



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**UNIVERSITÉ KASDI MERBAH – OUARGLA**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département : Sciences Biologiques**

**Mémoire de Fin d'Études**  
**Master Académique**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Microbiologie appliquée**

**Présenté par :**

Mlle KHEZZANE Maroua

Mlle HAFIANE Raouia

**Thème :**

**ÉSSAI DE FERMENTATION DU LAIT VÉGÉTAL PAR DES**  
**BACTÉRIES LACTIQUES**

Soutenu publiquement le : 17/06/2026

**Devant le jury :**

| Qualité    | Nom et Prénom    | Grade      | Établissement |
|------------|------------------|------------|---------------|
| Présidente | BOUDJENAH.Saliha | Professeur | UKM Ouargla   |
| Examineur  | MOSBAH.Said      | Professeur | UKM Ouargla   |
| Encadrante | SOUID.Wafa       | MCB        | UKM Ouargla   |

**Année Universitaire : 2025/2026**



## **Remerciements**

*Nous rendons tout d'abord grâce à Allah Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail et surmonter les différentes difficultés rencontrées tout au long de notre parcours universitaire.*

*Nous adressons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre encadreuse, Madame **Souid Wafa**, pour son soutien constant, ses précieux conseils, ses orientations pertinentes ainsi que sa patience tout au long de la réalisation de ce travail. Son accompagnement a joué un rôle essentiel dans l'élaboration et l'aboutissement de cette étude.*

*Nous lui souhaitons plein succès dans sa carrière professionnelle ainsi que beaucoup d'épanouissement personnel.*

*Nous adressons nos respectueux remerciements à Monsieur **MOSBAH Said**, examinateur de ce mémoire, ainsi qu'à Madame **BOUDJNEH Salha**, présidente du jury, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'attention qu'ils ont bien voulu lui porter.*

*Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour leur disponibilité et leur précieuse collaboration, qui ont largement facilité la réalisation de la partie expérimentale de ce travail.*

*Nous exprimons également notre gratitude à l'ensemble du corps enseignant ainsi qu'au personnel administratif de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, dont le sérieux, le professionnalisme et le dévouement ont contribué de manière significative à notre formation académique et scientifique.*

*Enfin, nous adressons une pensée toute particulière à nos familles, à nos amis et à toutes les personnes qui nous ont accompagnées avec bienveillance, patience et soutien moral tout au long de ce parcours.*

*À toutes celles et à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce mémoire, nous exprimons notre profonde reconnaissance et notre plus haute considération.*

## *Dédicace*

### *À Allah Tout-Puissant,*

*Je dédie avant tout ce travail à Allah, qui m'a accordé la santé, la volonté et la patience nécessaires pour accomplir ce modeste mémoire et poursuivre ce long chemin universitaire.*

### *À mes très chers parents,*

*Aucun mot ne saurait exprimer toute la reconnaissance, l'amour et le respect que je vous porte. Vous avez toujours été ma force dans les moments de faiblesse, mon soutien dans les périodes difficiles et la lumière qui guide chacun de mes pas.*

### *À mon cher père :*

*Merci pour tous les sacrifices que tu as accomplis afin de me voir réussir. Merci pour ta confiance, ta patience et les valeurs de courage et de persévérance que tu m'as transmises. Ta fierté a toujours été ma plus grande motivation.*

### *À ma tendre mère :*

*Merci pour ton amour infini, tes prières silencieuses, ta tendresse et ton soutien inconditionnel. Tu as toujours su me relever dans les moments les plus difficiles. Que Dieu te protège et te garde près de moi.*

### *À ma sœur unique,*

*pour sa présence précieuse, son affection et son soutien constant qui ont illuminé mon parcours.*

### *À mes frères,*

*pour leurs encouragements, leur présence et tous les moments de réconfort partagés.*

### *À toute ma famille,*

*pour leur bienveillance, leurs prières et leur soutien tout au long de mes études.*

### *À mes enseignants,*

*Depuis ma toute première année d'école jusqu'à ce jour. Je vous remercie de m'avoir transmis votre savoir avec passion et de m'avoir guidé sur le chemin de la connaissance et de la réussite.*

### *À toute la promotion de Microbiologie master II (2025/2026),*

*Je vous remercie pour ces années riches en entraide, en partage, en rires et en efforts. Ces précieux souvenirs communs resteront inoubliables.*

**Maroua**

## *Dédicace*

### *À Allah Tout-Puissant*

*Tout d'abord, avant toute chose, je remercie Allah Tout-Puissant, une gratitude infinie et une louange digne de Sa majesté. C'est grâce à Sa volonté et à Son soutien que j'ai pu atteindre cette étape que je rêvais d'accomplir depuis de nombreuses années. Louange à Allah qui m'a facilité le chemin et m'a permis de surmonter les difficultés tout au long de ce long parcours d'études et de travail. Ô Allah, à Toi reviennent toute la louange et toute la gratitude, comme il convient à la grandeur de Ton visage et à l'immensité de Ton pouvoir.*

### *À mes chers parents*

*À mes chers parents, je vous remercie pour votre patience, votre soutien et vos sacrifices immenses pour moi, ainsi que pour tous les efforts que vous avez fournis afin que je puisse atteindre ce que je suis aujourd'hui. Aucun mot ne pourra jamais exprimer toute ma gratitude envers vous, et je ne pourrai jamais vous rendre ce que vous m'avez donné. Je vous demande pardon pour toute erreur ou insuffisance envers vous. Qu'Allah vous récompense par la meilleure des récompenses, vous accorde santé, bonheur et longévité, vous protège de tout mal, et vous ouvre les portes du Paradis éternel.*

### *À mes frères et sœurs*

*À mes chers frères et sœurs, merci pour votre amour sincère, votre encouragement constant et votre soutien à chaque étape de ma vie. Qu'Allah vous protège, vous guide et vous accorde réussite, bonheur et réussite dans votre parcours.*

### *À mes enseignants*

*À tous mes enseignants, depuis la première année jusqu'à la dernière année d'études, je vous adresse mes sincères remerciements pour tous vos efforts, votre enseignement, vos conseils et votre accompagnement, qui ont grandement contribué à l'acquisition de mes connaissances et à ma réussite. Qu'Allah vous récompense et bénisse votre savoir et vos actions.*

### *À moi-même*

*À moi-même, je te remercie pour ta force, ta patience et ta persévérance durant toutes ces années. Merci de t'être accrochée à l'espoir et à la prière malgré les difficultés et la fatigue, et d'avoir continué ton chemin sans abandonner. Aujourd'hui, tu atteins enfin ce dont tu rêvais. Chaque larme versée n'a pas été vaine, mais une motivation pour avancer et réussir. Louange à Allah pour ce succès et pour tout ce que tu as accompli.*

### *À mes amies – Promotion 2025/2026*

*À mes chères amies de la promotion 2025/2026, je vous adresse tout mon amour, ma gratitude et mon respect. Ce fut un beau parcours rempli d'amour, d'aventures et de souvenirs inoubliables que je n'oublierai jamais. Qu'Allah vous protège, vous accompagne et vous accorde réussite, bonheur et accomplissement dans votre vie.*

*Raouia*

## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Résumé

Abstract

ملخص

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction.....                                                       | 1  |
| Chapitre 1. Aperçu général sur le lait végétal .....                    | 3  |
| 1.1. Définition .....                                                   | 3  |
| 1.2. Types des laits végétaux.....                                      | 3  |
| 1.3.Caractéristiques des laits végétaux.....                            | 4  |
| 1.4. Étapes de production du lait végétal .....                         | 5  |
| 1.4.1. Torréfaction : .....                                             | 6  |
| 1.4.2. Trempage dans l'eau : .....                                      | 6  |
| 1.4.3. Broyage de la matière végétale (sec et humide) : .....           | 7  |
| 1.4.4. Filtration :.....                                                | 7  |
| 1.4.5. Traitement thermique : .....                                     | 8  |
| 1.4.6. Homogénéisation :.....                                           | 8  |
| 1.4.7. Conditionnement, emballage et durée de conservation :.....       | 8  |
| 1.5. Consommation mondiale des laits végétaux .....                     | 10 |
| Chapitre 2. Les bactéries lactiques .....                               | 11 |
| 2.1. Généralité sur les bactéries lactiques .....                       | 11 |
| 2.2. Définition des bactéries lactiques.....                            | 11 |
| 2.3. Classification des bactéries lactiques.....                        | 11 |
| 2.4. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques..... | 12 |
| 2.5. Métabolisme des bactéries lactiques.....                           | 16 |
| 2.5.1. Métabolisme des glucides .....                                   | 16 |
| 2.5.2. Protéolyse.....                                                  | 17 |
| 2.5.3. Lipolyse .....                                                   | 18 |
| 2.5.4. Métabolisme du citrate .....                                     | 18 |
| 2.6. Intérêts des bactéries lactiques .....                             | 18 |
| 2.6.1. Dans l'industrie alimentaire.....                                | 18 |
| 2.6.2. Dans le domaine thérapeutique .....                              | 19 |

|                                                                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Chapitre 3. Matériel et méthodes .....</b>                                                                                               | <b>20</b> |
| <b>3.1. Lieu d'étude :.....</b>                                                                                                             | <b>20</b> |
| <b>3.2. Matériels : .....</b>                                                                                                               | <b>20</b> |
| <b>3.3. Méthodologie .....</b>                                                                                                              | <b>21</b> |
| <b>3.3.1. Réactivation des souches bactériennes .....</b>                                                                                   | <b>21</b> |
| <b>3.3.2. Vérification de la pureté des souches bactériennes :.....</b>                                                                     | <b>22</b> |
| <b>3.3.3. Préparation du lait végétal à base de riz : .....</b>                                                                             | <b>22</b> |
| <b>3.3.4. Préparation des pré-cultures lactiques : .....</b>                                                                                | <b>24</b> |
| <b>3.3.5. Mise en fermentation de lait de riz : .....</b>                                                                                   | <b>24</b> |
| <b>3.3.6. Suivi de la cinétique de la fermentation : .....</b>                                                                              | <b>25</b> |
| <b>3.3.7. Dénombrement des bactéries lactiques : .....</b>                                                                                  | <b>26</b> |
| <b>3.3.8. Essai de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz :.....</b>                                  | <b>27</b> |
| <b>3.3.9. Analyses sensorielles .....</b>                                                                                                   | <b>30</b> |
| <b>Chapitre 4. Résultats et Discussion .....</b>                                                                                            | <b>31</b> |
| <b>4.1. Vérification de pureté des souches bactériennes .....</b>                                                                           | <b>31</b> |
| <b>4.2. La préparation du lait de riz.....</b>                                                                                              | <b>31</b> |
| <b>4.3. Aspect de la fermentation de lait de riz.....</b>                                                                                   | <b>32</b> |
| <b>4.4. Suivi de la cinétique de la fermentation de lait de riz fortifié et non fortifié :.....</b>                                         | <b>33</b> |
| <b>4.4.1. Suivi du pH : .....</b>                                                                                                           | <b>34</b> |
| <b>4.4.2. Suivi de l'acidité.....</b>                                                                                                       | <b>35</b> |
| <b>4.5. Comparaison des valeurs de pH et de l'acidité entre le lait bovin et le lait de riz fermentés.....</b>                              | <b>37</b> |
| <b>4.6. Dénombrement des bactéries lactiques .....</b>                                                                                      | <b>38</b> |
| <b>4.7. Essai de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz et de ferment lactique sélectionné :.....</b> | <b>41</b> |
| <b>4.8. Résultats de l'analyse sensorielle .....</b>                                                                                        | <b>43</b> |
| <b>4.8.1. Analyses sensorielles de différents laits fermentés .....</b>                                                                     | <b>43</b> |
| <b>4.8.2. Analyses sensorielles du type fromage du riz (cheese-like) .....</b>                                                              | <b>46</b> |
| <b>Conclusion .....</b>                                                                                                                     | <b>48</b> |
| <b>Références .....</b>                                                                                                                     | <b>50</b> |
| <b>Annexes .....</b>                                                                                                                        | <b>59</b> |

## Liste des abréviations

**LAB** : Bactéries lactiques

**UHT** : traitement thermique ultra-haut

**GRAS** : Generally Recognized as Safe

**QPS** : Qualified Presumption of Safety

**LRNF** : Lait de riz non fortifiée

**LRF** : Lait de riz fortifiée

**LA** : Lait animal

**ADH** : Arginine Dihydrolase

**ADP** : Adénosine diphosphate

**ATP** : Adénosine triphosphate

**FBA** : fructose-1,6-bisphosphate aldolase

**PTS** : Phosphotransferase System

**°D** : degrés Dornic

**UFC** : Unité formant colonie

**MRS** : Man Rogosa Sharpe

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**Pi** : Phosphate inorganique

**EPS** : exopolysaccharides

**NaCl** : Chlorure de sodium

**pH** : Potentiel Hydrogène

**v/v** : Volume/volume

**GC** : Guanine-Cytosine

**AAI** : Average Amino Acid Identity

**DO<sub>600</sub>** : Densité Optique à 600 nm

**SEM** : Scanning Electron Microscopy

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Composants fonctionnels des substituts végétaux de lait et leurs bienfaits sur la santé (Sethi et al., 2016). ..... | 5  |
| Tableau 3 : résultats des tests de pré-identification des souches lactiques (BENBRAHIM,2025). .....                             | 21 |

## Listes des figures

|                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1: processus général de fabrication des laits végétaux à partir de matières premières (Gil-Serna et al., 2020). .....                                                                  | 9  |
| Figure 2 : Observation de la morphologie utilisant le 2'-FL par microscopie électronique à balayage (SEM) d'une souche appartenant à <i>Bifidobacterium bifidum</i> . (Zhang et al., 2023) .. | 13 |
| Figure 3 : Microscopie électronique à balayage de <i>Streptococcus thermophilus</i> LMD-9 (Crédit photo : Robert Hutkins, Université du Nebraska ; Source : JGI Genome Portal). .....         | 14 |
| Figure 4: <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> sous forme de cellules ovoïdes par paires (photo du haut) et en chaînes (photo du bas) selon la souche (Teuber et Geis, 2006). ..... | 15 |
| Figure 5 : Représentation schématique des deux voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques (d'après José Aníbal Mora-Villalobos et al. ,2020).....                         | 17 |
| Figure 6: Schéma résumé le protocole expérimental de préparation du lait de riz. ....                                                                                                         | 24 |
| Figure 7 : étapes de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) a base de lait de riz                                                                                             | 29 |
| Figure 8 : Aspect macroscopique des colonies bactériennes des souches OP, I, k respectivement après purification sur milieu MRS solide. ....                                                  | 31 |
| Figure 9 : Aspect de différents types de laits de riz en comparaison avec le lait animal.....                                                                                                 | 32 |
| Figure 10 : Aspect de différents types de laits fermentés de riz .....                                                                                                                        | 33 |
| Figure 11 : Évolution du pH du LRF inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.                                                                                                   | 34 |
| Figure 12 : Évolution du pH du lait de riz non fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.....                                                                          | 35 |
| Figure 13 : Évolution de l'acidité (°D) du lait de riz fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps. ....                                                                 | 36 |
| Figure 14 : Évolution de l'acidité (°D) du lait de riz non fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps. ....                                                             | 36 |
| Figure 15 : Évolution du pH du lait animal inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps. ....                                                                                      | 37 |
| Figure 16 : Évolution de l'acidité (°D) du lait animal inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.....                                                                           | 38 |
| Figure 17 : Évolution du dénombrement des bactéries lactiques (log10 CFU/ml) dans le lait LRF inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps. ....                         | 39 |

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 18 : Évolution du dénombrement des bactéries lactiques ( $\log_{10}$ CFU/mL) dans le lait LRNF inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps. .... | 40 |
| Figure 19 : Évolution du dénombrement des bactéries lactiques ( $\log_{10}$ CFU/mL) dans le lait LA inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps. ....   | 41 |
| Figure 20 : Le type fromage (cheese-like) préparée à base de lait de riz .....                                                                                                | 42 |
| Figure 21 : Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LRF fermenté par différentes souches bactériennes .....                                               | 43 |
| Figure 22 : Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LRNF fermenté par différentes souches bactériennes .....                                              | 43 |
| Figure 23 : Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LA fermenté par différentes souches bactériennes. ....                                                | 44 |
| Figure 24 : Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels des fromages (cheese-like) expérimentaux. ....                                                           | 46 |

## Résumé

Cette étude met en évidence le potentiel des bactéries lactiques dans la fermentation du lait de riz et leur intérêt dans le développement d'alternatives végétales fermentées aux produits laitiers.

Le lait de riz a été préparé puis divisé en deux formulations : un lait de riz fortifié (LRF) à l'extrait de levure et un lait de riz non fortifié (LRNF). Les souches lactiques utilisées pour la fermentation du lait de riz, sont préalablement isolées à partir des végétaux

Les trois souches lactiques revivifiées ont été inoculées séparément dans trois types de lait : lait de riz fortifié, lait de riz non fortifié et lait d'origine animale utilisé comme référence. Le suivi de la fermentation a été réalisé par la mesure du pH et de l'acidité titrable à intervalles réguliers jusqu'à 18 heures d'incubation. Les résultats ont révélé des différences entre les souches en termes de vitesse d'acidification et de capacité fermentaire, permettant d'identifier la souche K comme la plus performante identifiée comme *Lactococcus sp.*, Au cours de la fermentation, elle a permis d'atteindre un pH optimal de **4,27** dans le lait de riz non fortifié (LRNF), tout en maintenant une excellente viabilité microbiologique stable **6.64** (log10 UFC/mL) durant les 20 jours de stockage réfrigéré à 4 °C.

Par ailleurs, un essai de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz a été réalisé à l'aide d'un levain préparé à partir de la souche K genre *Lactococcus sp.* Cette production a conduit à l'obtention d'un caillé végétal après 72 heures d'incubation à 37 °C, caractérisé par une texture crémeuse et une apparence blanche homogène proche d'un fromage frais traditionnel. Une analyse sensorielle a également été réalisée sur les différents laits fermentés ainsi que sur le produit de type fromage élaboré. Les résultats ont révélé une acceptabilité globale satisfaisante des produits obtenus.

**Mots-clés :** Bactéries lactiques, lait de riz, lait d'origine végétale, fermentation, produit de type fromage.

## Abstract

This study highlights the potential of lactic acid bacteria in the fermentation of rice milk and their value in the development of fermented plant-based alternatives to dairy products.

Rice milk was prepared and then divided into two formulations: fortified rice milk (LRF) with yeast extract and unfortified rice milk (LRNF). The lactic acid strains used for rice milk fermentation were previously isolated from plants

The three revived lactic acid strains were inoculated separately into three types of milk: fortified rice milk, non-fortified rice milk, and animal milk used as a reference. Fermentation was monitored by measuring pH and titratable acidity at regular intervals up to 18 hours of incubation. The results revealed differences between the strains in terms of acidification rate and fermentative capacity, allowing strain K identified as *Lactococcus* sp. to be identified as the most effective. During fermentation, it achieved an optimal pH of **4.27** in non-fortified rice milk (LRNF), while maintaining excellent stable microbiological viability  $6.64$  ( $\log_{10}$  UFC/mL) during 20 days of refrigerated storage at 4 °C.

In addition, a trial was conducted to produce a cheese-like product made from rice milk using a starter culture prepared from strain K of the genus *Lactococcus* sp. This process resulted in a plant-based cheese curd after 72 hours of incubation at 37°C, characterized by a creamy texture and a homogeneous white appearance similar to that of traditional fresh cheese. A sensory analysis was also conducted on the various fermented milks as well as on the cheese-like product produced. The results revealed satisfactory overall acceptability of the products obtained.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, rice milk, plant-based milk, fermentation, cheese-like product.

## ملخص

تُبين هذه الدراسة قدرة البكتيريا اللبنية على تخمير حليب الأرز، وأهميتها في تطوير بدائل نباتية مخمرة لمنتجات الألبان.

تم تحضير حليب الأرز ثم تقسيمه إلى تركيبتين: حليب أرز مُدعّم بمستخلص الخميرة (LRF) ، وحليب أرز غير مُدعّم (LRNF). واستُخدمت في عملية التخمير سلالات من البكتيريا اللبنية سبق عزلها من مصادر نباتية.

بعد إعادة تنشيط السلالات الثلاث، استُخدمت كل سلالة على حدة لتخمير ثلاثة أنواع من الحليب: حليب الأرز المُدعّم، وحليب الأرز غير المُدعّم، وحليب من أصل حيواني استُخدم كمرجع للمقارنة. وتمت متابعة عملية التخمير بقياس كل من الرقم الهيدروجيني (pH) والحموضة المعاييرة على فترات منتظمة حتى 18 ساعة من الحضانة.

