.1. Activité aromatisante	762
4.5.2. Activité texturante	763
4.5.3. Activité gazogène	763
4.5.4. Activité oxydoréductrice	764
4.6. Stratégies de résistance aux phages des ferments commerciaux	764
5. Développements futurs	765
Références bibliographiques	766

Chapitre 7

Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères

(Jean-François Chamba)	787
1. Introduction	787
2. Les différentes bactéries lactiques utilisées en fromagerie	788
3. Rôles et propriétés attendues des bactéries lactiques	790
3.1. Acidification et égouttage	790
3.2. Fermentation des citrates	792
3.3. Production d'exopolysaccharides	792
3.4. Protéolyse	793
3.5. Lipolyse	796
3.6. Interactions : activation et inhibition	797
4. Nature et choix des bactéries lactiques selon les technologies fromagères	799
4.1. Fromages frais et autres fromages à caractère lactique	799
4.2. Fromages à pâte molle	799
4.3. Les fromages à pâte persillée ou bleus	800
4.4. Fromages à pâte pressée non cuite	801
4.5. Fromages à pâte pressée cuite	803
4.6. Fromages à pâte filée et fromages à pizza	804
5. Modalités de préparation et de mise en œuvre des ferments lactiques	805
5.1. La propagation des ferments	805
5.2. Les milieux pour la culture des ferments lactiques	807
5.2.1. Le lait	807
5.2.2. Milieux antibactériophages et/ou à haut pouvoir tampon	808
5.3. La maîtrise du risque d'infection phagique	809
5.3.1. La prévention de l'infection phagique lors de la préparation des ferments	809
5.3.2. Choix des cultures	810
5.4. L'ensemencement du lait de fromagerie	811
5.4.1. Les modalités d'ensemencement	812
5.4.2. La dose de ferment lactique	812
6. Conclusions et perspectives	813
Références bibliographiques	815
Index	823