

LES BACTÉRIES LACTIQUES DANS L'ÉLABORATION DU SMEN MAROCAIN

LACTIC ACID BACTERIA IN PROCESSING MAROCCAN SMAN

par **Dahmane Sakili**¹, **Driss Issoual**²

RÉSUMÉ

Cette étude présente les variations de la composition des bactéries lactiques du smen marocain au cours de son élaboration et l'état de sa qualité organoleptique en fonction de la saison de la récolte du lait. Ce produit typiquement national est préparé selon la technique artisanale : le beurre fermier obtenu après barattage du lait fermenté à température ambiante et lavé, salé et malaxé par plusieurs personnes, puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et conservé dans un endroit frais et obscur. Cette préparation est caractérisée par les conditions suivantes : absence de traitement thermique ; salage comme seule procédure de conservation et conservation du produit en anaérobiose et à température ambiante. Au cours de la maturation du smen marocain, *Lactococcus* et lactobacilles thermophiles disparaissent progressivement, alors que les lactobacilles mésophiles se multiplient activement et prédominent en fin d'affinage. Les lactobacilles hétérofermentaires, d'intérêt négligeable dans la maturation, n'apparaissent qu'en fin d'affinage avec l'altération du produit. *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus* sont, par ordre décroissant, les espèces dominantes. La nature saisonnière du lait a une incidence directe sur la qualité du produit élaboré: Le smen de la saison du printemps, dont les lactobacilles sont dominants, a des propriétés organoleptiques très appréciées par le consommateur marocain. En revanche le smen de la saison d'hiver, dont les lactobacilles sont secondaires, a des propriétés organoleptiques non désirées par le consommateur. La technique artisanale est relativement efficace pour l'élaboration d'un smen de qualité aux termes des caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques. Son succès se justifie davantage par l'état initial de la matière grasse, la nature saisonnière du lait et le respect des prescriptions que l'opérateur doit apporter à cette technologie.

Mots clés : Smen / Bactérie lactique / Effet saison / Conservation.

SUMMARY

This study presents the season effect on the composition, evolution of lactic acid bacteria and organoleptic quality of Moroccan smen during its maturation. This national typically

¹ Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia , Maroc. Tél.(05)574497 - Fax.574485 - dsakili@hotmail.com

² Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences, Département de Biologie Meknès, Maroc.

product is prepared according to artisanal technique: the butter obtained after churning fermented milk spontaneously at room temperature is followed by washing, salting and mixing by different operators, then conditioned into earthenware pots hermetically closed and stored in a fresh dark room.

Thus smen processing is characterized by specific conditions: no heat treatment; salting as only preservative procedure; storage at room temperature and under anaerobic conditions. Four samples of smen were prepared: two of them (A, B) corresponding to samples from Spring season; the others (C, D) samples from Winter season. The four samples were tested at the end processing, by the taste panel, for their organoleptic quality.

Samples of the product were taken for microbiological analysis at regular intervals during one year. The first was done from the fresh traditional butter, the others in the salt product (salting was done the day following that processing butter). After centrifugation of product, appropriate dilutions were prepared from the aqueous phase. Isolation, purification, and identification of lactic acid bacteria strains were done according to the media and methods described in the literature.

During the processing of Moroccan smen, lactococcus and lactic streptococcus, which are sensible to free fatty acid, disappear completely at the beginning of the affinage step. Lactobacilli use fatty acids as nutrients and known to be resistant to their inhibitory effect, they grow at the beginning of the affinage step, follow a slow decrease but do not disappear completely at the end of affinage.