أظهرت النتائج وجود اختلافات بين السلالات من حيث سرعة التخمض والقدرة التخمرية، مما مكن من تحديد السلالة K باعتبارها الأكثر كفاءة، والتي تم التعرف عليها على أنها تنتمي إلى جنس *Lactococcus sp.* وخلال عملية التخمير، حققت هذه السلالة رقمًا هيدروجينيًا أمثل بلغ 4.27 في حليب الأرز غير المُدعّم (LRNF) ، مع الحفاظ على حيوية ميكروبية ممتازة ومستقرة بلغت 6.64 ( $\log_{10}$  UFC/mL) طوال 20 يومًا من التخزين المبرد عند 4 درجات مئوية.

ومن جهة أخرى، أُجريت تجربة لتحضير منتج شبيه بالجبن (Cheese-like) اعتمادًا على حليب الأرز، باستخدام بادئ تخمير مُحضّر من السلالة K التابعة لجنس *Lactococcus sp.* ونتج عن هذه التجربة الحصول على كتلة متخثرة نباتية بعد 72 ساعة من الحضانة عند 37 درجات مئوية ، تميزت بقوام كريمي ومظهر أبيض متجانس يشبه الجبن الطازج التقليدي. كما أُجري تقييم حسي لمختلف أنواع الحليب المخمر، بالإضافة إلى المنتج الشبيه بالجبن، وأظهرت النتائج قبولًا حسيًا عامًا مُرضيًا للمنتجات المتحصل عليها.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا اللبنية، حليب الأرز، الحليب النباتي، التخمير، منتج شبيه بالجبن.

A decorative border in a light blue color, shaped like a scroll. It starts with a small loop at the top right, goes down, then left, then down again, ending in a larger loop at the bottom left.

# ***Introduction***

## **Introduction**

Le lait et ses dérivés occupent une place importante dans l'alimentation humaine grâce à leur richesse en nutriments essentiels tels que les protéines, les vitamines et les minéraux. Ils peuvent également contenir des composés bioactifs, des probiotiques et des cellules immunitaires contribuant à des effets bénéfiques sur la santé. Toutefois, l'augmentation des cas d'intolérance au lactose, des allergies aux protéines du lait ainsi que l'adoption croissante des régimes végétariens et végétaliens ont favorisé le développement des laits végétaux comme alternatives au lait animal. Parmi ces alternatives, le lait de riz se distingue par sa digestibilité et son absence de lactose et de caséine. Cependant, sa faible teneur en protéines et sa texture fluide représentent certaines limites. Afin d'améliorer ses propriétés nutritionnelles et sensorielles, la fermentation par les bactéries lactiques constitue une approche prometteuse (**Zandona et al., 2020**).

Les bactéries lactiques jouent un rôle fondamental dans la production des aliments et boissons fermentés, en agissant comme agents naturels de conservation, d'amélioration des arômes et d'enrichissement de la valeur nutritionnelle. Cela est dû à leur système enzymatique spécifique, capable de produire des enzymes extracellulaires telles que les protéases et les lipases, qui hydrolysent les macromolécules en composés plus simples. Au cours de la fermentation, ces bactéries transforment les constituants alimentaires en précurseurs d'arômes pouvant évoluer en composés volatils complexes. Elles contribuent également à l'amélioration de la texture de nombreux produits fermentés, tels que le yaourt, le fromage, le pain au levain et les légumes fermentés, grâce à leurs activités métaboliques, notamment la fermentation, la production d'exopolysaccharides et les réactions enzymatiques, ce qui améliore la qualité globale du produit final (**Anumudu et al., 2024**).

L'importance des bactéries lactiques s'est également accrue dans le domaine des alternatives végétales aux produits laitiers, où elles sont utilisées pour fermenter ces matrices afin d'améliorer leurs propriétés sensorielles et nutritionnelles. Elles permettent notamment de réduire les arômes végétaux indésirables, d'améliorer la texture et de la rapprocher de celle des produits laitiers traditionnels. Par ailleurs, la fermentation contribue à augmenter la valeur nutritionnelle en améliorant la biodisponibilité des minéraux et en réduisant les facteurs antinutritionnels. Les bactéries lactiques participent aussi à la dégradation des composés complexes en molécules plus facilement assimilables et à la production de métabolites tels que les acides organiques, les

composés phénoliques et les substances volatiles. Ces transformations confèrent aux produits végétaux des propriétés fonctionnelles intéressantes. De plus, la production d'acides organiques permet de stabiliser les composés bioactifs, comme les vitamines et les polyphénols, tout en améliorant la durée de conservation et la sécurité microbiologique des produits en inhibant la croissance des microorganismes indésirables (Yang et al., 2024).

Cette étude vise à étudier la possibilité de fermenter le lait de riz à l'aide de trois souches différentes de bactéries lactiques, ainsi qu'à tester la possibilité d'utiliser les bactéries lactiques comme levains dans la production d'un produit végétal fermenté de type fromage frais (cheese-like). Le manuscrit est divisé en quatre parties principales : la première présente une vue générale sur les laits végétaux, leurs types et leurs caractéristiques. La deuxième est consacrée aux bactéries lactiques, notamment leur définition, leurs classifications, leurs propriétés ainsi que leurs activités métaboliques. La troisième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés pour la fermentation du lait de riz, ainsi que l'évaluation de l'utilisation de ces bactéries comme levains dans la production d'un fromage d'origine végétale. Enfin, la dernière partie est dédiée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.



***Synthèse  
bibliographique***

## **Chapitre 1. Aperçu général sur le lait végétal**

### **1.1. Définition**

Le lait végétal est une boisson obtenue par réduction de la taille des particules de matières végétales tels que céréales, pseudo-céréales, légumineuses, oléagineux, noix, suivie d'une homogénéisation afin d'imiter l'apparence et la consistance du lait d'origine animale. Contrairement au lait d'origine animale, il ne contient pas de lactose, de cholestérol et faibles en calories, ce qui les rend adaptés aux personnes présentant ces contraintes alimentaires **(Sethi et al., 2016)**. Les laits végétaux offrent des bénéfices nutritionnels importants. Les personnes allergiques au lait de vache, intolérantes au lactose ou souffrant d'hypercholestérolémie privilégient ces boissons. Malgré leur teneur en sucres ajoutés et leur faible teneur en protéines totales, les composés phénoliques, les acides gras insaturés, l'activité antioxydante et les composés bioactifs tels que les phytostérols et les isoflavones font des substituts de lait végétal une excellente option **(Aydar et al., 2020)**.

Un débat persiste quant à la classification et à la dénomination des boissons végétales similaires au lait. En effet, certaines réglementations et études scientifiques soulignent l'absence de normes uniformes concernant l'utilisation du terme « lait » pour ces produits d'origine végétale. Par définition, le lait est un liquide biologique sécrété par les glandes mammaires des mammifères (vaches, brebis, chèvres), riche en protéines et contenant du lactose ainsi que des lipides d'origine animale. En revanche, les boissons végétales, bien qu'elles imitent l'apparence et certaines propriétés fonctionnelles du lait animal, ne répondent pas strictement à cette définition. Cette situation peut engendrer une confusion chez les consommateurs et soulève la question de savoir si ces produits doivent être considérés comme du lait ou comme de simples boissons alternatives **(Zeltzer et al., 2022)**.

### **1.2. Types des laits végétaux**

Les laits végétaux peuvent être classés en plusieurs catégories :

- À base de céréales : lait d'avoine, lait de riz, lait de maïs, lait d'épeautre.
- À base de légumineuses : lait de soja, lait d'arachide, lait de lupin, lait de niébé.

- À base de noix : lait d'amande, lait de coco, lait de noisette, lait de pistache, lait de noix.
- À base de graines : lait de sésame, lait de lin, lait de chanvre, lait de tournesol.
- À base de pseudo-céréales : lait de quinoa, lait de teff, lait d'amarante. **(Sethi et al., 2016).**

### **1.3. Caractéristiques des laits végétaux**

Les laits végétaux présentent plusieurs avantages nutritionnels et sanitaires. Ils sont naturellement dépourvus de lactose et de cholestérol, ce qui les rend particulièrement adaptés aux personnes souffrant d'intolérance au lactose ou présentant des risques de maladies cardiovasculaires. De plus, ces boissons se caractérisent généralement par une teneur calorique plus faible que celle du lait d'origine animale. Par ailleurs, de nombreux laits végétaux sont enrichis en nutriments essentiels tels que les fibres alimentaires, les vitamines, les minéraux, le calcium et les antioxydants. Ils contiennent également des composés bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les phytostérols. Ces composés sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et hypolipémiantes, contribuant ainsi à la prévention de certaines pathologies telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires et certains cancers, tout en renforçant le système immunitaire. Ainsi, les laits végétaux peuvent être considérés comme des boissons fonctionnelles offrant une valeur nutritionnelle intéressante et constituant une alternative saine au lait de vache dans le cadre d'un régime alimentaire équilibré. **(Sethi et al., 2016 ; Xie et al., 2023)**

De nombreuses études montrent que la production laitière est fortement consommatrice de ressources naturelles, notamment en eau douce et en terres agricoles, et qu'elle contribue de manière significative aux émissions mondiales de gaz à effet de serre. En revanche, la production des boissons végétales nécessite généralement moins de ressources, avec une réduction notable de la consommation d'eau, de l'utilisation des terres et de la demande énergétique, tout en générant des émissions de gaz à effet de serre plus faibles par rapport au lait de vache. Cette diminution de l'empreinte environnementale peut contribuer à l'atténuation du changement climatique et à la préservation des ressources naturelles, faisant ainsi des laits végétaux une alternative plus respectueuse de l'environnement. **(Xie et al., 2023 ; Ramsing et al., 2023).**

**Tableau 1 :** Composants fonctionnels des substituts végétaux de lait et leurs bienfaits sur la santé (Sethi et al., 2016).

| Type de lait           | Composant bioactive                                         | Avantages sanitaires ou nutritionnels                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Lait de Soja</b>    | Isoflavones                                                 | Effet protecteur contre le cancer, les maladies cardiovasculaires et l'ostéoporose                                                                                                                                                                                |
|                        | Phytostérols                                                | Propriétés anti cholestérol                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Lait d'arachide</b> | Des composants phénoliques                                  | Rôle protecteur contre les dommages oxydatifs et les maladies telles que les maladies coronariennes, les accidents vasculaires cérébraux et divers cancers                                                                                                        |
| <b>Lait de riz</b>     | Phytostérols en particulier $\beta$ -sitostérol et oryzanol | Réduit le cholestérol, l'hypertension, des effets antidiabétiques, anti-inflammatoires, anti-oxydants                                                                                                                                                             |
| <b>Lait d'avoine</b>   | B-glucane                                                   | Augmente la viscosité de la solution et peut retarder le temps de vidange gastrique, augmente le temps de transit gastro intestinal qui sont associés à leur taux du glucose sanguin réduit, effet hypocholestérolémiant en réduisant le cholestérol total et LDL |
| <b>Lait de sésame</b>  | Les lignanes comme la sésamine, sésamoline et le sésaminol  | Propriétés neutralisantes tel qu'antioxydant, activités hypocholestérolémiantes, anti cancérogènes, antitumorales et antivirales                                                                                                                                  |
| <b>Lait d'amande</b>   | Alpha-tocophérol                                            | Puissant antioxydant qui joue un rôle essentiel dans la protection contre les réactions radicalaires.                                                                                                                                                             |
|                        | Arabinose                                                   | Propriété prébiotique                                                                                                                                                                                                                                             |

## 1.4. Étapes de production du lait végétal

La fabrication des laits végétaux repose sur un ensemble d'étapes technologiques visant à transformer les matières premières d'origine végétale en une boisson stable, homogène et sûre sur le plan microbiologique. Ces étapes, qui peuvent varier selon la nature de la matière première, suivent généralement un schéma commun permettant d'assurer la qualité nutritionnelle et sensorielle du produit final (**figure 01**).

**1.4.1. Torréfaction :** La torréfaction constitue une étape optionnelle dans la production des laits végétaux, pouvant être appliquée selon la nature de la matière première et les objectifs technologiques, car elle contribue à l'amélioration des propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit final. Ce traitement thermique favorise le développement d'arômes agréables et peut augmenter l'activité antioxydante, tout en réduisant la teneur en composés antinutritionnels (Daryani et al., 2024). Par ailleurs, la torréfaction peut améliorer certaines propriétés fonctionnelles, notamment la solubilité des protéines et l'indice de stabilité de l'émulsion, ce qui est bénéfique pour la texture et l'homogénéité du lait végétal (**Zaaboul et al., 2019 ; Aydar et al., 2020**). Dans les procédés de production des laits végétaux, des traitements thermiques modérés tels que la pasteurisation peuvent également être appliqués selon les besoins de stabilisation du produit final. En revanche, une exposition excessive à des températures élevées ou à des durées prolongées peut entraîner la dénaturation de certaines protéines et la dégradation de composés sensibles, affectant négativement la texture, la stabilité et les caractéristiques sensorielles. Ainsi, un contrôle rigoureux des paramètres thermiques est essentiel pour optimiser la qualité du lait végétal tout en limitant les pertes nutritionnelles et les altérations indésirables (**Daryani et al., 2024 ; Aydar et al., 2020**).

**1.4.2. Trempage dans l'eau :** Le trempage dans l'eau constitue une étape préliminaire essentielle dans la production des laits végétaux. Cette opération est appliquée à diverses matières premières d'origine végétale, telles que le soja, le riz, l'amande, la noisette, l'arachide, le sésame ainsi que certaines céréales et légumineuses (**Aboufazli et al., 2016**). Le trempage permet d'hydrater et de ramollir la matrice végétale, facilitant ainsi les étapes ultérieures de broyage et d'extraction. Par ailleurs, cette étape contribue à la réduction des composés antinutritionnels, à l'amélioration des qualités organoleptiques et à une meilleure digestibilité du produit final. Dans certains procédés,

le trempage peut être suivi d'un traitement thermique afin d'optimiser l'extraction et d'assurer une meilleure qualité microbiologique du lait végétal. (Daryani et al., 2024 ; Aydar et al., 2020).

**1.4.3. Broyage de la matière végétale (sec et humide) :** Le broyage constitue une étape clé dans la production des laits végétaux, car il permet la libération des constituants nutritionnels de la matière première et facilite leur extraction. Deux principales techniques de broyage sont généralement décrites dans la littérature : le broyage à sec et le broyage humide (Aydar et al., 2020 ; Daryani et al., 2024). Le broyage à sec consiste à réduire la matière végétale en poudre fine sans ajout d'eau. Bien que cette méthode soit moins couramment utilisée dans la production des laits végétaux en raison de son efficacité limitée pour l'extraction des protéines et des lipides, elle peut représenter une alternative au broyage humide dans certains procédés spécifiques. À titre d'exemple, un substitut de lait d'amande breveté est obtenu par broyage à sec d'amandes préalablement torréfiées (Aydar et al., 2020). En revanche, le broyage humide est largement privilégié dans la fabrication des laits végétaux. Il consiste à broyer la matière végétale en présence d'eau afin de rompre la structure cellulaire et de former une suspension homogène. Cette technique permet une meilleure extraction des protéines, des lipides et d'autres nutriments essentiels, tout en favorisant l'obtention de particules plus fines. Par conséquent, le broyage humide améliore la stabilité, la texture et les propriétés sensorielles des alternatives végétales au lait, ce qui explique son utilisation fréquente dans les procédés de production à l'échelle industrielle (Daryani et al., 2024).

**1.4.4. Filtration :** La filtration constitue une étape essentielle dans la production des laits végétaux, permettant de séparer la fraction liquide (« phase laitière ») du résidu solide ou gâteau issu du broyage de la matière végétale. Cette opération vise à améliorer la texture, l'homogénéité et l'acceptabilité sensorielle du produit final, tout en éliminant les particules grossières susceptibles d'affecter la stabilité du lait végétal. Différents matériaux filtrants peuvent être utilisés selon le degré de finesse recherché, notamment la gaze à double épaisseur, la mousseline ( $\approx 25 \mu\text{m}$ ), ainsi que des filtres de porosité variable tels que des tamis de 150  $\mu\text{m}$ , des papiers filtres, des tamis de 180  $\mu\text{m}$ , des filtres à pores de 4  $\mu\text{m}$  ou encore des filtres de 100  $\mu\text{m}$  (Ahmadian-Kouchaksaraei et al., 2014). Le choix du matériau filtrant influence directement la granulométrie finale, la viscosité, la stabilité et les propriétés sensorielles du lait végétal. Une filtration fine permet d'obtenir un produit plus lisse et homogène, tandis qu'une filtration plus grossière peut

préserver une partie des fibres alimentaires, mais au détriment de la stabilité et de l'apparence du produit ' (Aydar et al., 2020).

**1.4.5. Traitement thermique :** Le traitement thermique joue un rôle essentiel dans la prolongation de la durée de conservation des laits végétaux et dans la sécurité microbiologique du produit. En effet, les alternatives végétales au lait peuvent contenir des micro-organismes indésirables ou pathogènes issus des matières premières ou des opérations de transformation. L'application de traitements thermiques appropriés permet non seulement de réduire ces populations microbiennes, mais aussi d'inhiber ou d'éliminer les enzymes responsables de la détérioration. Parmi les traitements thermiques couramment utilisés, on distingue notamment la pasteurisation et le traitement thermique ultra-haut (HUT, High-UHT). La pasteurisation soumet le produit à une température modérée pendant un temps défini, ce qui assure une réduction significative des micro-organismes tout en préservant la qualité nutritionnelle et sensorielle. En revanche, le traitement thermique ultra-haut (UHT) implique des températures plus élevées sur de courtes durées, permettant d'obtenir un produit à longue conservation à température ambiante. Cette optimisation du traitement thermique est essentielle pour garantir à la fois la sécurité alimentaire et la qualité des laits végétaux (Daryani et al., 2024).

**1.4.6. Homogénéisation :** La phase d'homogénéisation est essentielle dans le processus de production de laits végétaux, car elle permet de réduire la taille des gouttelettes d'huile et des particules insolubles (protéines, fibres, amidon), améliorant ainsi la stabilité physique et la texture du produit final. Par ailleurs, l'homogénéisation contribue à une meilleure apparence et sensation en bouche, ce qui est recherché pour obtenir une boisson crémeuse et stable comparable au lait traditionnel (Xie et al., 2023).

**1.4.7. Conditionnement, emballage et durée de conservation :** Après leur transformation et leur traitement thermique, les boissons végétales sont conditionnées en vue de leur stockage et de leur distribution. Le conditionnement est généralement réalisé dans des bouteilles en plastique ou des emballages cartonnés, selon le mode de conservation recherché. Cette étape doit être effectuée dans des conditions d'hygiène strictes afin d'éviter toute recontamination microbienne et de préserver la qualité du produit. La durée de conservation des laits végétaux dépend étroitement du traitement thermique appliqué. En effet, les boissons soumises à une pasteurisation nécessitent un stockage réfrigéré et présentent une durée de conservation limitée. En revanche, les produits ayant subi une stérilisation en emballage ou un traitement thermique à ultra-haute température (UHT)

peuvent être conservés à température ambiante pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois, sans altération majeure de leur qualité microbiologique. (Xie et al., 2023).

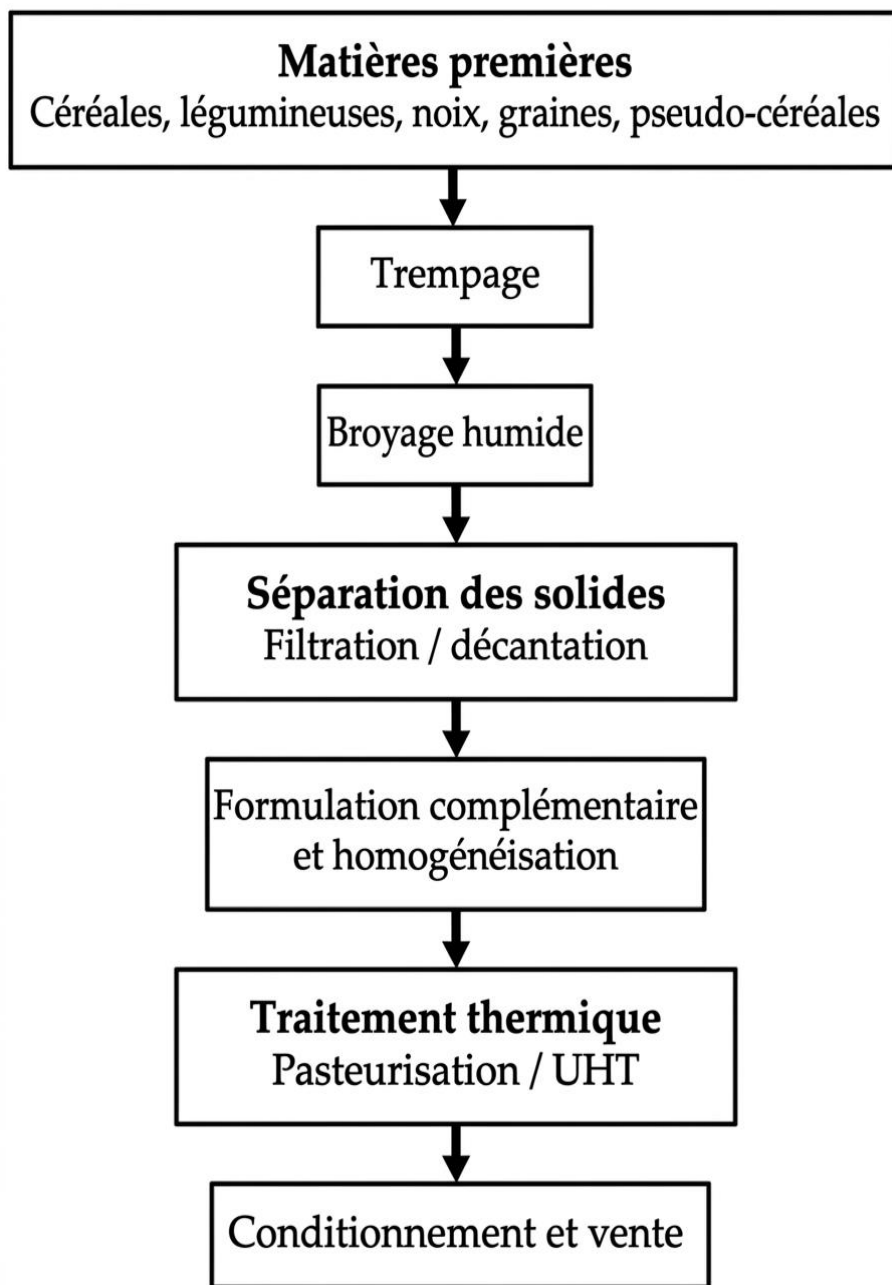


**Figure 1:** processus général de fabrication des laits végétaux à partir de matières premières (Gil-Serna et al., 2020).

## **1.5. Consommation mondiale des laits végétaux**

Le marché mondial des laits végétaux a été estimé à environ 20,84 milliards de dollars américains en 2024, et devrait atteindre 32,35 milliards de dollars d'ici 2030, avec un taux de croissance annuel composé de 7,4 % entre 2025 et 2030. L'intérêt croissant des consommateurs pour les alternatives aux produits laitiers est principalement lié à l'intolérance au lactose, aux allergies au lait ainsi qu'à la recherche d'aliments moins caloriques et plus riches en éléments nutritifs. Selon le National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, environ 68 % de la population mondiale présente une malabsorption du lactose, ce qui favorise la demande en produits sans lactose. Par ailleurs, l'évolution des technologies alimentaires et les innovations dans le développement des produits ont permis d'améliorer la saveur, la texture et la qualité nutritionnelle des laits végétaux, les rendant plus attractifs pour les consommateurs. L'augmentation du nombre de personnes adoptant un régime végétarien, végétalien ou flexitarien a également contribué à l'expansion du marché mondial des boissons végétales. Les laits végétaux, tels que le lait d'amande, de soja, d'avoine, de coco et de riz, présentent généralement une teneur plus faible en graisses saturées et en cholestérol comparativement au lait de vache, ce qui peut contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires. De plus, plusieurs produits végétaux sont enrichis en calcium, vitamine D et vitamine B12 afin d'améliorer leur valeur nutritionnelle. Enfin, la diversification des produits disponibles sur le marché ainsi que le soutien des politiques orientées vers une alimentation durable et l'agriculture végétale ont fortement participé à la croissance mondiale du secteur des laits végétaux. **(Grand View Research, 2024)**

## **Chapitre 2. Les bactéries lactiques**

### **2.1. Généralité sur les bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques forment l'un des groupes majeurs en microbiologie alimentaire. On les retrouve partout : lait et produits laitiers, viandes, fruits, légumes, ainsi que dans la flore intestinale et génitale des humains et des animaux (**Lahiri et al., 2022**). Elles interviennent largement dans la fermentation de matières premières d'origine animale et végétale. Outre la fermentation des glucides en acide lactique, certaines souches peuvent aussi, dans une moindre mesure, dégrader des protéines et des lipides présents dans ces substrats (**Yang et al., 2025**). Utilisées comme ferments, elles confèrent des caractéristiques sensorielles particulières aux aliments et contribuent à en prolonger la conservation. La biopréservation exploite ces bactéries comme alternative naturelle pour sécuriser les matrices alimentaires, principalement grâce à la production de bactériocines, des molécules actives qui inhibent des agents pathogènes et d'altération, améliorant ainsi la sécurité et la stabilité des produits (**Ayivi et al., 2020**).

### **2.2. Définition des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques (BL, ou LAB en anglais) forment le groupe le plus important de micro-organismes industriels employés en fermentation alimentaire. Il s'agit généralement de bactéries Gram-positives, non sporulées, catalase négative et anaérobies facultatives, capables de convertir divers sucres fermentescibles en acide lactique via des voies homo- ou hétérofermentaires. Elles sont généralement immobiles, acidophiles et présentent des besoins nutritionnels variés en acides aminés, peptides, vitamines, sels, acides gras et sources carbonées. Leur génome se caractérise par une faible teneur en guanine et cytosine (GC). Elles sont morphologiquement hétérogènes, coccoïdes ou bacillaires, isolées, en paires, en chaînes ou en tétrades (**Coelho et al., 2022**).

### **2.3. Classification des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques (BL) regroupent un ensemble diversifié de bactéries dont la caractéristique commune principale est la production d'acide lactique lors de la fermentation des glucides. Elles appartiennent au phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales, qui comprend plusieurs genres d'intérêt technologique et alimentaire tels que

*Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* et *Weissella* (Ayed, 2024). La première classification des bactéries lactiques a été proposée par Orala Jensen en 1919. Historiquement, leur identification reposait principalement sur des caractères morphologiques, physiologiques et métaboliques. Par la suite, ces approches ont été complétées par des critères chimiotaxonomiques, l'analyse des protéines cellulaires ainsi que d'autres caractéristiques phénotypiques et biochimiques (Belyagoubi, 2014). Actuellement, la classification des bactéries lactiques repose principalement sur des approches moléculaires et phylogénomiques, notamment le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S, les analyses phylogénétiques et la comparaison des génomes entiers. Ces méthodes permettent une identification plus précise des bactéries au niveau du genre, de l'espèce et parfois même de la souche. Les études génomiques ont également révélé une importante diversité génétique au sein du genre *Lactobacillus sensu lato*. À partir d'analyses phylogénomiques basées notamment sur l'identité moyenne des acides aminés (AAI) et l'étude des gènes conservés, Zheng Jin et ses collaborateurs ont proposé en 2020 une révision taxonomique majeure du genre *Lactobacillus*, conduisant à la création de plusieurs nouveaux genres. Cette réorganisation phylogénomique a permis d'améliorer la compréhension des relations évolutives entre les bactéries lactiques ainsi que l'identification des souches d'intérêt industriel (Zheng et al., 2020).

## 2.4. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques

***Lactobacillus*** : genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il regroupe de nombreuses espèces utilisées comme agents de fermentation dans diverses industries. Ce sont des bacilles Gram-positifs, non sporulés, immobiles, anaérobies facultatives, catalase négative, avec une croissance optimale généralement entre 30 et 40 °C. Le genre présente une grande diversité spécifique et une teneur en GC variable (environ 32–53 mol%). Les *lactobacilles* jouent des rôles technologiques importants (conservation, fermentation) et peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en tant que probiotiques (Rafique et al., 2022). La révision taxonomique de 2020 a scindé le genre en plusieurs nouveaux genres (par exemple *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Limosilactobacillus*), même si le nom *Lactobacillus* reste encore largement utilisé pour des raisons historiques (Zheng et al., 2020).

***Bifidobacterium*** : autre groupe fréquemment associé aux fermentations et aux produits probiotiques, *Bifidobacterium* (anciennement *Lactobacillus bifidus*) partage des caractéristiques physiologiques avec les BL et colonise surtout le tube digestif, notamment chez les nouveau-nés. Phylogénétiquement, ce genre appartient toutefois au phylum *Actinobacteria* (Zheng et al., 2014). Les bifidobactéries sont Gram-positives, non sporulées, immobiles, avec une teneur en GC élevée (46–67 %). Leur morphologie est souvent irrégulière (formes en V, X ou Y) et elles possèdent l'enzyme fructose-6-phosphate phosphoketolase, qui leur permet de fermenter les hexoses en acide acétique et acide lactique. Leur croissance optimale se situe généralement entre 36 et 43 °C, et elles sont largement utilisées dans la fabrication de produits laitiers fermentés et de probiotiques (Baratte-Euloge, 1992).

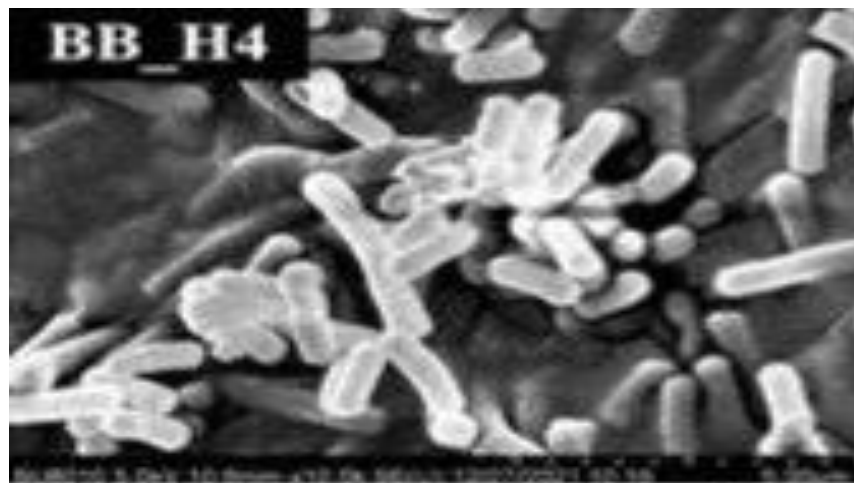


**Figure 2** : Observation de la morphologie utilisant le 2'-FL par microscopie électronique à balayage (SEM) d'une souche appartenant à *Bifidobacterium bifidum*. (Zhang et al., 2023)

***Enterococcus*** : historiquement classés parmi les streptocoques du groupe D (*streptocoques fécaux*), les entérocoques sont des commensaux du tractus intestinal. Ils présentent des profils d'hémolyse variables ( $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) et comprennent des espèces courantes en milieu alimentaire, comme *Enterococcus faecalis*. Certaines souches sont employées comme ferments, cultures protectrices ou probiotiques, même si d'autres peuvent être opportunistes. Ce sont des coques (parfois mobiles) au métabolisme souvent homofermentaire ; leur identification inclut des tests de fermentation de glucides (arabinose, sorbitol). Ils croissent dans une large plage de températures (approximativement 10–45 °C). Certaines espèces peuvent toutefois présenter un caractère opportuniste et être impliquées dans des infections nosocomiales (Klein, 2003; García-Solache & Rice, 2019).

***Streptococcus*** : genre diversifié et historiquement bien étudié en microbiologie à cause de son implication dans de nombreuses infections. Il comprend plusieurs groupes taxonomiques, dont les *streptocoques pyogènes* (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*) et les streptocoques du groupe *viridans* (incluant des espèces orales comme *S. salivarius*). Ce sont des coques immobiles, souvent organisées en paires ou en chaînes, fermentant les glucides principalement en acide lactique. Leur température optimale de croissance est proche de 37 °C. En industrie alimentaire, l'espèce *Streptococcus thermophilus* est particulièrement importante pour la production de yaourts et autres laits fermentés (Markakiou et al., 2020).

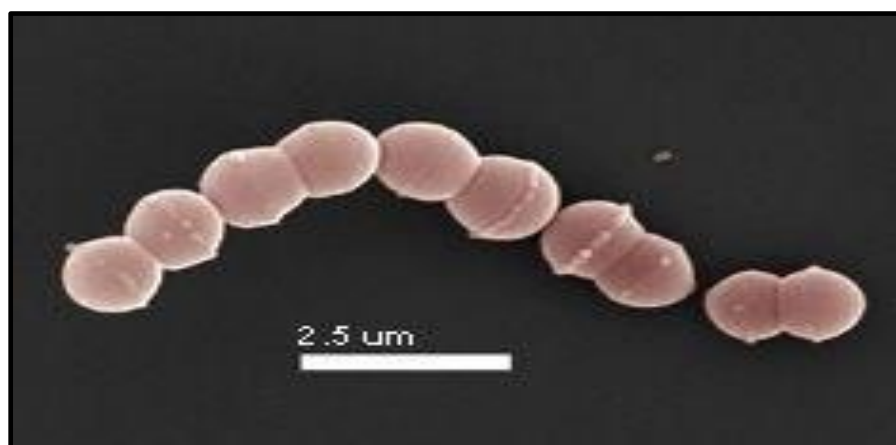


**Figure 3** : Microscopie électronique à balayage de *Streptococcus thermophilus* LMD-9 (Crédit photo : Robert Hutkins, Université du Nebraska ; Source : JGI Genome Portal).

***Pediococcus*** : Le genre *Pediococcus* regroupe des bactéries Gram positives, de morphologie coccoïde ou lenticulaire, immobiles et non sporulées. Elles sont généralement catalase négatives et présentent un métabolisme de type homofermentaire. Ce sont des anaérobies facultatifs aux exigences nutritionnelles spécifiques (Todorov et al., 2022). Ces micro-organismes sont principalement isolés de matrices végétales, de boissons fermentées, de produits carnés et de produits laitiers. Le genre comprend plusieurs espèces, parmi lesquelles *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus parvulus*, *Pediococcus inopinatus* et *Pediococcus lolii*. *Pediococcus acidilactici*, fréquemment rencontrée dans divers aliments fermentés, est modérément thermophile (optimum  $\approx 40$  °C) et capable de fermenter de nombreux glucides (glucose, fructose, ribose...), produisant du DL-lactate et abaissant le pH jusqu'à  $\approx 3,6$ . Ces caractéristiques expliquent son utilisation dans la fermentation de légumes, de produits laitiers, de céréales et de viandes (Papagianni & Anastasiadou, 2009).

**Lactococcus** : Les *Lactococcus* sont des bactéries Gram positives, de morphologie coccoïde, se disposant en paires ou en chaînes. Anaérobies facultatifs, elles présentent généralement un métabolisme homofermentaire convertissant principalement les glucides en acide lactique, tout en conservant une certaine flexibilité métabolique qui leur permet, en conditions particulières, de produire formiate, acétate ou éthanol. Leur croissance optimale se situe entre 20 et 30 °C ; elles peuvent se développer à 10 °C mais ne croissent pas à 45 °C. Elles tolèrent des concentrations en NaCl allant jusqu'à 4 % et certaines souches sont couramment isolées dans les produits laitiers (lait cru, laits fermentés, beurre, fromage). Ces espèces jouent un rôle majeur en industrie agroalimentaire et sont généralement considérées comme non pathogènes. Les espèces les plus représentatives sont *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris*, largement impliquées dans la fermentation des produits laitiers traditionnels (kéfir, filmjölkk, viili) (Mofredj et al., 2007).

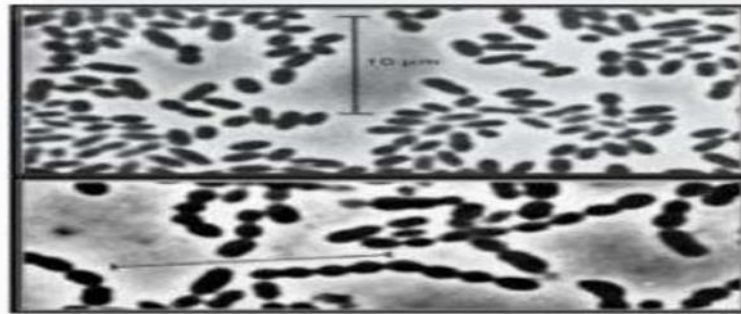


**Figure 4:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* sous forme de cellules ovoïdes par paires (photo du haut) et en chaînes (photo du bas) selon la souche (Teuber et Geis, 2006).

**Leuconostoc** : Le genre *Leuconostoc* rassemble des bactéries lactiques Gram positives, catalase négatives et anaérobies facultatives, caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire conduisant à la formation de divers métabolites. Ces organismes ont des exigences nutritionnelles élevées et sont associés à des environnements riches en nutriments, notamment des matrices alimentaires où ils interviennent dans les fermentations et, parfois, dans des altérations. Une révision taxonomique majeure en 2020, fondée sur des analyses génomiques, a entraîné la réorganisation de cette classification et l'intégration du genre *Leuconostoc* dans la famille des *Lactobacillaceae* (fusion avec l'ancienne famille *Leuconostocaceae*) (Candelieri et al., 2024). Les *Leuconostoc* participent à la fabrication de différents fromages, contribuant notamment à la formation des ouvertures par production de CO<sub>2</sub>. Ils interviennent aussi dans l'industrie laitière, en particulier *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* pour la production de beurre et de

crème, et sont impliqués dans l'ensilage et la fermentation de produits végétaux tels que les olives et la choucroute (Chethouna, 2020).

**Oenococcus et Weissella :** Les genres *Oenococcus* et *Weissella* sont phylogénétiquement proches de *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. Ce sont des bactéries Gram positives, anaérobies facultatifs et catalase négatives. *Weissella* présente une diversité morphologique (coques ou bacilles courts) et est largement distribuée dans les aliments fermentés et le microbiote intestinal. *Oenococcus oeni*, quant à lui, joue un rôle central dans la fermentation malolactique, particulièrement en œnologie, en convertissant l'acide malique en acide lactique (Bartowsky & Borneman, 2011 ; Ma et al., 2025).

## 2.5. Métabolisme des bactéries lactiques

### 2.5.1. Métabolisme des glucides

La fermentation est un processus de production d'énergie reposant sur l'oxydation de composés organiques, principalement des glucides. Les bactéries lactiques (LAB) disposent d'un métabolisme principalement fermentaire fondé sur l'utilisation de sucres tels que lactose, glucose, fructose et saccharose. Selon les voies métaboliques employées, on distingue des bactéries homofermentaires et hétérofermentaires.

- **La voie homofermentaire**

Cette voie conduit à la dégradation du glucose en pyruvate via la glycolyse, processus qui aboutit principalement à la formation de deux molécules de lactate et de deux molécules d'ATP. Elle est caractéristique des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et de nombreux *Lactobacillus*.



- **La voie hétérofermentaire**

Certaines LAB, notamment des *Leuconostoc* et certains *Lactobacillus*, ne possèdent ni la fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA) ni le système de transport phosphotransférase (PTS). La fermentation du glucose par ces microorganismes conduit simultanément à la production de lactate, d'éthanol (ou d'acétate), de dioxyde de carbone et d'une molécule d'ATP. (Boudersa, 2017).