*The identified species belong to three bacterial groups: streptobacterium, thermobacterium and betabacterium. *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus* and *Lb. helveticus* are the predominant species in a decreasing order. The frequency of these groups in a given sample is presented in a table VI which shows a clear predominance of: (a) streptobacterium when compared to thermobacterium and much more to betabacterium of Spring season samples (A+B); (b) streptobacterium and thermobacterium of (A+B) samples, in comparison with the same groups of Winter season samples (C+D); (c) betabacterium when compared to thermobacterium of Winter season samples (C+D) and betabacterium of Spring season samples (A+B).*

Thermophilic lactobacilli although more represented the beginning the affinage step, disappeared also progressively while mesophilic lactobacilli continues to grow actively and predominate at the end of the affinage. Furthermore, betabacterium, which has a little role during processing, appear at the end of the affinage with the deterioration of product. Season effect has a direct incident on the elaborated product quality: Spring season smen less lipolysed in which dominant lactobacillus has a well appreciated organoleptic properties by the moroccan customer. However, Winter season smen more lipolysed in which lactobacillus are less representative has bad organoleptic properties. Artisanal technique is relatively efficient for the processing of a smen with good quality in term of physico-chemical, microbiological and organoleptic parameters. Its success is more justified by the initial state of fat, effect season of the milk and the respect of the prescriptions that the maker must contribute to this technology.

Key words: *Smen / Lactic Acid Bacteria /Effect season / Storage.*

1. INTRODUCTION

Le Smen est un produit laitier fermenté, fabriqué à partir du lait cru entier par des méthodes empiriques basées sur des expériences de l'ancien temps. Le beurre fermier obtenu par barattage du lait fermenté est lavé, salé, malaxé puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante.

Ce produit très apprécié par le consommateur marocain pour ses qualités gustatives et diététiques, est utilisé comme additif des produits alimentaires pour remonter le goût et l'arôme de certaines recettes traditionnelles marocaines (couscous, tajine, poulet ...). Sa propriété d'aliment de forte énergie est exploitée en médecine traditionnelle pour atténuer les douleurs de la sensation du froid qui accompagne la toux, le rhumatisme et le traumatisme osseux (voie orale et massage).

Les premières investigations physico-chimiques et microbiologiques de ce produit, ont montré qu'au cours de sa maturation, il subit une forte lipolyse d'origine microbienne (3, 18). Ainsi les levures et les moisissures disparaissent très tôt du smen; Quant aux bactéries gram-positives, elles persistent avec des populations très significatives, à des stades avancés de la maturation (24, 29).

Ces travaux antérieurs, la place importante qu'occupent les bactéries lactiques (lactobacilles et Lactococcus) dans l'affinage de certains fromages plus ou moins apparentés au smen, l'influence majeure qu'elles ont sur les caractéristiques gustatives, aromatiques et rhéologiques de ces produits et leur résistance à l'acidité des produits de long affinage, nous ont incités à penser que les bactéries lactiques sont les principaux agents de la maturation du smen marocain.

L'efficacité de la maturation devrait dépendre d'un ensemble de paramètres. En plus de l'état initial du lait à fermenter, de la saison de collecte, l'analyse quantitative et qualitative des bactéries lactiques du smen, la connaissance de leurs particularités biologiques s'avèrent indispensables pour la maturation d'un smen de qualité. En effet les souches qui entrent dans la maturation de ce produit, sans doute en nombre élevé, sont assez mal connues. Leurs caractères physiologiques et biochimiques qui commandent pourtant leurs comportements et leurs actions dans l'élaboration de ce produit, sont encore souvent insuffisamment définis ou mal fixés et il en résulterait des variations préjudiciables à la constance et à la qualité de la fabrication. Par ailleurs, l'isolement et la purification de nouvelles souches devraient permettre de mettre à la disposition de l'industrie laitière des levains aux potentialités plus diversifiées. Il en résulterait l'industrialisation de ce produit jusqu'à présent artisanal, un bon contrôle de sa qualité, un élargissement de la gamme des fabrications et un meilleur approvisionnement du marché national en ce produit très apprécié par le consommateur marocain et dont la demande est de plus en plus accrue.