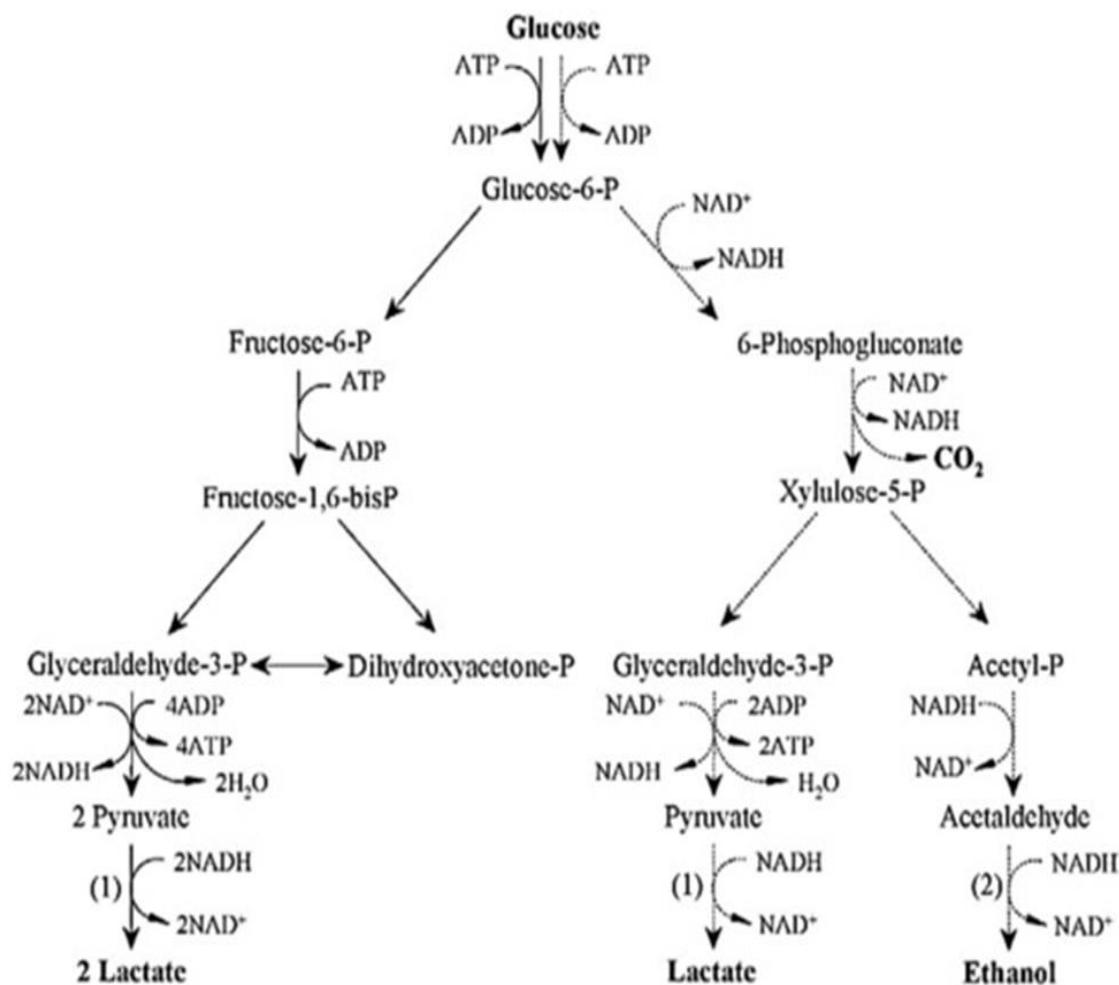
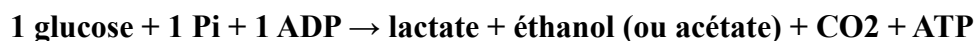


**Figure 5 :** Représentation schématique des deux voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques (d'après José Aníbal Mora-Villalobos et al. ,2020)

### 2.5.2. Protéolyse

La protéolyse est un processus biochimique clé chez les LAB, déterminant pour le développement des propriétés organoleptiques des produits fermentés. Le système protéolytique comprend une protéinase extracellulaire, des systèmes de transport et des peptidases intracellulaires qui permettent la dégradation des protéines en acides aminés. Ces derniers peuvent être ensuite transformés en composés aromatiques (aldéhydes, alcools, esters). Par ailleurs, les LAB dépendent de ce système pour leur apport azoté dans des milieux où les protéines constituent la principale source d'azote (Liu et al., 2010).

### 2.5.3. Lipolyse

L'activité lipolytique des LAB est relativement limitée mais contribue néanmoins à l'élaboration du profil aromatique pendant l'affinage des fromages. L'hydrolyse des triglycérides aboutit à la formation d'acides gras libres, de mono- et diglycérides et de glycérol. Les lipases bactériennes libèrent des acides gras à longue chaîne à partir des mono- et diglycérides, tandis que les estérases libèrent des acides gras volatils. L'accumulation progressive de ces composés au cours de l'affinage participe au profil aromatique des fromages à pâte cuite et constitue des précurseurs de molécules aromatiques telles que méthylcétones, alcools, lactones et esters. Les estérases des LAB montrent une préférence pour les substrats à chaîne courte, avec des spécificités variables selon les souches (Mahi, 2010).

### 2.5.4. Métabolisme du citrate

Le métabolisme du citrate est une voie clé pour le développement des qualités organoleptiques des produits fermentés. Le citrate est importé dans la cellule via une citrate perméase, puis transformé en acétate et oxaloacétate par le citrate-lyase. L'oxaloacétate est décarboxylé en pyruvate et CO<sub>2</sub> par l'oxaloacétate décarboxylase. Le pyruvate formé sert ensuite à la synthèse de composés aromatiques tels que le diacétyle et l'acétoïne. Certaines souches, notamment *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, sont particulièrement actives sur cette voie ; le diacétyle confère l'arôme beurré caractéristique du beurre, du babeurre et de certains fromages. La production de ces composés fait l'objet de recherches visant à optimiser la qualité sensorielle des produits fermentés (Marilley & Casey, 2004 ; Eicher et al., 2024).

## 2.6. Intérêts des bactéries lactiques

### 2.6.1. Dans l'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques (LAB) possèdent des propriétés technico-fonctionnelles déterminantes en agroalimentaire et en biotechnologie. Leur fermentation des sucres en acide lactique abaisse le pH, limitant la croissance d'agents pathogènes et prolongeant la conservation. (Ayed et al., 2024). Elles produisent de nombreux métabolites (acides organiques, diacétyle, acétoïne, composés volatils), des enzymes protéolytiques et lipolytiques, qui contribuent directement à la texture, à l'arôme et au goût caractéristiques des produits fermentés (yaourt, fromages, boissons fermentées). Certaines souches sont également capables de produire des

exopolysaccharides (EPS), qui modulent texture, viscosité et profil aromatique des produits fermentés. Les LAB sécrètent en outre des antimicrobiens (bactériocines, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), affichent des activités antioxydantes et peuvent améliorer la biodisponibilité des nutriments ou générer des composés bioactifs. Leur adaptabilité et leur statut GRAS/QPS expliquent leur large emploi comme ferments starters et souches probiotiques dans les aliments fonctionnels (Ayed et al., 2024 ; Anumudu et al., 2024).

### 2.6.2. Dans le domaine thérapeutique

Les bactéries lactiques sont largement reconnues pour leur potentiel probiotique et leurs effets bénéfiques sur la santé. Les probiotiques, définis comme des micro-organismes vivants apportant un effet positif à l'hôte en quantité suffisante, sont principalement issus des genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* ; certaines souches de *Bacillus* et des levures du genre *Saccharomyces* sont également utilisées comme probiotiques. Ces souches doivent satisfaire des critères de sécurité et de fonctionnalité, notamment la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires, la capacité d'adhésion à l'épithélium intestinal ainsi que l'absence de résistance acquise aux antibiotiques. Les probiotiques exercent leurs effets bénéfiques grâce à différents mécanismes d'action tels que la production de substances antimicrobiennes, la compétition avec les microorganismes pathogènes pour les nutriments et les sites d'adhésion, l'immunomodulation et l'inhibition de la production de toxines bactériennes. Ils participent au maintien de l'équilibre du microbiote intestinal, à l'amélioration de la digestion, à la stimulation du système immunitaire ainsi qu'à la prévention des infections intestinales causées par plusieurs bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Clostridium perfringens*.; certaines souches produisent par ailleurs vitamines B, enzymes, acides organiques, bactériocines et autres molécules bioactives aux propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires voire anticancéreuses (Markowiak et Śliżewska, 2017). Par ailleurs, des études montrent que *Lactobacillus crispatus* administré en suppositoires peut limiter la colonisation vaginale et prévenir les infections urinaires récidivantes (Stapleton et al., 2011), ce qui motive la recherche continue de nouvelles souches aux applications thérapeutiques et biotechnologiques (Ayed et al., 2024).

A decorative blue line border that forms a scroll-like frame around the text. It starts with a small scroll at the top right, goes down the right side, across the bottom, up the left side, and ends with a scroll at the top left.

## ***Partie Expérimentale***

## Chapitre 3. Matériel et méthodes

### 3.1. Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Kasdi Merbah- Ouargla.

### 3.2. Matériels

#### 3.2.1. Appareils

- ❖ Autoclave (Autoclave (TRADE Raypa),
- ❖ Plaque chauffante (velp scientifica),
- ❖ Four pasteur (mammert)
- ❖ Incubateurs (37°C) (mammert)
- ❖ Bain marie (memmart),
- ❖ Réfrigérateur (Raylan).
- ❖ PH mètre (EZ-9909SP)
- ❖ Microscope optique (Bioblue).
- ❖ Spectrophotomètre (DR 5000)

#### 3.2.2. Matériel biologique

**3.2.2.1. Le matériel végétal :** on a utilisé dans cette étude le riz blanc brisé (*Oryza sativa*) pour la fabrication du lait végétal, le riz a été choisi car il constitue l'une des matières premières végétales les plus adaptées à la production de boissons végétales fermentées, en raison de son goût doux, de sa bonne digestibilité et de son faible potentiel allergénique par rapport au soja ou aux fruits à coque. De plus, l'amidon du riz présente de bonnes propriétés technologiques permettant d'obtenir une texture stable et adaptée aux processus de fermentation par les bactéries lactiques (**shiriaev et al.,2024**)

**3.2.2.2. Lait de vache :** le lait de vache est utilisé comme échantillon de référence afin de servir de base de comparaison avec le lait de riz lors du processus de fermentation. Il s'agit de lait industriel UHT.

**3.2.2.3. Les souches bactériennes :** Les souches de bactéries lactiques utilisées dans cette étude comme starters de fermentation ont été isolés et pré-identifiés à partir de matrices végétales :

**Tableau 2 :** résultats des tests de pré-identification des souches lactiques (BENBRAHIM,2025).

| Souches | Sources | Milieu de culture | Form macro               | Form micro | GRAM | Catalase | Type fermentai | Genre possible          |
|---------|---------|-------------------|--------------------------|------------|------|----------|----------------|-------------------------|
| OP      | Orange  | M17 & MRS         | Visqueux, Blanc          | Coccus     | +    | -        | Homo           | <i>Lactococcus</i> sp.  |
| K       | Dates   | M17 & MRS         | Sèche, Blanc transparent | Coccus     | +    | -        | Homo           | <i>Lactococcus</i> sp.  |
| I       | Dates   | M17 & MRS         | Sèche, Blanc transparent | Coccus     | +    | -        | Homo           | <i>Enterococcus</i> sp. |

### 3.2.3. Milieu de culture :( Annexe 4)

Milieu MRS (bouillon et gélosé)

### 3.2.4. Petit matériel et réactifs

Flacons en verre, tubes à essais, pipettes pasteurs, anse de platine, boîtes de Pétri, bec bunzen, parafilm, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lait écrémé, NaOH 0.1N, NaCl, glycérol, tubes Eppendorf, extrait de levure, eau distillé, eau physiologique, eau filtré, burette, colorants pour la coloration du GRAM (rose de fuschine, violet de gentiane, alcool, Lugol), huile à l'immersion, lames en verres, lamelle, la phénolphtaléine, des béchers et des Erlenmeyers, barreaux magnétiques. Agitateur magnétique, Mixeur, Gaze stérile,

## 3.3. Méthodologie

### 3.3.1. Réactivation des souches bactériennes

La réactivation des souches bactériennes permet de restaurer leur activité Métabolique après une phase de conservation. Dans cette étude, les souches ont été réactivées par ensemencement sur

milieu MRS, un milieu Sélectif favorisant la croissance des bactéries lactiques grâce à sa composition Spécifique (**Annex03**). Un volume de 0,1 ml de chaque souche a été ensemencé sur des boîtes coulées par MRS, puis incubé à **30–37°C** pendant 24 à 48 heures, conditions optimales pour la croissance des bactéries lactiques. La purification a été réalisée par des repiquages successifs jusqu'à l'obtention de colonies homogènes, indicatrices de cultures pures (**El Ahmadi et al., 2025**)

### **3.3.2. Vérification de la pureté des souches bactériennes**

La vérification des souches repose sur des tests microbiologiques permettant d'identifier les bactéries lactiques selon leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques.

**3.3.2.1 Examen macroscopique :** Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonie obtenue sur des milieux (MRS) solide ; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies sur milieu solide et le trouble dans le milieu liquide (**Badis et al., 2005**).

**3.3.2.2 Examen microscopique :** La coloration de Gram est une technique différentielle permettant de distinguer, les bactéries en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. Les bactéries Gram positives retiennent le cristal violet et apparaissent violettes, tandis que les bactéries Gram négatives apparaissent roses après contre-coloration. Dans cette étude, des frottis ont été réalisés, colorés selon la méthode classique (cristal violet, lugol, alcool, safranine), puis observés au microscope optique en immersion, objectif  $\times 100$  afin d'évaluer la morphologie cellulaire et le mode de regroupement.

**3.3.2.3 Test de la catalase :** Le test de la catalase permet de mettre en évidence l'enzyme catalase, qui décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Dans cette étude, une colonie bactérienne a été mise en contact avec une goutte d'eau oxygénée ( $H_2O_2$  à 10 volumes). L'apparition de bulles indique une réaction positive. L'absence de bulles caractérise les bactéries lactiques, qui sont généralement catalase négatives. (**ElAhmadi et al.,2025**).

### **3.3.3. Préparation du lait végétal à base de riz**

Le lait de riz a été préparé selon la méthode décrite par da **Silva et al. (2022)**, avec certaines modifications expérimentales. **Le schéma (06)** indique les étapes de production.

Dans cette étude, 100 g de riz ont été pesés puis rincés trois fois à l'eau du robinet afin d'éliminer les impuretés. Ensuite, le riz a été trempé dans de l'eau distillée selon un rapport de 1:4

(poids/volume) pendant 8 heures à température ambiante (20–25 °C). Après trempage, l'eau distillée a été éliminée, puis le riz a été mélangé avec 1 l d'eau filtrée (préalablement chauffée à environ 60 °C). À l'aide d'un mixeur électrique, selon un rapport de 1:10 (m/v), jusqu'à l'obtention d'une consistance lisse et homogène. Le mélange obtenu a ensuite été filtré à travers une étamine afin d'éliminer les résidus solides et d'obtenir un lait de riz homogène.

Après extraction, le lait de riz a été divisé en deux fractions : 400 ml de lait de riz est fortifié (LRF) par l'ajout de l'extrait de levure et 400 ml de lait de riz est non fortifié (LRNF). L'extrait de levure est ajouté afin d'améliorer le milieu nutritif et de favoriser la croissance des bactéries lactiques au cours de la fermentation (**Olszewska-Widdrat et al., 2024**). Le lait de riz fortifié (LRF) a été préparé par l'ajout de 4 g d'extrait de levure, suivi d'une homogénéisation à l'aide d'un agitateur magnétique.

Les échantillons de lait de riz (LRF) et (LRNF) ont ensuite été placés dans un bain-marie et soumis à un traitement thermique à 95 °C pendant 10 minutes afin d'éliminer toute charge microbienne. Après ce traitement, le lait a été rapidement refroidi dans un bain d'eau glacée afin de réduire les risques de contamination microbienne. Il a ensuite été conditionné dans des flacons stériles et étiquetés, puis conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation. Par ailleurs, le lait animal, déjà stérilisé et disponible dans le commerce, a été utilisé tel quel, sans traitement thermique supplémentaire. Ainsi, trois types d'échantillons (400 ml chacun) ont été obtenus : lait de riz fortifié (LRF), lait de riz non fortifié (LRNF) et lait animal (LA). Ces échantillons ont été utilisés comme base de comparaison pour les analyses ultérieures.

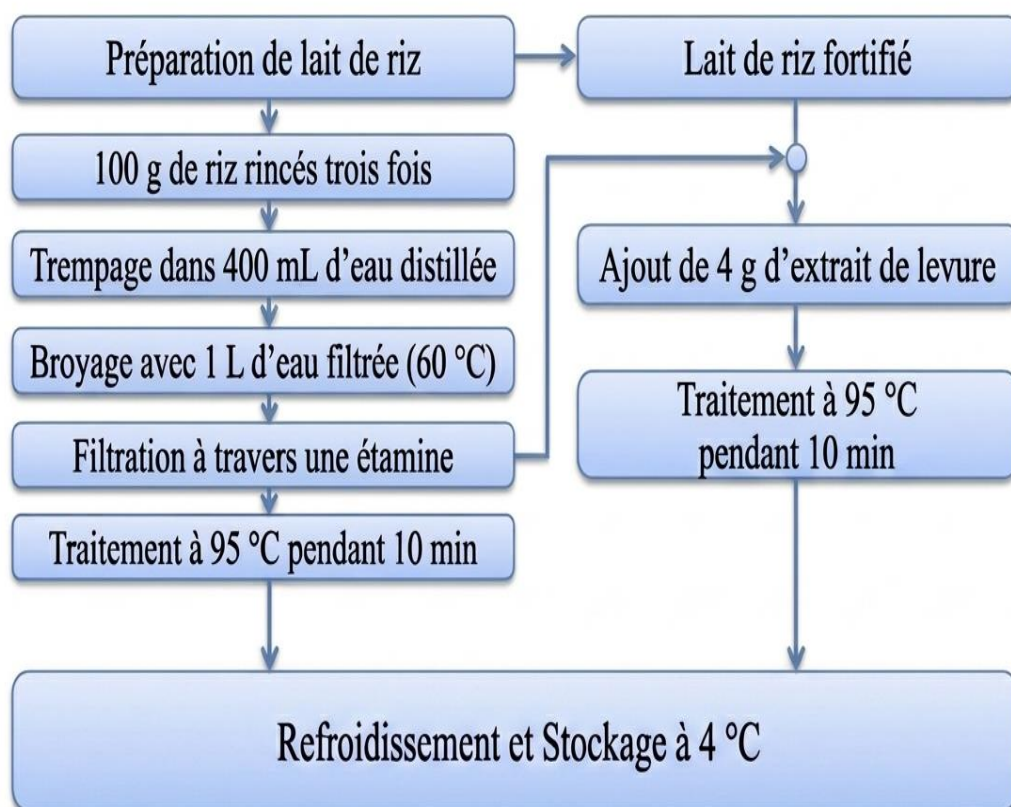


**Figure 6:** Schéma résumé le protocole expérimental de préparation du lait de riz.

### 3.3.4. Préparation des pré-cultures lactiques

Les (03) souches de bactéries lactiques utilisées pour l'inoculation des différents échantillons de lait ont d'abord été cultivées sur milieu MRS solide pendant 24 à 48 heures. Après développement des colonies, celles-ci ont été isolées puis transférées dans un bouillon MRS et incubées pendant 12 à 18 heures afin d'obtenir une pré-culture active. La croissance bactérienne a été vérifiée par l'apparition d'un trouble dans le bouillon après incubation. La densité optique à 600 nm (DO600) a ensuite été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre afin de standardiser la concentration cellulaire de l'inoculum.

### 3.3.5. Mise en fermentation de lait de riz

Les échantillons de lait (LRF, LRNF et LA) ont été inoculés séparément avec 2 % (v/v) de chaque pré-culture bactérienne dans des conditions aseptiques. À cet effet, 8 mL de culture

bactérienne ont été ajoutés à 400 mL de chaque échantillon, correspondant au temps initial de fermentation ( $t_0$ ). Après homogénéisation, les échantillons ont été incubés à une température comprise entre 30 et 37 °C pendant 18 heures.

La technique de fermentation du lait de riz a été réalisée en suivant la méthode décrite par **Hozzein et al. (2023)**, avec certaines modifications adaptées aux objectifs de cette étude.

### **3.3.6. Suivi de la cinétique de la fermentation**

Afin de suivre la fermentation ( $T_0$ ), des prélèvements ont été effectués toutes les heures par étude des variations du pH et de l'acidité titrable. Un dernier prélèvement a été réalisé après 24 heures d'incubation, correspondant à la fin de la fermentation (pH stable). Les échantillons de lait ont été immédiatement conservés à 4 °C afin de stopper l'activité fermentaire. Par la suite, des dénombrements de la flore lactique ont été réalisés au cours du stockage. Le comptage est fait à partir de  $j_0$  (fin de fermentation) puis après 7 jours et 14 jours, afin d'évaluer la viabilité des bactéries lactiques dans les différents échantillons. Les essais ont été réalisés en triplicat.

- **Mesure du pH**

La mesure du pH a pour objectif de suivre la cinétique d'acidification au cours de la fermentation et d'évaluer l'activité métabolique des bactéries lactiques. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (**Anumudu et al., 2024**). Pour chaque mesure, un prélèvement de 10 mL de chaque échantillon de lait a été placé dans un bécher propre. Après stabilisation de la lecture affichée sur l'appareil, la valeur du pH a été enregistrée.

- **Mesure de l'acidité titrable**

La mesure de l'acidité titrable a pour objectif de déterminer la quantité des acides organiques, notamment l'acide lactique, produits au cours de la fermentation par l'activité métabolique des bactéries lactiques. L'acidité titrable a été déterminée à partir d'un prélèvement de 10 mL de chaque échantillon, auquel trois gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées. L'échantillon a ensuite été titré par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1 M jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante **Fawzi et al. (2022)**. L'acidité, exprimée en degrés Dornic (°D), a été calculée selon la formule suivante : **Acidité (°D) =  $V(\text{NaOH}) \times 10$**

### 3.3.7. Dénombrement des bactéries lactiques

A la fin de la fermentation, les différents échantillons de lait fermenté ont été conservés à 4 °C afin de ralentir l'activité fermentaire et de préserver la viabilité des bactéries lactiques. Le dénombrement des bactéries lactiques a pour objectif de suivre l'évolution de la croissance bactérienne durant la fermentation et d'évaluer la viabilité des bactéries lactiques au cours du stockage. Pour le dénombrement des bactéries lactiques, le milieu MRS solide est coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Les échantillons du lait ont subi des dilutions décimales successives (de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) à l'aide d'une solution saline physiologique (0,9 %). L'ensemencement a été réalisé par la méthode d'étalement en masse, puis les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, les colonies apparues ont été dénombrées selon la formule ci- dessous et les résultats ont été exprimés en unités formant colonies par millilitre (CFU/ml). Les valeurs obtenues ont ensuite été converties en logarithme décimal ( $\log_{10}$  CFU/ml). **Hozzein et al. (2023)**

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

$\sum c$  = nombre total de colonies comptées sur les boîtes retenues.

$n_1$  = nombre de boîtes comptées à la dilution retenue la plus faible

$n_2$  = nombre de boîtes comptées à la seconde dilution retenue.

$V$  = volume de prise d'essai inoculé en mL.

$d$  = facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages sont réalisés : dilution la plus faible (la suspension mère est une dilution)..

### 3.3.8. Essai de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz

La production du produit de type fromage (cheese-like) à partir du lait de riz a été réalisée en s'inspirant des procédés classiques de fabrication des fromages frais lactiques, tout en apportant des adaptations liées à l'absence de caséines. Par ailleurs, certaines étapes ont été ajustées en se basant sur des travaux récents portant sur le développement d'analogues de fromage à base de matrices végétales, notamment à base d'amidon de maïs, d'amidon de riz ou de lait de riz (**Amini et al., 2019 ; Gianna et al., 2021 ; Cirat et al., 2024**).

La souche lactique (K), identifiée comme *Lactococcus sp.*, a été retenue pour la fabrication du fromage en raison de ses performances fermentaires plus stables et équilibrées dans les laits de riz fortifié et non fortifié, traduisant une meilleure capacité d'adaptation au milieu et une bonne aptitude à l'acidification. Afin de favoriser le développement de cette souche et d'obtenir un levain actif destiné à l'ensemencement du lait de riz, du lait écrémé a été utilisé comme support de culture en raison de sa richesse en lactose, protéines et autres éléments nutritifs favorisant la croissance des bactéries lactiques (**Guntiyastutik et al., 2020**). Le lait écrémé a été préparé en dissolvant 30 g de poudre de lait écrémé dans 270 mL d'eau distillée stérile. Le mélange a ensuite été stérilisé au bain-marie à 80–90 °C pendant 15 à 20 minutes puis refroidi à température ambiante. Après refroidissement, le lait écrémé a étéensemencé à 10 % (v/v) avec la culture issue du bouillon MRS, soit 30 mL pour un volume total de 300 mL. Le mélange a finalement été incubé à 37 °C pendant 24 heures afin d'obtenir un levain actif destiné à l'ensemencement du lait de riz.

Le lait de riz non fortifié (LRNF) a été retenu pour la fabrication du fromage en raison de ses meilleures performances fermentaires observées avec la souche *Lactococcus sp.* (K), le lait de riz préalablement préparé et stérilisé a étéensemencé par un levain à différents taux d'ensemencement (v/v). L'ajout du levain permet d'initier la fermentation lactique, favorisant la production d'acide lactique, la diminution du pH et la coagulation des constituants du lait de riz, conduisant à la formation d'un produit de type fromage (**Johnson, 2013**). Trois formulations ont été réalisées :

- **Échantillon 1** : LRNF + levain (5 %), soit 50 ml de levain pour 1L de lait de riz.
- **Échantillon 2** : LRNF + levain (10 %), soit 100 ml de levain pour 1L de lait de riz.
- **Échantillon 3** : LRNF+ levain (15 %), soit 150 ml de levain pour 1L de lait de riz.

Les échantillons de lait de riz inoculés avec le levain ont été incubés à 37 °C pendant 3 jours, jusqu'à l'obtention d'une coagulation satisfaisante. Le suivi de la fermentation lactique a été réalisé par la mesure du pH à différents temps : au début de l'incubation ( $t_0$ ), après 24 heures ( $t_{24}$ ) et à la fin de la fermentation ( $t : 72$  heures), afin d'évaluer l'évolution de l'acidification du milieu, ainsi que l'observation de la texture et de la coagulation. Après coagulation, le produit a été égoutté à l'aide d'une gaze stérile (étamine) afin de séparer le sérum et récupérer la phase coagulée. Les produits obtenus ont ensuite été conditionnés individuellement dans des sachets plastiques stériles hermétiques, puis conservés à 4 °C pendant 24 heures afin d'améliorer leur texture.

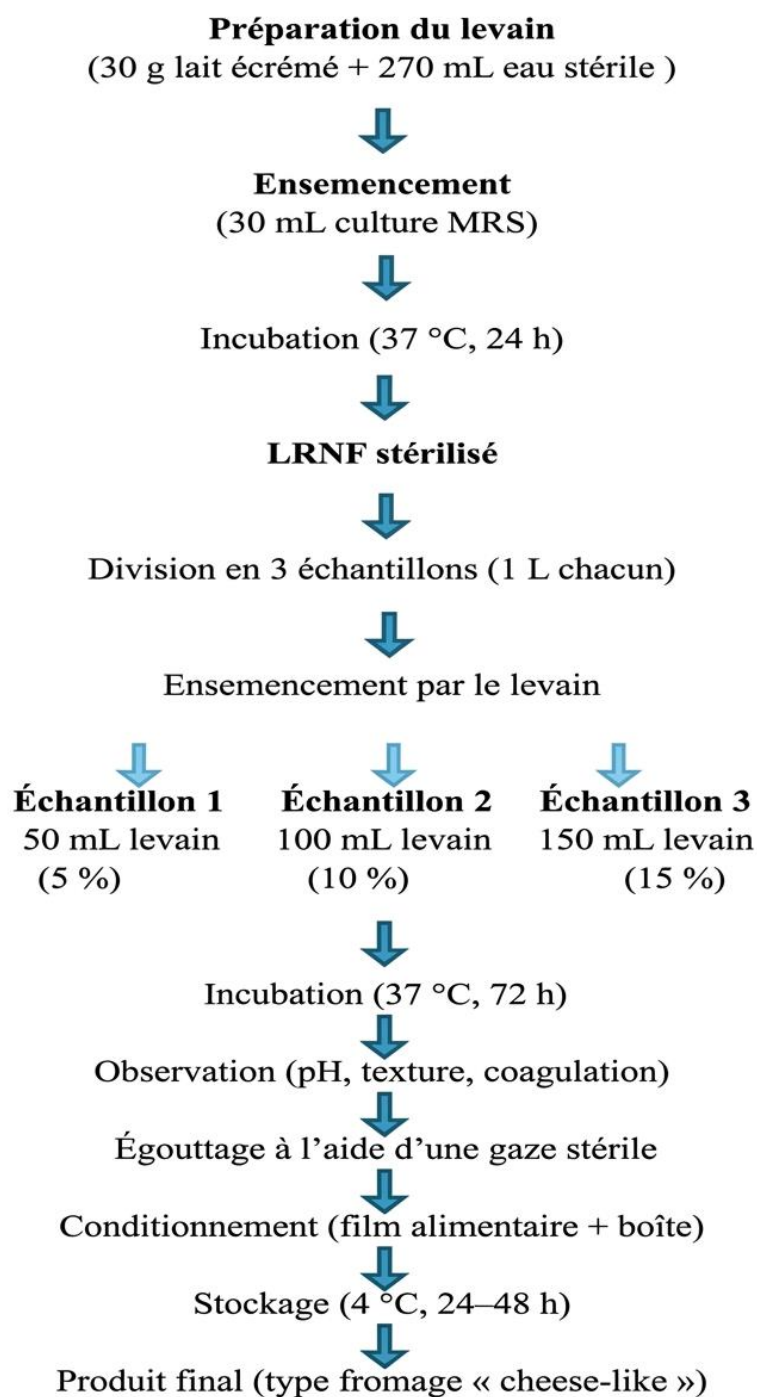


**Figure 7** : étapes de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) a base de lait de riz

### **3.3.9. Analyses sensorielles**

L'évaluation sensorielle a consisté d'abord en la dégustation des laits fermentés (LRNF), (LRF) en comparaison avec le (LA) ainsi que la dégustation du fromage végétal fabriqué. Cet ensemble a été soumis à une analyse sensorielle réalisée par un panel de 20 personnes. Chaque dégustateur a reçu une fiche d'évaluation comportant plusieurs critères organoleptiques : l'aspect visuel, l'odeur, la saveur, l'arrière-goût ainsi que la préférence globale. Les participants ont été invités à déguster ces échantillons et à exprimer leur appréciation selon ces différents paramètres.

A decorative blue line border that forms a scroll-like frame around the text. It starts with a small circle at the top right, goes down, then left, then up, and ends with a small circle at the top left.

## ***Résultats et Discussion***

## Chapitre 4. Résultats et Discussion

### 4.1. Vérification de pureté des souches bactériennes

Les 03 souches lactiques revivifiées sur milieu MRS ont présenté une croissance visible après 24 à 48 heures d'incubation. Sur milieu MRS gélosé, les colonies observées étaient circulaires de petite taille, lisse, opaques et de couleur blanchâtre à crème (**Figure 8**). Dans le bouillon MRS, un trouble homogène a été observé après 18 heures d'incubation, traduisant une croissance bactérienne active. (**Annex1**).



**Figure 8** : Aspect macroscopique des colonies bactériennes des souches OP, I, k respectivement après purification sur milieu MRS solide.

Les souches étudiées ont également montré une coloration de Gram positive et une réaction catalase négative (**Annex1**), caractéristiques typiques des bactéries lactiques. Ces résultats confirment la pureté des souches sélectionnées pour cette étude.

### 4.2. La préparation du lait de riz

Les boissons de riz (fortifiées et non fortifiées) obtenus durant notre étude présentaient une texture plus aqueuse et une stabilité physique limitée. Une séparation de phase a été observée avant fermentation dans les deux types de lait de riz, ce qui reflète leur faible teneur en protéines et l'absence d'un réseau colloïdal structurant comparable à celui du lait animal. Ces phénomènes sont fréquemment rapportés dans les boissons végétales à base de céréales obtenus par **Cichońska et al. (2022)**



**Figure 9 :** Aspect de différents types de laits de riz en comparaison avec le lait animal

**LA :** lait animal, **LRNF :** lait de riz non fortifié, **LRF :** lait de riz fortifié

### 4.3. Aspect de la fermentation de lait de riz

Après fermentation lactique, des modifications physiques ont été observées dans tous les échantillons : Le lait d'origine animale a présenté une coagulation légère après 18 heures de fermentation avec formation d'un gel homogène. Ce phénomène est dû à l'acidification du milieu par les bactéries lactiques, entraînant une diminution du pH et la déstabilisation des micelles de caséine lorsque le pH approche leur point isoélectrique ( $\approx 4,6$ ), favorisant leur agrégation et la formation du coagulum (**Santos et al., 2025**). Concernant les laits de riz, une augmentation de la viscosité a été observée après fermentation dans les deux types (fortifié et non fortifié). Le lait fortifié présentait une texture légèrement plus homogène et plus stable, bien qu'une séparation de phase soit encore observée dans les deux échantillons. Cette augmentation de viscosité est liée à l'activité des bactéries lactiques, qui transforment les sucres du milieu en acide lactique et produisent également des exopolysaccharides (EPS) (**Hernández-Figueroa et al., 2025**). Ces composés contribuent à l'amélioration des propriétés rhéologiques et de la texture des boissons fermentées à base de céréales, notamment le riz (**shiriae et al., 2024**).

Les résultats obtenus étaient globalement similaires pour les trois souches de bactéries lactiques utilisées, indiquant une activité fermentaire comparable sur tous les substrats étudiés. Cela signifie que le type de souche n'a pas modifié de manière significative les tendances générales observées (coagulation du lait animal et augmentation de viscosité du lait de riz).



Figure 10 : Aspect de différents types de laits fermentés de riz

#### 4.4. Suivi de la cinétique de la fermentation de lait de riz fortifié et non fortifié

Le suivi du pH et de l'acidité représente un indicateur important de l'activité fermentaire des bactéries lactiques au cours de la fermentation du lait de riz. Les résultats obtenus, illustrés dans les **figures (11,12,13,14)**, montrent des variations entre les différentes souches bactériennes durant la période de fermentation, traduisant leur capacité d'adaptation au milieu ainsi que leur aptitude à produire des composés acides (**Diez-Ozaeta et al., 2024**).

## 4.4.1 Suivre du pH

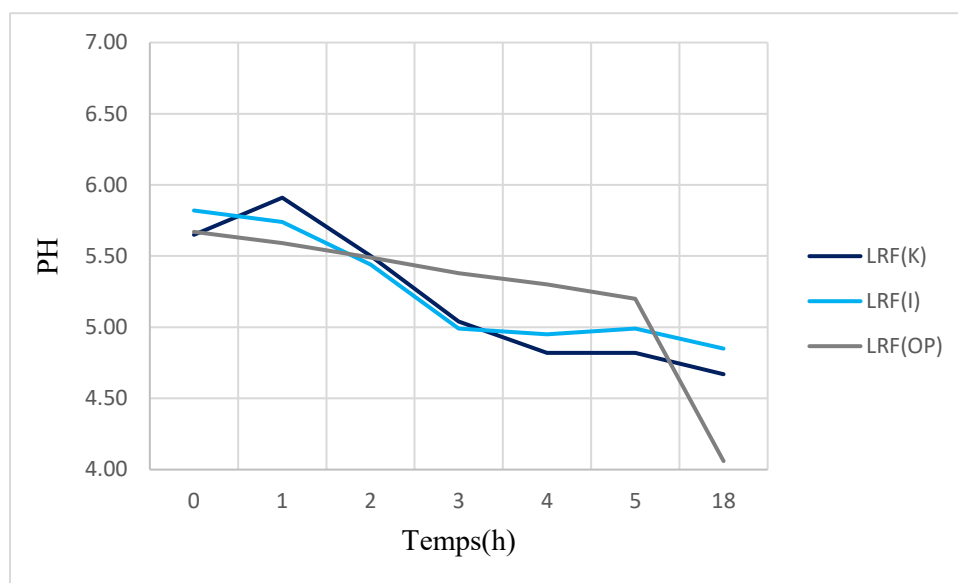


**Figure 11** : Évolution du pH du LRF inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

Les résultats obtenus montrent une diminution progressive du pH pour l'ensemble des échantillons étudiés au cours de la fermentation. Cette évolution est liée à l'activité métabolique des bactéries lactiques utilisées. Les souches étudiées étant homofermentaires, elles transforment principalement les sucres fermentescibles présents dans le milieu en acide lactique, principal composé responsable de l'acidification du milieu (Ayed et al., 2024).

Dans le lait de riz fortifié (LRF), la souche OP a présenté les meilleures performances fermentaires avec la valeur de pH la plus faible (4,06), comparativement aux souches K (4,67) et I (4,85) (**Figure 11**). Cette différence pourrait s'expliquer par une meilleure capacité d'adaptation de la souche OP au milieu fortifié, favorisant une activité métabolique plus importante ainsi qu'une production accrue d'acide lactique.

En effet, l'extrait de levure constitue une source de vitamines, d'acides aminés et de composés azotés pouvant stimuler la croissance bactérienne. Toutefois, selon la souche utilisée, cette supplémentation peut également modifier l'équilibre du milieu fermentaire et affecter l'intensité de l'acidification selon Olszewska-Widdrat et al. (2024)

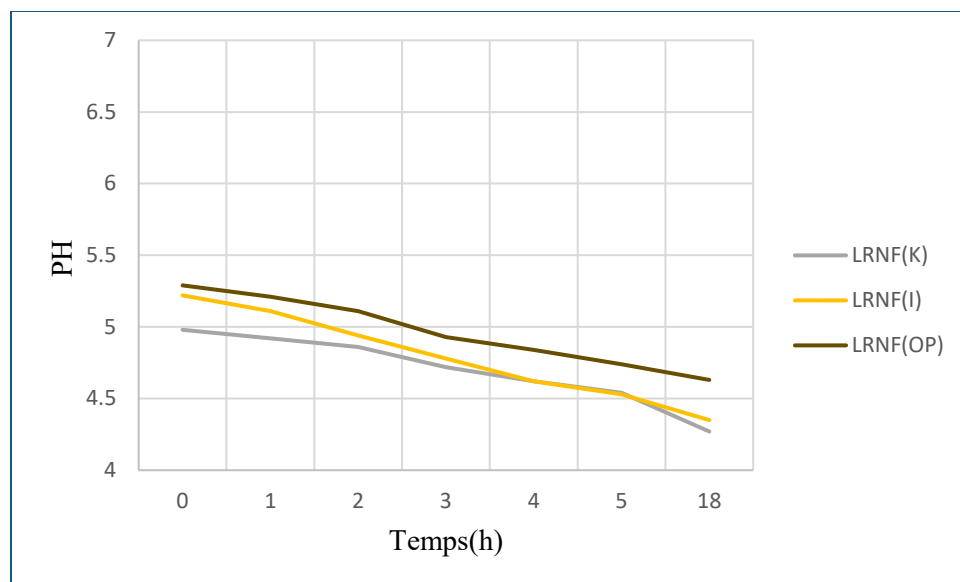


**Figure 12 :** Évolution du pH du lait de riz non fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

Concernant le lait de riz non fortifié (LRNF), les différentes souches ont également montré une diminution du pH au cours de la fermentation. Les valeurs enregistrées étaient de 4,27 pour la souche K, 4,35 pour la souche I et 4,63 pour la souche OP. Les souches K et I ont présenté une acidification plus importante comparativement à la souche OP, traduisant une meilleure activité fermentaire dans ce milieu. L'ajout d'extrait de levure dans le milieu de fermentation pourrait avoir influencé différemment l'activité métabolique des bactéries lactiques.

#### 4.4.2. Suivre du l'acidité

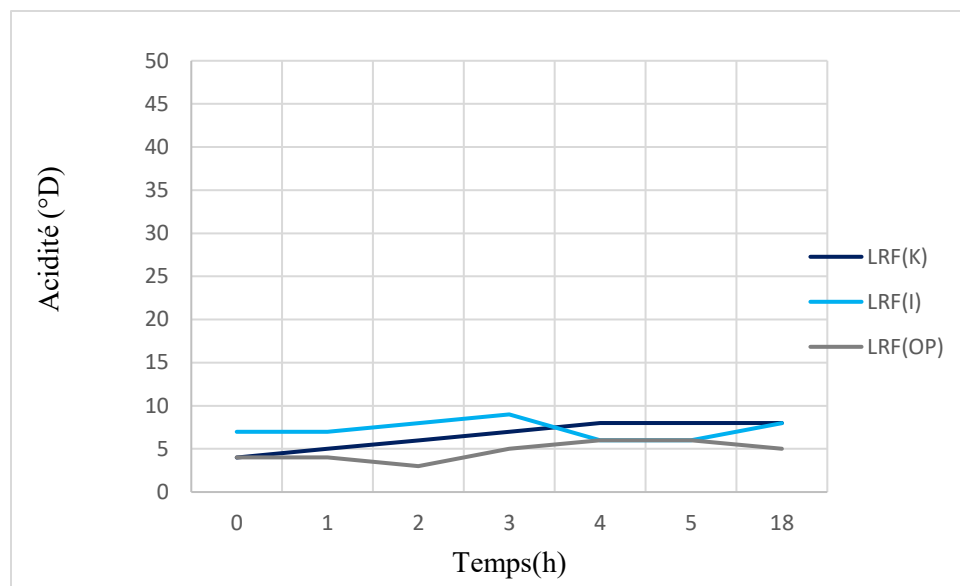


**Figure 13 :** Évolution de l'acidité (°D) du lait de riz fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

Les résultats relatifs à l'acidité montrent une augmentation de l'acidité titrable pour l'ensemble des échantillons fermentés. Les valeurs les plus élevées ont été observées pour les échantillons LRF(K) et LRF(I) avec une acidité de 8 °D, tandis que la souche OP a présenté une acidité plus faible dans le lait fortifié (6 °D). **Figure (13)**

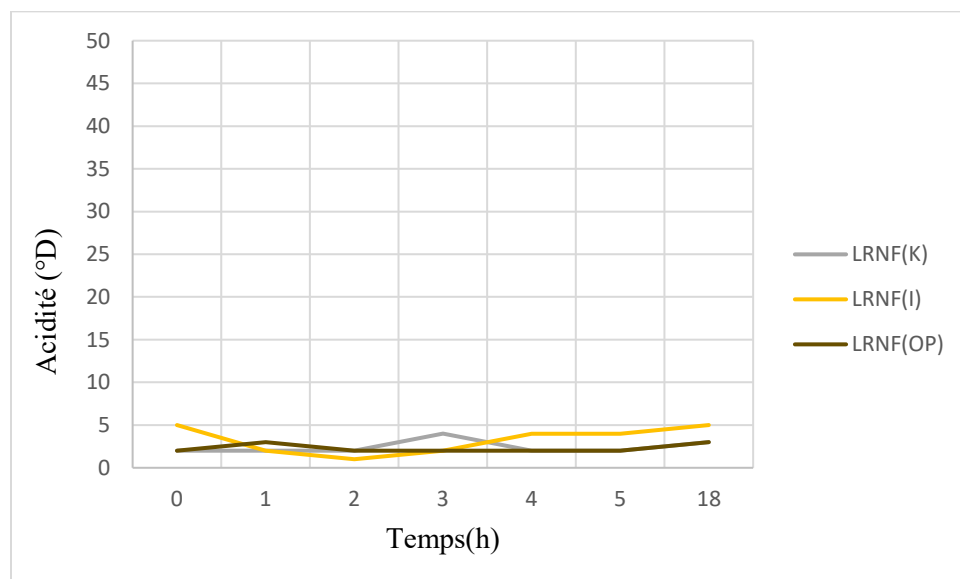


**Figure 14 :** Évolution de l'acidité (°D) du lait de riz non fortifié inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

Concernant le lait de riz non fortifié, les valeurs d'acidité enregistrées étaient plus faibles, variant entre 3 et 5 °D. La souche I a présenté l'acidité la plus élevée dans ce milieu avec une valeur de 5 °D, comparativement aux souches K et OP qui ont montré des valeurs similaires de 3 °D, **figure (14)**. Ces différences pourraient être liées à la capacité variable des souches bactériennes à s'adapter au milieu de fermentation ainsi qu'à leur activité métabolique dans les différents substrats étudiés.