Le présent travail essaie d'étudier l'ensemble de ces paramètres et l'impact de l'effet saison sur la maturation et la caractérisation du smen marocain.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Technologie traditionnelle du Smen

Un mélange de 150 litres de lait récolté à partir de 135 vaches laitières de race Pie-noire est transporté au laboratoire dans des bidons préalablement lavés et désinfectés. Après sa fermentation, à température ambiante 18°C - 24°C, pendant 24h à 48 heures, selon la saison, la crème fermentée est barattée dans une jarre en terre cuite. De l'eau tiède est ajoutée en fin de barattage pour permettre la séparation de la matière grasse. Celle-ci est recueillie dans un récipient dans lequel elle est lavée plusieurs fois pour éliminer le babeurre qui lui est incorporé. La matière grasse est transformée en Smen selon la méthode artisanale qui consiste en son lavage, suivi de son salage et de son conditionnement dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur pendant six mois à une année, au bout de laquelle le smen est considéré comme élaboré. Cette préparation fait ressortir les caractéristiques suivantes : absence de tout traitement thermique ; le salage est le seul élément de conservation ; Les conditions de stockage, anaérobiose et température ambiante sont originales.

Cette opération de préparation de smen a été répétée quatre fois en une année, ce qui a permis la préparation de quatre échantillons du smen A, B, C et D. Les échantillons A et B ont été fabriqués à partir d'un lait du printemps-début été correspondant à des périodes de forte production; les échantillons C et D, d'un lait d'automne début hiver de basse production.

Des prélèvements du produit pour analyses microbiologiques, physico-chimiques sont effectués, pendant une année, à intervalles plus ou moins réguliers. Le premier prélèvement a été effectué le jour même de la préparation du produit à partir du beurre non salé (fermier); les autres, du produit salé par des personnes différentes le jour qui suit.

2.2 Analyses microbiologiques

Des prélèvements de masse suffisante de smen sont effectués de façon aseptique pour remplir des gobelets préalablement stérilisés qu'on place dans un bain-marie réglé à 45°C pour fusion du produit. La matière grasse est ensuite centrifugée à 3000tr/mn pendant 10 mn. La phase aqueuse constituant la dilution mère à partir de laquelle des dilutions appropriées seront préparées, est récupérée, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, dans un tube à essai stérile.

2.2.1 Dénombrement des bactéries lactiques

Les milieux utilisés pour la culture des lactobacilles, des Lactococcus et des Leuconostocs sont respectivement les suivants :

- le milieu MRS : Peptone 1% : 10g, Extrait de viande : 10g, Extrait de levure : 5g, Glucose : 20g, Tween 80 : 1ml, $K_2H_2PO_4$: 2g, $MgSO_4, 3H_2O$: 5g, Citrate d'ammonium : 2g, $MgSO_4, 4H_2O$: 0,05g, Agar :15g et 1000 ml d'eau distillée. pH=6,2, stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn. Ce milieu très riche, permet un développement rapide de toutes les espèces de lactobacilles.
- le milieu Chalmers : Lactose : 10g, Peptone de viande : 3g, Extrait de viande: 3g, extrait de levure : 3g, Agar : 1g, Carbonate de calcium précipité : 15g, Solution aqueuse de rouge neutre : 5ml et 100 ml d'eau distillée, de pH = 6.8, stérilisé à l'autoclave à 100°C pendant 20 mn. Ce milieu permet une meilleure reconnaissance de ces bactéries qui s'entourent d'une auréole transparente caractéristique de leur présence.
- le milieu hypersaccharosé : Extrait de viande : 10g, Extrait de levure : 3g, Bactocasitone : 3,5g, Saccharose : 15g, Phosphate dipotassique : 2g, NaCl : 1g, $MgSO_4, 7H_2O$: 0,2g, Agar : 15g et 1000 ml d'eau distillée, pH = 6.8, stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn.

L'ensemencement des boîtes de Pétri des lactobacilles, des *Lactococcus* et des *Leuconostoc* se fait dans la masse et sont incubées dans une jarre d'anaérobiose à 30°C pendant 48 heures. Le dénombrement des divers groupes bactériens est effectué à l'aide d'un compteur de colonies microbiennes (New Brunswick scientific CO Model C-100 6327). Les résultats sont exprimés en nombres de cellules par ml du non gras de la phase aqueuse.

2.2.2 Isolement et purification

Après dénombrement, les colonies apparemment caractéristiques des groupes bactériens à étudier sont prélevées des boîtes de Pétri pour étude de la morphologie.