#### 4.5. Comparaison des valeurs de pH et de l'acidité entre le lait bovin et le lait de riz fermentés

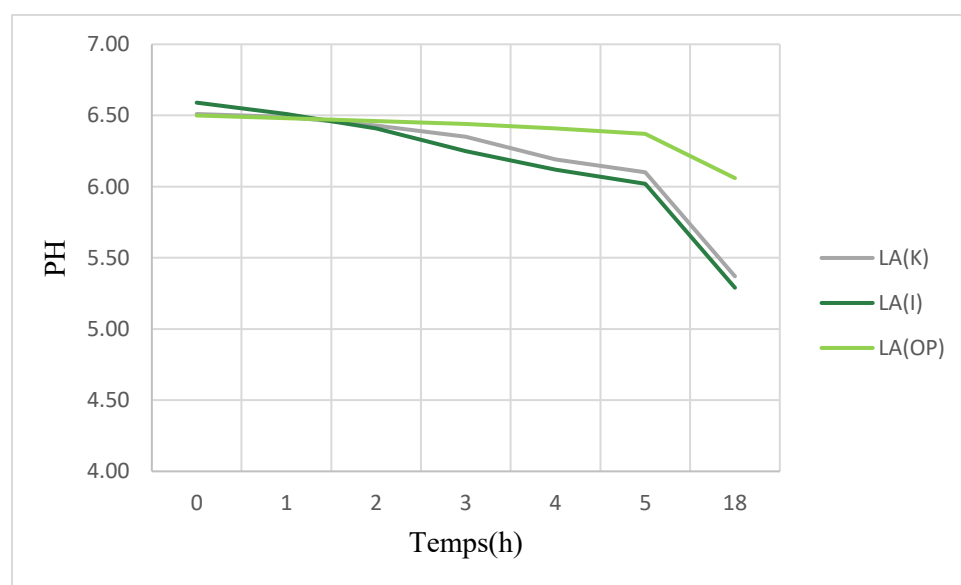


**Figure 15 :** Évolution du pH du lait animal inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

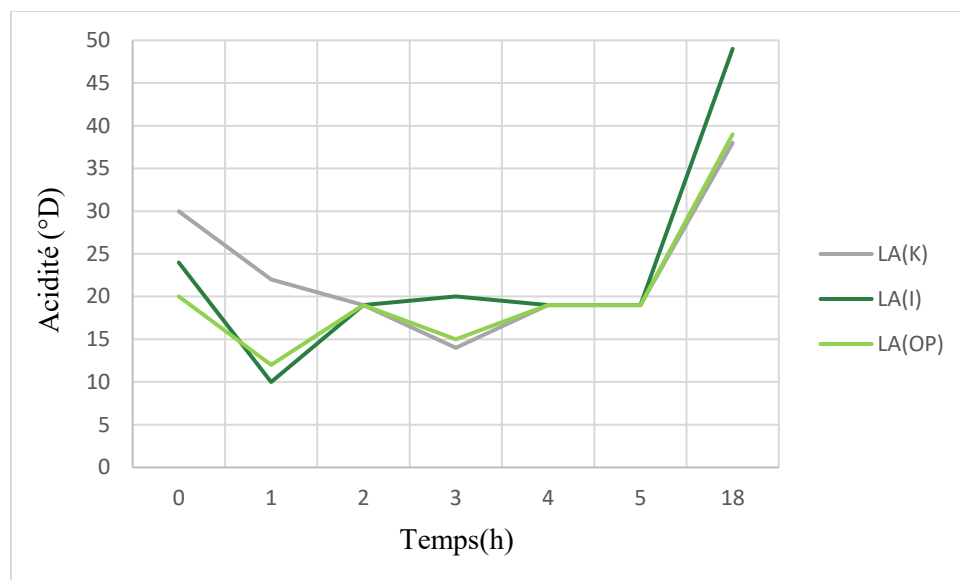


**Figure 16 :** Évolution de l'acidité (°D) du lait animal inoculé par 3 souches bactériennes en fonction du temps.

Les résultats obtenus ont montré que le lait bovin fermenté présentait une acidité plus élevée ainsi qu'une diminution plus importante du pH par rapport au lait de riz fermenté, **Figures (15 et 16)**. Cette différence pourrait être expliquée par la composition nutritionnelle du lait bovin, naturellement riche en lactose, principal sucre fermentescible des bactéries lactiques, ainsi qu'en caséines et peptides favorisant leur croissance, leur activité métabolique et la production d'acide lactique. En revanche, le lait de riz possède une composition différente en glucides et en protéines, ce qui peut limiter l'activité fermentaire des bactéries lactiques et rendre l'acidification moins intense. (Harper et al., 2022).

#### 4.6. Dénombrement des bactéries lactiques

Le dénombrement des bactéries lactiques au cours du temps revêt une importance technologique et fonctionnelle majeure. Il permet d'évaluer la viabilité et la stabilité des souches starters (K, I et OP) face aux contraintes induites par l'acidification progressive du milieu et la diminution des nutriments disponibles dans la matrice végétale. De plus, le maintien d'une population bactérienne élevée, généralement supérieure à  $10^6$  UFC/mL, est considéré comme un indicateur de la qualité biologique du produit fermenté et de son aptitude à conférer des effets bénéfiques potentiels au consommateur. (Bintsis, 2018 ; Tripathi & Giri, 2014).

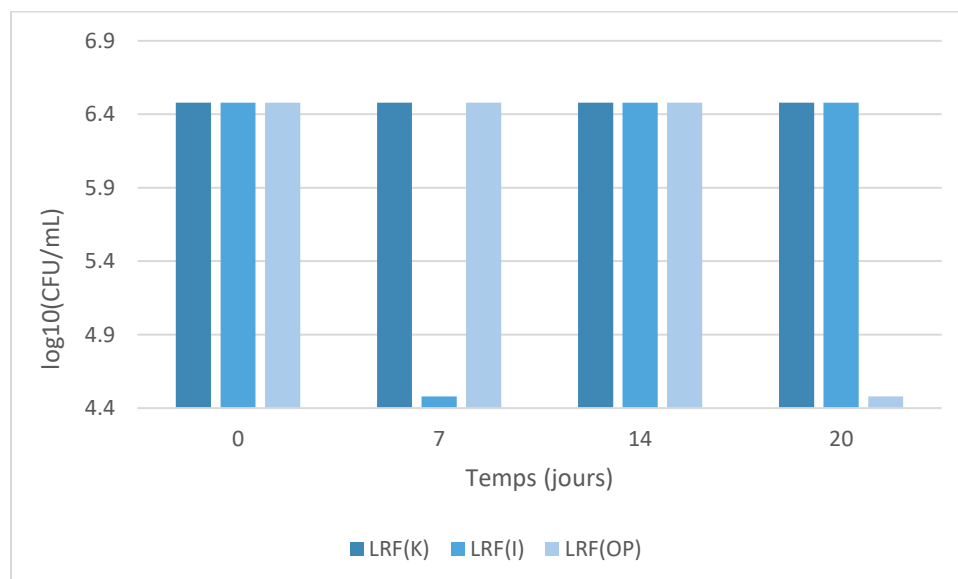


**Figure 17 :** Évolution du dénombrement des bactéries lactiques (log10 CFU/ml) dans le lait LRF inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps.

### ➤ Lait de riz fortifié (LRF)

La **figure (17)** (LRF) montre une variation du comportement des différentes souches bactériennes dans le lait de riz fortifié en extrait de levure. La souche I a présenté une diminution progressive de la charge bactérienne au début du stockage ; la concentration bactérienne était de log10 6,48 CFU/mL à T0, puis elle a diminué à log10 4,48 CFU/mL après 7 jours de stockage. Par la suite, une reprise de la croissance bactérienne a été observée, traduisant une capacité d'adaptation tardive au milieu. La souche OP a montré une stabilité de la charge bactérienne depuis le début du stockage jusqu'au 14<sup>e</sup> jour, suivie d'une diminution importante à la fin de la période de conservation. Cette diminution pourrait être liée à une mauvaise adaptation au milieu fortifié, à l'épuisement des nutriments disponibles ou à l'accumulation de métabolites inhibiteurs limitant la survie de cette souche. En revanche, la souche K a présenté une stabilité de la charge bactérienne durant toute la période de stockage, Ce résultat indique la capacité de cette souche à survivre et à maintenir sa stabilité dans le milieu fortifié.

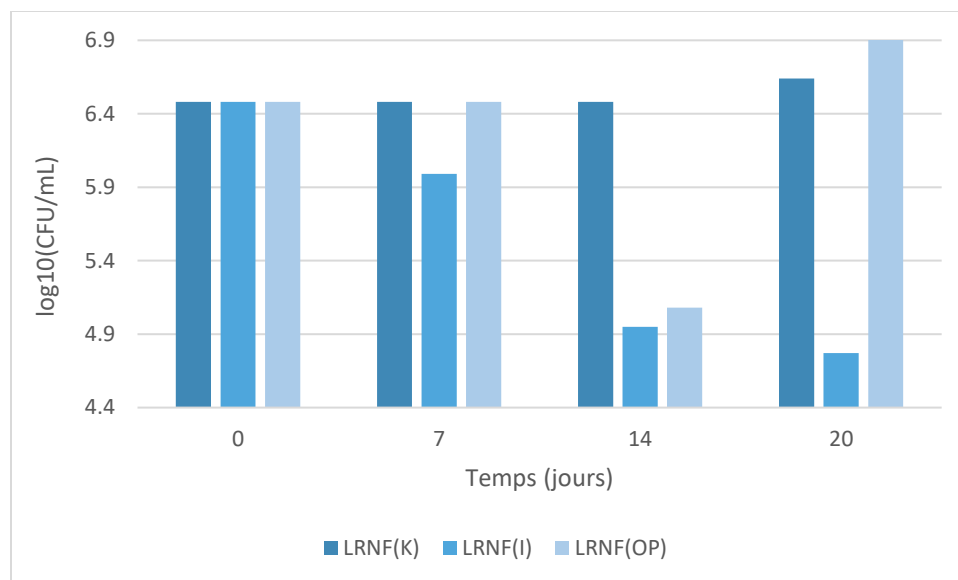


**Figure 18 :** Évolution du dénombrement des bactéries lactiques (log10 CFU/mL) dans le lait LRNF inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps.

#### ➤ Lait de riz non fortifié (LRNF)

La **figure (18)** (LRNF) met en évidence les contraintes de croissance dans le lait de riz non enrichi. La souche K a présenté une charge bactérienne élevée et relativement stable jusqu'à la fin du stockage, traduisant une bonne capacité d'adaptation et de survie dans ce milieu non fortifié. En revanche, la souche I a montré une diminution progressive de la densité bactérienne au cours du temps, atteignant une valeur de log10 4.77 CFU/mL à la fin du stockage. Cette diminution pourrait être expliquée par une faible adaptation au milieu ou par une consommation rapide des nutriments disponibles. La souche OP a présenté un comportement particulier ; après une diminution initiale de la charge bactérienne, une reprise de la croissance a été observée, permettant à cette souche d'atteindre la valeur la plus élevée à la fin de la période de stockage.

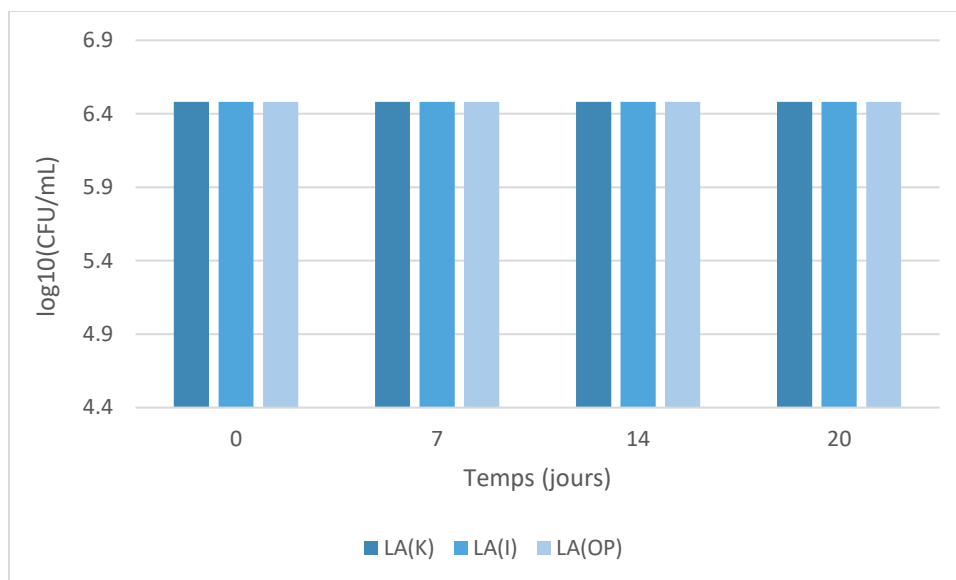


**Figure 19 :** Évolution du dénombrement des bactéries lactiques (log10 CFU/mL) dans le lait LA inoculé par différentes souches bactériennes en fonction du temps.

#### ➤ Lait animal (LA)

La **figure (19)** montre une stabilité complète de la charge bactérienne des trois souches bactériennes (K, I et OP) dans le lait animal (LA) durant toute la période de stockage. Les bactéries lactiques ont maintenu une concentration stable avoisinant log10 6,48 CFU/ml. Cette stabilité suggère que le lait animal constitue un milieu optimal pour le développement et la survie des bactéries lactiques grâce à sa richesse en nutriments essentiels, notamment le lactose, qui représente une source énergétique favorable pour les bactéries lactiques.

### 4.7. Essai de fabrication d'un produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz et de ferment lactique sélectionné

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation du taux d'ensemencement en levain lactique améliore la coagulation et la texture du produit fermenté à base de lait de riz. L'échantillon contenant 15 % de levain a présenté la meilleure coagulation ainsi qu'une texture plus compacte comparativement aux échantillons inoculés à 10 % et 5 %. Ces différences peuvent être attribuées à une activité métabolique plus intense des bactéries lactiques lorsque le taux d'ensemencement est élevé, favorisant une production accrue d'acide lactique et une diminution plus rapide du pH, conditions propices à la formation du coagulum.

Le lait écrémé utilisé lors de la préparation du levain joue un rôle essentiel comme milieu nutritif riche en lactose, protéines et minéraux favorisant l'activation et la multiplication des bactéries lactiques avant leur inoculation dans le lait de riz. Cette étape permet d'obtenir un levain actif assurant une fermentation plus efficace du substrat végétal. (Guntiyastutik et al., 2020)

Par ailleurs, les différences observées entre les formulations peuvent être liées à la faible teneur du lait de riz en protéines coagulables comparativement au lait animal. En effet, les boissons végétales à base de riz présentent naturellement une faible capacité de gélification, ce qui limite la formation d'un coagulum dense après fermentation (Cichońska et al., 2022).

Le rendement final obtenu après égouttage a été de 11 g de produit fini pour un volume initial de 1 L de lait de riz liquide (inoculé avec 15 % de levain), traduisant une faible récupération de matière. Cette faible valeur peut être attribuée à la faible teneur en protéines et en matières sèches du lait de riz (Cichońska et al., 2022), ainsi qu'aux pertes survenues lors de l'égouttage. Malgré cela, le produit obtenu présentait des caractéristiques proches d'un fromage frais, notamment une texture relativement compacte et une légère acidité.



**Figure 20 :** Le type fromage (cheese-like) préparée à base de lait de riz

## 4.8. Résultats de l'analyse sensorielle

### 4.8.1. Analyses sensorielles de différents laits fermentés

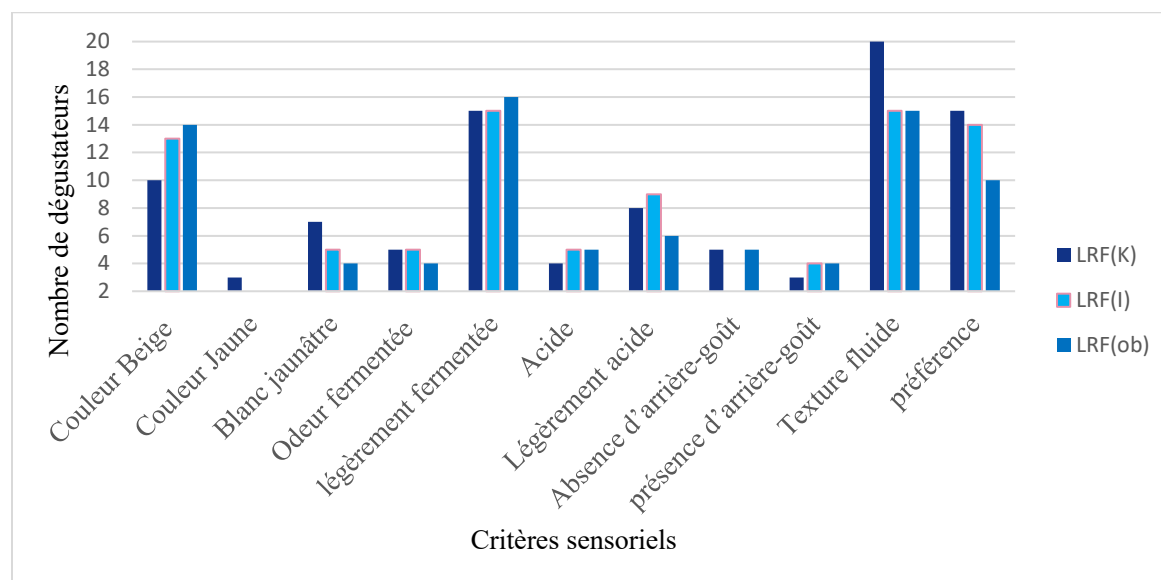


**Figure 21 :** Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LRF fermenté par différentes souches bactériennes

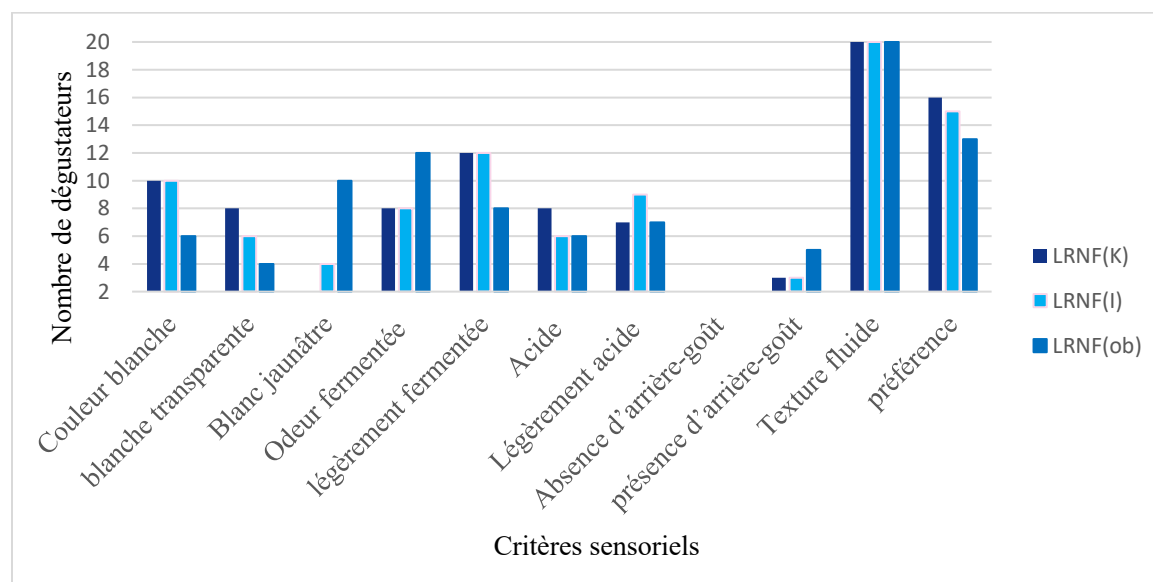


**Figure 22 :** Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LRNF fermenté par différentes souches bactériennes

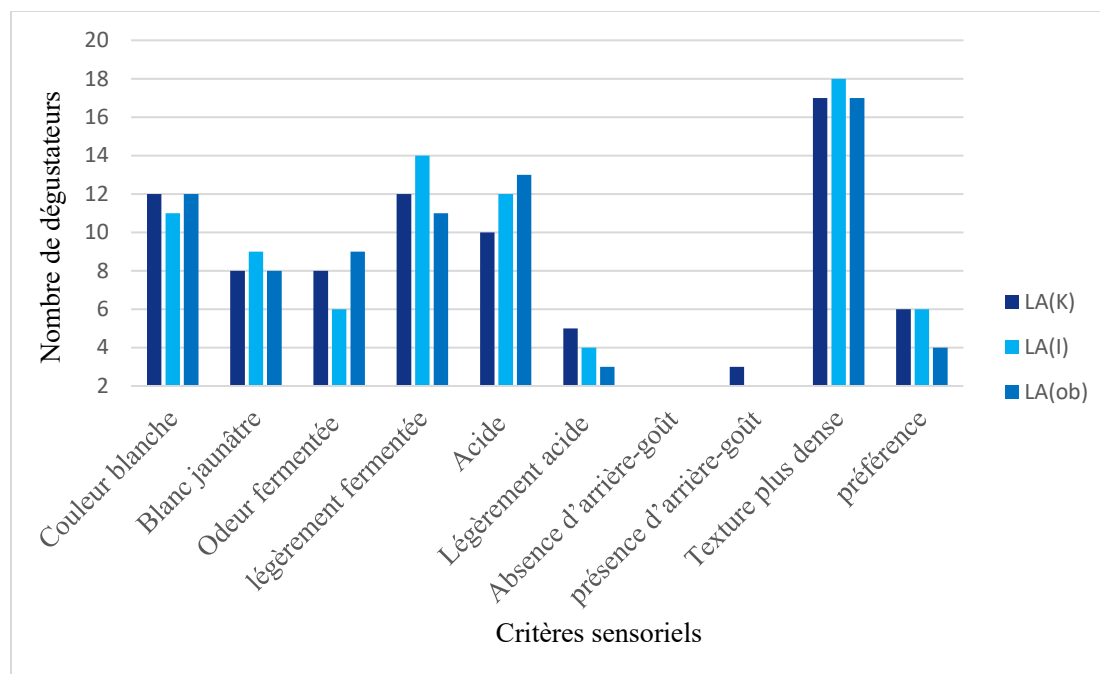


**Figure 23 :** Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels du LA fermenté par différentes souches bactériennes.

Concernant l'échantillon de lait de riz fortifié (LRF), une similarité des caractéristiques visuelles et de la texture a été observée entre les trois souches, avec une dominance de la couleur beige ayant obtenu des scores compris entre 10 et 14. En ce qui concerne l'odeur, la souche (OP) a obtenu le score le plus élevé pour l'odeur fermentaire légère avec 16 points, suivie de la souche (K) avec 15 points, tandis que la souche (I) a obtenu 9 points, traduisant ainsi une différence dans la capacité des souches à produire des composés aromatiques. Quant à la texture, les trois souches ont présenté une similitude dans l'évaluation de la texture liquide, ce qui suggère que le milieu constitue le facteur déterminant dans la formation de la texture. Concernant la préférence globale, la souche (K) a obtenu le score le plus élevé avec 15 points. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'ajout de l'extrait de levure a entraîné une modification des propriétés physicochimiques du milieu, provoquant des réponses métaboliques variables selon les souches bactériennes. Certaines souches ont montré une meilleure capacité d'adaptation et d'utilisation du milieu fortifié, tandis que d'autres semblent avoir été affectées par ces modifications, ce qui s'est reflété sur leurs caractéristiques sensorielles. **Olszewska-Widdrat et al. (2024)**

Concernant l'échantillon de lait de riz non fortifié (LRNF), les évaluations de la couleur blanche et de l'acidité étaient relativement proches pour les souches (K) et (I). En revanche, la

situation était différente pour la souche (OP), qui a obtenu le score le plus faible pour l'acidité (6), ce qui a influencé négativement son appréciation globale, avec un score de préférence de 13 comparativement aux autres souches.

Pour l'échantillon de lait animal (LA), les évaluations obtenues étaient très proches entre les trois souches bactériennes (K, I et OP). Toutes les souches ont reçu des scores élevés concernant l'acidité, ce qui peut être considéré comme normal compte tenu de la richesse nutritionnelle du milieu animal, favorisant une croissance bactérienne plus importante et une fermentation plus intense. Cependant, cette acidité élevée ainsi que l'odeur fermentaire prononcée ont conduit à une diminution de l'acceptabilité sensorielle de ces échantillons par rapport aux laits de riz. Les scores de préférence étaient de 6 pour les souches (K) et (I), et de 4 pour la souche (OP).

D'une manière générale, les milieux végétaux (LRF et LRNF) ont présenté une meilleure acceptabilité sensorielle que le milieu animal (LA). Dans le milieu non fortifié (LRNF), les souches (K) et (I) ont montré une meilleure capacité à produire des caractéristiques sensorielles, notamment en termes d'odeur et d'acidité, davantage appréciées par les dégustateurs. En revanche, dans le milieu fortifié (LRF), les différences sensorielles entre les souches semblaient moins marquées, ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle les compléments nutritionnels peuvent jouer un rôle de « modulateur » des caractéristiques organoleptiques dans les alternatives végétales fermentées.

#### 4.8.2. Analyses sensorielles du type fromage du riz (cheese-like)

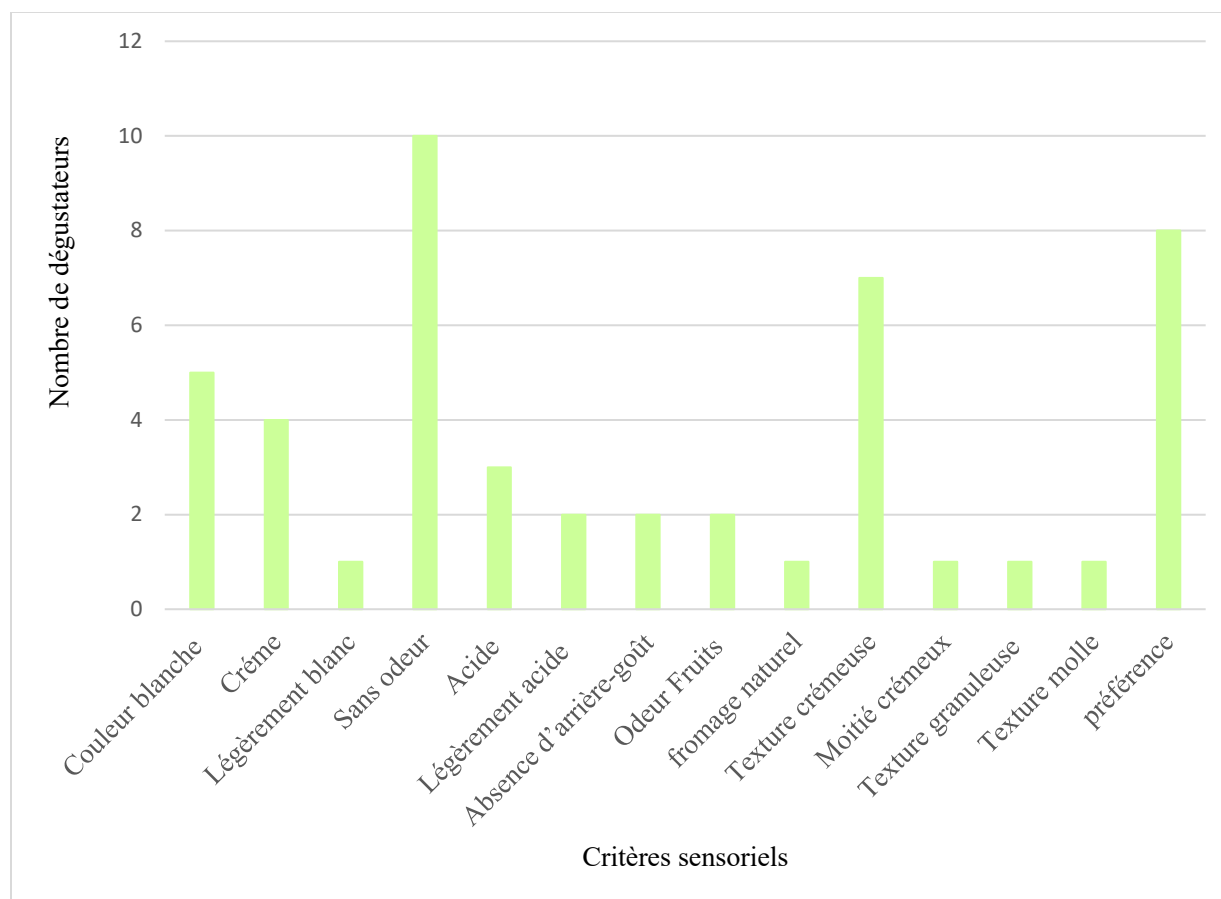


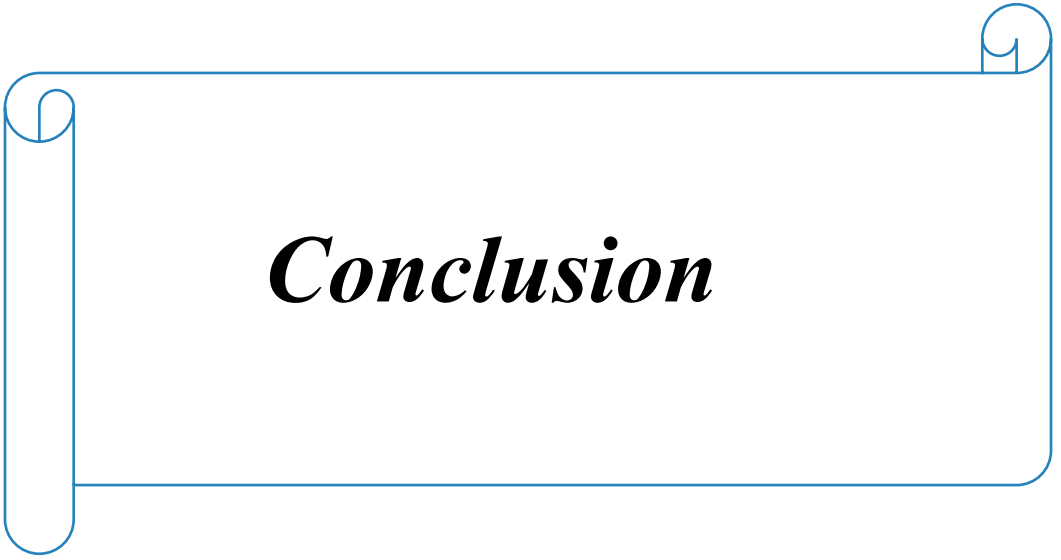
**Figure 24 :** Répartition des notes attribuées aux critères sensoriels des fromages (cheese-like) expérimentaux.

L'analyse sensorielle du fromage de riz de type « cheese-like » (**Figure 24**) montre une appréciation globalement favorable de la part des dégustateurs. Le descripteur « sans odeur » a été cité le plus fréquemment (10 mentions), indiquant un profil aromatique discret et peu volatil — un atout pour l'acceptabilité des fromages végétaux, souvent perçus comme porteurs d'arômes atypiques. Sur le plan visuel, les mentions « blanche » et « crème » dominent, conférant au produit une apparence proche des fromages laitiers classiques et renforçant la familiarité perçue par les consommateurs.

Du point de vue gustatif, la rareté des occurrences des descripteurs « acide », « légèrement acide », « fromage naturel » et des notes fruitées suggère un goût globalement doux et peu marqué. La texture apparaît comme un facteur déterminant de l'acceptabilité : la « texture crémeuse » est l'attribut majoritairement relevé (7 votes), tandis que les perceptions de granulosité ou d'autres

défauts texturaux restent marginales. Ces éléments témoignent d'une structuration matricielle satisfaisante obtenue au cours du procédé de formulation et de fermentation.

Enfin, l'important nombre de réponses positives sur la « préférence globale » (8 votes) confirme une acceptation générale favorable du produit. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que la fermentation permet d'obtenir un fromage végétal aux qualités sensorielles satisfaisantes, en particulier en termes d'onctuosité, d'apparence et d'acceptabilité, malgré un profil aromatique relativement neutre.



## ***Conclusion***

## **Conclusion**

Ce travail a porté sur l'évaluation du potentiel fermentaire de bactéries lactiques isolées de différentes matrices végétales appliquées sur le lait végétal de riz. L'objectif principal était de déterminer la capacité de ces souches à fermenter le lait de riz préparé expérimentalement ainsi qu'à assurer leur viabilité au sein du produit fermenté durant la période de conservation.

Les résultats obtenus ont montré que les différentes souches lactiques étudiées étaient capables de se développer dans le lait de riz et d'y exercer une activité fermentaire importante. Le suivi du pH et de l'acidité titrable a révélé une diminution progressive du pH accompagnée d'une augmentation de l'acidité titrable, traduisant la production d'acides organiques et la bonne adaptation des bactéries lactiques au substrat végétal utilisé. Ce processus a été particulièrement optimisé dans le lait de riz fortifié (LRF), où la souche OP a enregistré la valeur de pH la plus basse (4,04), tandis que les souches K (*Lactococcus* sp.) et I ont permis d'atteindre l'acidité titrable la plus élevée (8 °D). En revanche, dans le lait de riz non fortifié (LRNF), la souche K s'est distinguée avec un pH de 4,27 et une acidité de 3 °D.

Par ailleurs, le suivi microbiologique a confirmé la viabilité des bactéries lactiques dans les différents produits fermentés durant la période de conservation. Les dénombrements réalisés ont montré le maintien de populations bactériennes viables jusqu'au 20<sup>e</sup> jour de stockage, avec des variations selon les souches étudiées. Parmi celles-ci, la souche K (*Lactococcus* sp.) s'est distinguée par une activité fermentaire plus importante et une meilleure stabilité au cours de la conservation aussi bien dans le lait de riz fortifié (LF) 6.48 (log10 UFC/mL) que non fortifié (LRNF) 6.64 (log10 UFC/mL), ce qui a permis de la considérer comme la souche la plus prometteuse.

Les performances de souche K (*Lactococcus* sp.) ont conduit à son utilisation dans la préparation d'un fromage végétal à base de lait de riz. Le produit obtenu a présenté des caractéristiques satisfaisantes, mettant en évidence le potentiel technologique des bactéries lactiques dans le développement de produits fermentés innovants d'origine végétale.

Ainsi, cette étude confirme que le lait de riz constitue un substrat favorable au développement des bactéries lactiques et représente une alternative intéressante aux produits laitiers traditionnels.

Enfin, ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour la valorisation biotechnologique des laits végétaux fermentés. Toutefois, des études complémentaires demeurent nécessaires pour approfondir ces travaux. Pour améliorer cette étude, il sera indispensable de mener les étapes claires suivantes :

1. L'identification moléculaire par séquençage de l'ARNr 16S afin de déterminer l'espèce exacte de la souche la plus prometteuse, K (*Lactococcus* sp.).
2. L'optimisation de la texture et de la synérèse du produit de type fromage (*cheese-like*) par l'incorporation d'hydrocolloïdes naturels (comme l'agar-agar) ou de protéines végétales complémentaires, pour pallier l'absence de caséine.
3. Une caractérisation biochimique approfondie, notamment le dosage par HPLC des acides organiques produits et l'analyse du profil des composés volatils pour améliorer les qualités organoleptiques et l'arôme du produit fini.
4. L'évaluation *in vitro* des propriétés probiotiques de la souche K (résistance aux conditions gastro-intestinales et capacité d'adhésion cellulaire).

## Références :

1. Amini, R. K., Islam, M. Z., Kitamura, Y., & Kokawa, M. (2019). Utilization of fermented rice milk as a novel coagulant for development of paneer (soft cheese). *Foods*, 8(8), 339. <https://doi.org/10.3390/foods8080339>
2. Anumudu, C. K., Miri, T., & Onyeaka, H. (2024). Multifunctional Applications of Lactic Acid Bacteria: Enhancing Safety, Quality, and Nutritional Value in Foods and Fermented Beverages. *Foods*, 13(23), 3714. <https://doi.org/10.3390/foods13233714>
3. Aydar, E. F., Tutuncu, S. et Özçelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*, 70, 103975. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>
4. Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. da, & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202–232. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
5. Ayed, L., M'hir, S., Nuzzolese, D., Di Cagno, R., & Filannino, P. (2024). Harnessing the health and techno-functional potential of lactic acid bacteria: A comprehensive review. *Foods*, 13 (10), 1538. <https://doi.org/10.3390/foods13101538>
6. Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines « Arabia et Kabyle ». *Sciences & Technologie C*, 23, 30–37.
7. Baratte-Euloge, P. (1992). *Action comparée sur la flore intestinale de trois laits fermentés au Bifidobacterium: Évaluation de propriétés probiotiques et du comportement de la*

- souche BB 536 de Bifidobacterium longum chez l'homme* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré–Nancy 1). HAL. <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747531v1>
8. Bartowsky, E. J., & Borneman, A. R. (2011). *Genomic variations of Oenococcus oeni strains and the potential to impact on malolactic fermentation and aroma compounds in wine. Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(3), 441-447.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-011-3546-2>
9. Belyagoubi, L. (2014). *Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens* (Thèse de doctorat, Université d'Oran Ahmed Ben Bella).
10. Boudersa, W., & Nekkaa, R. (2017). *Étude de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté : le yaourt brassé* (Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie).
11. Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665-684.  
<https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
12. Candeliere, F., Sola, L., Busi, E., Rossi, M., Amaretti, A., & Raimondi, S. (2024). The metabolism of *Leuconostoc* genus decoded by comparative genomics. *Microorganisms*, 12(7), 1487. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071487>

13. Chethouna, F. (2021). *Contribution à l'étude des substances antibactériennes produites par la flore lactique isolée à partir du lait camelin (Camelus dromedarius) de la région d'Ouargla* (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla).
14. Cichońska, P., Ziębicka, A., & Ziarno, M. (2022). Properties of rice-based beverages fermented with lactic acid bacteria and *Propionibacterium*. *Molecules*, 27(8), 2558. <https://doi.org/10.3390/molecules27082558>
15. Cirat, R., Benmechernene, Z., Cunedioğlu, H., Rutigliano, M., Scauro, A., Abderrahmani, K., Mebrouk, K., Capozzi, V., Spano, G., & Fragasso, M. (2024). Cross-Over Application of Algerian Dairy Lactic Acid Bacteria for the Design of Plant-Based Products: Characterization of *Weissella cibaria* and *Lactiplantibacillus plantarum* for the Formulation of Quinoa-Based Beverage. *Microorganisms*, 12(10), 2042. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102042>
16. Coelho, M. C., Malcata, F. X., & Silva, C. C. G. (2022). Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. *Foods*, 11(15), 2276. <https://doi.org/10.3390/foods11152276>
17. Daryani, D., Pegua, K., & Aryaa, S. S. (2024). Review of plant-based milk analogue: Its preparation, nutritional, physicochemical, and organoleptic properties. *Food Science and Biotechnology*, 33(5), 1059–1073. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01482-z>
18. Diez-Ozaeta, I., Vázquez-Araújo, L., Estrada, O., Puente, T., & Regefalk, J. (2024). Exploring the role of lactic acid bacteria blends in shaping the volatile composition of fermented dairy and rice-based beverages: A step towards innovative plant-based alternatives. *Foods*, 13(5), 664. <https://doi.org/10.3390/foods13050664>
19. Eicher, C., Coulon, J., Favier, M., Alexandre, H., Reguant, C., & Grandvalet, C. (2024). *Citrate metabolism in lactic acid bacteria: Is there a beneficial effect for Oenococcus*