Les bactéries, bâtonnets ou cocci, gram-positives, catalase négative; ne produisant pas de dégagement d'oxygène lorsqu'elles sont dissociées sur une goutte d'eau oxygénée, sont retenues comme étant des bactéries lactiques. Après culture d'une dizaine de souches de ces dernières sur les bouillons de leurs milieux précités, des ensemencements en stries sur leurs milieux gélosés sont réalisés et mis en incubation à 30°C pendant 24 heures. Parmi les colonies bien isolées et purifiées qui apparaissent sur boîtes de Pétri, une colonie bien caractéristique est prélevée de chaque boîte et conservée à 4°C sur tubes à gélose inclinée en vue de son identification. Des repiquages successifs de ces souches isolées sur leurs milieux sont réalisés tous les 2 mois après passage intermédiaires sur bouillons correspondants.

2.2.3 Identification des bactéries lactiques

L'identification des souches bactériennes est faite selon les critères biochimiques préconisés par De Roissart et Luquet (8) et selon la "classification de Bergey's *manual of determinative bacteriology* (4).

2.3 Analyse sensorielle

Les échantillons: A, B, C et D ont fait l'objet, en fin d'affinage, d'appréciation d'un panel de dégustation pour leurs propriétés organoleptiques.

Le jury de dégustation se compose de 5 personnes connues pour leurs performances à la discrimination des odeurs et à la répétabilité des notations.

Les échantillons A, B, C et D munis de leur fiche individuelle où sont indiqués les caractères communs de l'étude avec leurs descriptifs, sont placés sur une table à côté d'un échantillon de smen témoin : de bonne consistance, d'arôme plaisant et de saveur légèrement acide. Les dégustateurs sont appelés à analyser les échantillons caractère par caractère et à les comparer au témoin et aux caractéristiques organoleptiques que devrait avoir un smen de qualité (expériences empiriques et/ou académiques). Le descriptif du caractère le plus approuvé par le jury, est retenu pour sa propre notation. Il est bon de signaler que les membres de jury ne savaient rien de l'origine des échantillons.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 Évolution des populations des bactéries lactiques

3.1.1 Les *Lactococcus*, les *Streptococcus* et les *Leuconostoc*

Les résultats concernant l'évolution de ces populations sont consignés dans le tableau I. Le dénombrement des populations de *Leuconostoc* sur milieu hypersaccharosé n'a pas été possible. Les boîtes de Pétri, du fait de la concentration élevée en saccharose, ont été complètement envahies par des levures et moisissures qui empêchaient la croissance de ces bactéries.

L'analyse de ces résultats montre que le nombre des *Lactococcus* et *Streptococcus* est important dans le smen au premier prélèvement, diminue très nettement dès la première semaine après le salage et s'annule dans les prélèvements ultérieurs. Cette diminution est plus marquée dans les échantillons C et D que dans les échantillons A et B. Elle est le résultat de l'action conjuguée d'un ensemble de paramètres. L'effet du sel est, en partie, responsable de la diminution des *Lactococcus* et *Streptococcus* au deuxième prélèvement à une semaine après salage du produit. Quant à leur disparition, elle ne peut lui être imputée; les teneurs en chlorure de sodium de la phase aqueuse enregistrées dans les différents échantillons sont bien en deçà des valeurs généralement considérées comme limitantes des *Lactococcus* (4% à 6% suivant les espèces (8, 9)); la valeur la plus élevée n'étant que de 2%).

Tableau I : Évolution des *Lactococcus* et des *Streptococcus* du smen en rapport avec certains paramètres physico-chimiques.