- oeni in wine? Frontiers in Microbiology*, 14, 1283220.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1283220>
20. El Ahmadi, K., Haboubi, K., El Allaoui, H., El Hammoudani, Y., Bouhrim, M., Eto, B., Shahat, A. A., & Herqash, R. N. (2025). Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria for antimicrobial potential from raw milk. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1565016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565016>
21. Fawzi, N. Y., Abdelghani, D. Y., Abdel-Azim, M. A., Shokier, C. G., Youssef, M. W., Gad El-Rab, M. K., Gad, A. I., & Abou-Taleb, K. A. (2022). The ability of probiotic lactic acid bacteria to ferment Egyptian broken rice milk and produce rice-based yoghurt. *Annals of Agricultural Sciences*, 67(1), 107–118.  
<https://doi.org/10.1016/j.aoas.2022.06.004>
22. García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The *Enterococcus*: A model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), e00058-18.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>
23. Gil-Serna, J., Vázquez, C., & Patiño, B. (2020). Mycotoxins in functional beverages: A review. *Beverages*, 6(3), 52. <https://doi.org/10.3390/beverages6030052>
24. Guntiyastutik, E., Sugiarto, & Nuhrawangsa, A. M. P. (2020). The effect of additional skim and fermentation time on the amount of lactic acid bacteria and the pH of soyghurt. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 456(1), 012072.  
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/456/1/012072>
25. Grand View Research. (2024). *Plant-based milk market size, share & growth report, 2030*. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/plant-based-milk-market-report>

26. Harper, A. R., Dobson, R. C. J., Morris, V. K., & Moggré, G.-J. (2022). Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology*, 15(5), 1404–1421. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14008>
27. Hernández-Figueroa, R. H., López-Malo, A., & Mani-López, E. (2025). Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides: Dual roles as functional ingredients and fermentation agents in food applications. *Fermentation*, 11(9), 538. <https://doi.org/10.3390/fermentation11090538>
28. Hozzein, W. N., Hisham, S. M., & Alkhalifah, D. H. M. (2023). A sustainable method: Production of the fermented rice milk yogurt by using three efficient lactic acid bacteria. *Applied Sciences*, 13(2), 907. <https://doi.org/10.3390/app13020907>
29. International Organization for Standardization. (2007). *ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs: General requirements and guidance for microbiological examinations*. ISO.
30. Johnson, M. E. (2013). Mesophilic and thermophilic cultures used in traditional cheesemaking. *Microbiology Spectrum*, 1(1), Article cm-0004-2012. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.cm-0004-2012>
31. Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2–3), 123–131. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00175-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00175-2)
32. Lahiri, D., Nag, M., Sarkar, T., Ray, R. R., Shariati, M. A., Rebezov, M., Bangar, S. P., Lorenzo, J. M., & Domínguez, R. (2022). Lactic acid bacteria (LAB): Autochthonous and probiotic microbes for meat preservation and fortification. *Foods*, 11(18), 2792. <https://doi.org/10.3390/foods11182792>

33. Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen, R. J. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: A genomic comparison. *BMC Genomics*, 11, 36.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
34. Ma, W., Liu, X., Jing, Y., Zhang, M., Zhang, X., Wang, C., Khan, M. Z., & Zhu, M. (2025). Weissella: From beneficial probiotics to opportunistic pathogens—A review. *Nutrients*, 17(19), 3162. <https://doi.org/10.3390/nu17193162>
35. Mahi, M. (2010). *Étude technologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de brebis* (Magister dissertation, Université d’Oran Ahmed Ben Bella).
36. Marilley, L., & Casey, M. G. (2004). Flavours of cheese products: Metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90(2), 139–159. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00304-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00304-0)
37. Markakiou, S., Neves, A. R., et al. (2020). Streptococcus thermophilus: Physiology and technological properties. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 142–152.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.12.019>
38. Mofredj, A., Bahloul, H., & Chanut, C. (2007). *Lactococcus lactis*: Un pathogène opportuniste? *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37(4), 200–207.  
<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2007.01.005>
39. Olszewska-Widdrat, A., Babor, M., Höhne, M. M.-C., Alexandri, M., López-Gómez, J. P., & Venus, J. (2024). A mathematical model-based evaluation of yeast extract’s effects on microbial growth and substrate consumption for lactic acid production by *Bacillus coagulans*. *Process Biochemistry*, 146, 304–315.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.07.017>

40. Palyvou-Gianna, E., Vilela, T. P., Gomes, A. M., & Ferreira, J. P. (2021). A starch-milk paste enables the incorporation of ripened cheese in novel fresh cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 59(4), 507–518. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.04.21.7262>
41. Papagianni, M., & Anastasiadou, S. (2009). Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*, 8, 3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-3>
42. Ramos da Silva, L., Velasco, J. I., & Fakhouri, F. M. (2022). Use of rice in the development of plant-based milk with antioxidant properties: From raw material to residue. *LWT – Food Science and Technology*, 173, 114271. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114271>
43. Ramsing, R., Santo, R. E., Kim, B. F., Altema-Johnson, D., Wooden, A., Chang, K. B., Semba, R. D., & Love, D. C. (2023). Dairy and plant-based milks: Implications for nutrition and planetary health. *Current Environmental Health Reports*, 10(3), 291–302. <https://doi.org/10.1007/s40572-023-00400-z>
44. Santos, C., Raymundo, A., Moreira, J. B., & Prista, C. (2025). Exploring the potential of lactic acid bacteria fermentation as a clean label alternative for use in yogurt production. *Applied Sciences*, 15(5), 2686. <https://doi.org/10.3390/app15052686>
45. Sethi, S., Tyagi, S. K., & Anurag, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3408–3423. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2328-3>
46. Shiriaev, V. A., Lavrentev, F. V., Morozova, O. V., Ashikhmina, M. S., Goltsman, L. M., Kondrateva, S. A., Kazantceva, U. I., Utkin, R. A., Arseneva, T. P., & Iakovchenko, N. V. (2024). Perspective and quality aspects of fermentation in rice milk: Effects of

- bacterial strains and rice variety. *International Journal of Food Science & Technology*, 59(11), 8150–8160. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17445>
47. Stapleton, A. E., Au-Yeung, M., Hooton, T. M., Fredricks, D. N., Roberts, P. L., Czaja, C. A., et al. (2011). Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a *Lactobacillus crispatus* probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection. *Clinical Infectious Diseases*.
48. Todorov, S. D., Dioso, C. M., Liong, M.-T., Nero, L. A., Khosravi-Darani, K., & Ivanova, I. V. (2022). Beneficial features of *Pediococcus*: From starter cultures and inhibitory activities to probiotic benefits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03419-w>
49. Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
50. Xie, A., Dong, Y., Liu, Z., Li, Z., Shao, J., Li, M., & Yue, X. (2023). A review of plant-based drinks addressing nutrients, flavor, and processing technologies. *Foods*, 12(21), 3952. <https://doi.org/10.3390/foods12213952>
51. Yang, H., Hao, L., Zhao, D., Zheng, J., & Wu, C. (2025). Lactic acid bacteria in fermented foods: Diversity, function and adaptation mechanisms. *Food Science and Human Wellness*. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2025.9250674>
52. Yang, X., Hong, J., Wang, L., Cai, C., Mo, H., Wang, J., Fang, X., & Liao, Z. (2024). Effect of lactic acid bacteria fermentation on plant-based products. *Fermentation*, 10(1), 48. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010048>
53. Zandona, L., Lima, C., & Lannes, S. (2020). Plant-Based Milk Substitutes: Factors to Lead to Its Use and Benefits to Human Health. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93955>

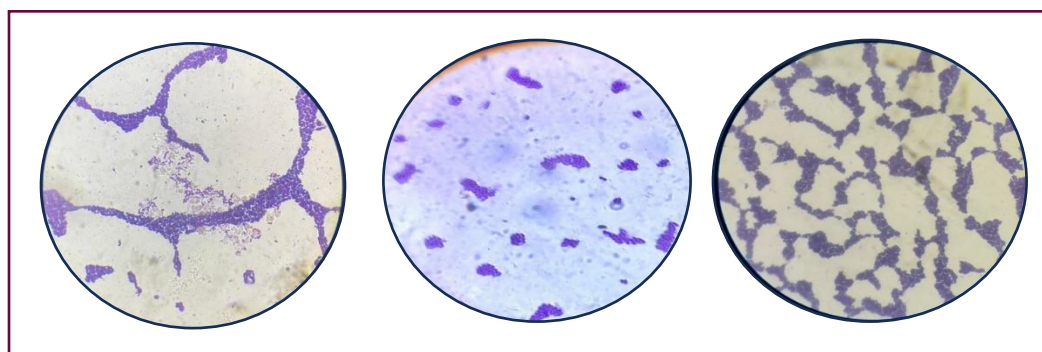
54. Zeltzer, P., Moyer, O., & Philibert, S. (2022). Graduate student literature review: Labeling challenges of plant-based dairy-like products for consumers and dairy manufacturers. *Journal of Dairy Science*, 105, 9488–9495. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21924>
55. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
56. Zhang, H., & Cai, Y. (2014). *Lactic acid bacteria: Fundamentals and practice*. Springer.

## Annexe 1

### Résultats de vérification de pureté des souches bactériennes



Aspect du bouillon MRS après incubation les différentes souches lactiques



Aspect microscopique des souches OP, I, K respectivement après coloration de GRAM Gr $\times$ 100



Résultat du test de la catalase pour les trois souches bactériennes (OP, K, I)

## Annexe 2

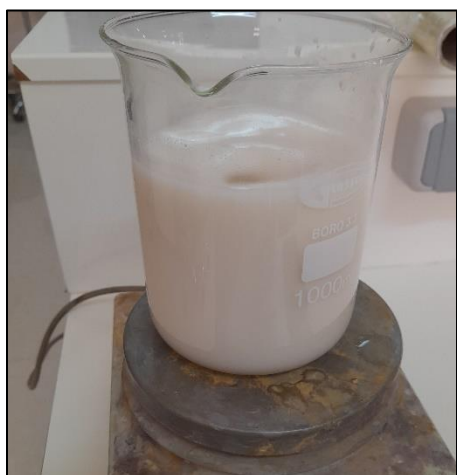
### Principales étapes de la préparation de lait de riz



**Broyage du riz avec l'eau**



**Filtration de lait de riz**



**Fortification de lait de riz**



**Conservation des produits fermentés à 4°C**

### **Annexe 3**

#### **Coloration différentielle de Gram :**

##### **Préparation du frottis**

- 1) Une colonie bien isolée est prélevée à partir de la culture à analyser, puis elle est placée sur une lame propre.
- 2) Déposez une goutte d'eau distillée stérile sur la lame et étalez-la à l'aide d'un mouvement circulaire (1 frottis doit être fin et homogène).
- 3) Séchez et fixez le frottis à l'aide de la chaleur en le passant trois fois sur la flamme du bec Bunsen.

##### **Réalisation de la coloration**

- 4) Verser le violet de gentiane sur la lame, laisser en contact 1 minute ;
- 5) Jeter le colorant et finir de la chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 1 minute
- 6) Jeter le Lugol et faire couler l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau ;
- 7) la préparation de Safranine Fushine, laisser agir environ 1 minute. Laver abondamment.
- 8) Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bensen
- 9) Mettre une goutte d'huile à immersion sur la lame totalement sèche ;  
Observer au microscope à l'objectif x 100.

**Annexe 4****Composition du milieu MRS Gélose (Pour 1 litre)**

|                                         |         |
|-----------------------------------------|---------|
| Digesté enzymatique de caséine .....    | 10,00 g |
| Extrait de viande .....                 | 10,00 g |
| Extrait de levure .....                 | 4,00 g  |
| D (+)-Glucose .....                     | 20,00 g |
| Acétate de sodium .....                 | 5,00 g  |
| Citrate de triammonium .....            | 2,00 g  |
| Sulfate de magnésium heptahydraté ..... | 0,20 g  |
| Sulfate de manganèse tétrahydraté ..... | 0,05 g  |
| Phosphate dipotassique .....            | 2,00 g  |
| Polysorbate 80 (Tween 80) .....         | 1,08 g  |
| Agar-agar .....                         | 14,00 g |
| pH Final (à 25 °C) : 5,7 ± 0,1          |         |

**Lait écrémé**

Lait écrémé..... 100 g

Eau distillée..... 1000 ml

Autoclavage 110°C, 10 minutes

## Annexe 5

## Fiche de dégustation : Analyse sensorielle des laits fermentés par des bactéries lactiques

Nom du dégustateur :

fonction : étudiant

Age :

Date :

| Tests   | Critères sensoriels     | Souches bactéries lactiques (K * I * OP) | Echantillon LRF | Echantillon LRNF | Echantillon LA |
|---------|-------------------------|------------------------------------------|-----------------|------------------|----------------|
| Couleur | Blanche                 |                                          |                 |                  |                |
|         | Beige                   |                                          |                 |                  |                |
|         | Jaune                   |                                          |                 |                  |                |
|         | Blanc jaunâtre          |                                          |                 |                  |                |
|         | Préférence              |                                          |                 |                  |                |
| Odeur   | Odeur fermentée         |                                          |                 |                  |                |
|         | Légèrement fermentée    |                                          |                 |                  |                |
|         | Préférence              |                                          |                 |                  |                |
| Goût    | Acide                   |                                          |                 |                  |                |
|         | Légèrement acide        |                                          |                 |                  |                |
|         | Absence d'arrière-goût  |                                          |                 |                  |                |
|         | Présence d'arrière-goût |                                          |                 |                  |                |
|         | Préférence              |                                          |                 |                  |                |
| Texture | Texture fluide          |                                          |                 |                  |                |
|         | Texture plus dense      |                                          |                 |                  |                |
|         | Préférence              |                                          |                 |                  |                |

## Annexe 6

**Fiche de dégustation : Analyse sensorielle du produit de type fromage (cheese-like) à base de lait de riz**

**Nom du dégustateur :**

**fonction : étudiant**

**Age :**

**Date :**

| Tests   | Critères sensoriels    | Echantillon<br>de type fromage (cheese-like) |
|---------|------------------------|----------------------------------------------|
| Couleur | Blanche                |                                              |
|         | Crémé                  |                                              |
|         | Légèrement blanc       |                                              |
|         | Préférence             |                                              |
| Odeur   | Sans odeur             |                                              |
|         | Fruits                 |                                              |
|         | Acide                  |                                              |
|         | Préférence             |                                              |
| Goût    | Légèrement acide       |                                              |
|         | Absence d'arrière-goût |                                              |
|         | Préférence             |                                              |
| Texture | Fromage naturel        |                                              |
|         | Crémeuse               |                                              |
|         | Moitié crémeux         |                                              |
|         | Granuleuse             |                                              |
|         | Molle                  |                                              |
|         | Préférence             |                                              |

## Annexe 7

**Analyse physicochimique de lait végétale fortifié, non fortifié, et un lait animal fermenté avec des trois souches de bactéries lactiques :**

### 1.1 Lait végétal fortifié (souche k)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>5.65</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>5,91</b> | <b>5°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>5.50</b> | <b>6°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>5.04</b> | <b>7°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>4,82</b> | <b>8°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>4,82</b> | <b>8°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4,67</b> | <b>8°D</b>     |

### 1.2 Lait végétal non fortifié (souche k)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal non fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>4.98</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>4,92</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>4,86</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>4,72</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>4.62</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>4,54</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4,27</b> | <b>3°D</b>     |

### 1.3 Lait animal (souche k)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait animal

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>    | <b>Acidité</b> |
|------------------|--------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>6, 51</b> | <b>30°D</b>    |
| <b>1h</b>        | <b>6,49</b>  | <b>22°D</b>    |
| <b>2h</b>        | <b>6,43</b>  | <b>19°D</b>    |
| <b>3h</b>        | <b>6,35</b>  | <b>14°D</b>    |
| <b>4h</b>        | <b>6,19</b>  | <b>19°D</b>    |
| <b>5h</b>        | <b>6.10</b>  | <b>19°D</b>    |
| <b>18h</b>       | <b>5,37</b>  | <b>38°D</b>    |

### 2.1 Lait végétal fortifié (soucheI)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>5.82</b> | <b>7°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>5.74</b> | <b>7°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>5.44</b> | <b>8°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>4.99</b> | <b>9°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>4.95</b> | <b>6°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>4.99</b> | <b>6°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4.85</b> | <b>8°D</b>     |

## 2.2 Lait végétal non fortifié (soucheI)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal non fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>5.22</b> | <b>5°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>5.11</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>4.94</b> | <b>1°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>4.78</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>4.62</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>4.53</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4.35</b> | <b>5°D</b>     |

## 2.3 Lait animal (soucheI)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait animal

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>6.59</b> | <b>24°D</b>    |
| <b>1h</b>        | <b>6.51</b> | <b>10°D</b>    |
| <b>2h</b>        | <b>6.41</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>3h</b>        | <b>6.25</b> | <b>20°D</b>    |
| <b>4h</b>        | <b>6.12</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>5h</b>        | <b>6.02</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>18h</b>       | <b>5,29</b> | <b>49°D</b>    |

### 3.1 Lait végétal fortifié (soucheOP)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>5.67</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>5.59</b> | <b>4°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>5.49</b> | <b>3°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>5.38</b> | <b>5°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>5.30</b> | <b>6°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>5.20</b> | <b>6°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4.06</b> | <b>5°D</b>     |

### 3.2 Lait végétal non fortifié (soucheOP)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait végétal non fortifié

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>5.29</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>1h</b>        | <b>5.21</b> | <b>3°D</b>     |
| <b>2h</b>        | <b>5.11</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>3h</b>        | <b>4.93</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>4h</b>        | <b>4.84</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>5h</b>        | <b>4.74</b> | <b>2°D</b>     |
| <b>18h</b>       | <b>4.63</b> | <b>3°D</b>     |

### 3.3 Lait animal (soucheOP)

Tableau : Suivi cinétique de la fermentation du lait animal

| <b>Temps (H)</b> | <b>PH</b>   | <b>Acidité</b> |
|------------------|-------------|----------------|
| <b>0h (t0)</b>   | <b>6.50</b> | <b>20°D</b>    |
| <b>1h</b>        | <b>6.48</b> | <b>12°D</b>    |
| <b>2h</b>        | <b>6.46</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>3h</b>        | <b>6.44</b> | <b>15°D</b>    |
| <b>4h</b>        | <b>6.41</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>5h</b>        | <b>6.37</b> | <b>19°D</b>    |
| <b>18h</b>       | <b>6.06</b> | <b>39°D</b>    |

Tableau : Évolution de la charge microbienne de différents laits fermentés au cours du stockage

| <b>Paramètres</b>                                              | <b>Lait végétale fortifié</b> | <b>Lait végétale non fortifié</b> | <b>Lait de vache UHT</b> |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| <b>Numération microbienne à T0 (log10 UFC/mL) (OP)</b>         | <b>6.48</b>                   | <b>6.48</b>                       | <b>6.48</b>              |
| <b>Numération microbienne à T0 (log10 UFC/mL) (k)</b>          | <b>6.48</b>                   | <b>6.48</b>                       | <b>6.48</b>              |
| <b>Numération microbienne à T0 (log10 UFC/mL) (I)</b>          | <b>6.48</b>                   | <b>6.48</b>                       | <b>6.48</b>              |
| <b>Numération microbienne après 7 jours (log10 UFC/mL) (I)</b> | <b>4.48</b>                   | <b>5.99</b>                       | <b>6.48</b>              |

|                                                                              |             |             |             |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Numération<br/>microbienne après 7<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (k)</b>   | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 7<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (OP)</b>  | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 14<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (OP)</b> | <b>6.48</b> | <b>5.08</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 14<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (K)</b>  | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 14<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (I)</b>  | <b>6.48</b> | <b>4.95</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 20<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (OP)</b> | <b>4.48</b> | <b>6.98</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 20<br/>jours (log10<br/>UFC/mL) (K)</b>  | <b>6.48</b> | <b>6.64</b> | <b>6.48</b> |
| <b>Numération<br/>microbienne après 20</b>                                   | <b>6.48</b> | <b>6.64</b> | <b>6.48</b> |

| jours (log10<br>UFC/mL) (I) |  |  |  |
|-----------------------------|--|--|--|
|-----------------------------|--|--|--|