*Table I : Evolution of Smen *Lactococcus* and *Streptococcus* population with some physico-chemical parameters.*

Paramètres	Population bactériennes (cellule/ml du non gras)			Degré de lipolyse (% matière grasse)			Teneur en NaCl (% Non gras)		
	1 j	8 j	120 j	1 j	8 j	120 j	1 j	8 j	120 j
A	6.10 ⁶	4.10 ⁶	0	1.7	2.5	10.7	0.4	1.9	2
B	4.10 ⁶	2.10 ⁶	0	1.8	2.8	10.7	0.4	2.1	1.7
C	3.60 10 ⁶	5.10 ⁴	0	3	3.2	15.4	0.4	1.9	2.2
D	2.10.10 ⁶	0	0	2.5	4.8	15.8	0.5	1.6	1.55

Xj : âge du smen

A B= échantillons de la saison du printemps

C D= échantillons de la saison d'hiver.

L'accumulation des acides gras dans le smen a une influence majeure sur l'évolution de ces bactéries. La diminution modérée et progressive des *Lactococcus* des échantillons A et B est le résultat d'une lipolyse modérée et progressive qui caractérise la maturation des échantillons du printemps. Quant à la diminution marquée et accentuée de ces bactéries dans les échantillons C et D, elle est due à une lipolyse précoce et accentuée caractéristique de la saison d'hiver (tab. IX). La présence ou l'absence des *Lactococcus* dans le smen marocain dépend de son degré de lipolyse. Le smen de la saison du printemps de lipolyse modérée peut, au début de son affinage, héberger des *Lactococcus*. Cela est rarement le cas pour un smen d'hiver de lipolyse précoce et accentuée (naturellement lipolysé).

Des résultats analogues ont été rapportés par un grand nombre de chercheurs pour certains fromages en maturation (5, 21, 33).

L'identification des souches isolées a permis de déceler la présence dans le smen de différentes espèces de Lactococcus à des fréquences variables (tab. II). Cinq souches isolées pour Lactococcus se sont avérées être des Leuconostoc (9,43%), avec leur morphologie et leur caractère hétérofermentaire et neuf souches (16,98%) n'ont pu être identifiées par la galerie classique d'identification.

Tableau II : Espèces de Lactococcus rencontrées dans le smen marocains (%).
Table II : Lactococcus et Streptococcus species isolated in Moroccan Smen(%).

Espèces	Fréquence des souches
<i>Lc. lactis ssp.lactis</i>	32.07
<i>Lc.lactis ssp.lactis var diacetylactis</i>	30.18
<i>Lc.lactis ssp. cremoris</i>	1.88
<i>.Sc thermophilus</i>	9.43
<i>Lc. raffinolactis</i>	0
Souches indéterminées	16.98
Nombre total des souches	53
 <i>Leuconostoc</i>	 9.43

Les deux espèces dominantes dans le smen, *Lc. lactis ssp.lactis* et son *biovar. diacetylactis* sont aussi les deux espèces les plus fréquentes dans le lben (30). En effet, hormis, leur aptitude à la dégradation de grosses molécules protéiques (13, 31), ces espèces supportent mieux l'action de l'acidité et du salage du produit. En revanche *Sc.thermophilus*, actuellement appelé *Sc salivarius Subsp.thermophilus* (22), moins halo tolérant et peu acidophile (1), qui était présent dans le beurre fermier, a disparu du smen au 2^{me} prélèvement en dépit de son aptitude à la dégradation rapide de la K-caséine (23). *Lc. cremoris* très faiblement représenté dans le smen, est aussi faiblement représenté (Faïd et al., résultats non publiés), ou absent dans le lben (30). L'absence absolue de *Lc. raffinolactis* est due à son caractère peu acidophile, spécifique du lait cru, contrairement aux autres espèces pouvant exister plus ou moins bien dans d'autres produits laitiers (15).

3.1.2.Les Lactobacillus

Le nombre des lactobacilles diminue également en fonction du temps (fig. 1), mais de façon moins rapide que les Lactococcus et sans qu'il ait une disparition complète même après un an de conservation. La charge bactérienne en lactobacilles des quatre échantillons passe de 10^7 et 10^8 cellules/ml de la phase non grasse du beurre fermier; à 10^3 cellules/ml dans le produit

fini. Toutefois une légère augmentation de cette population bactérienne est observée à une semaine de conservation après salage du produit (échantillons A et B), ou même trois mois après (échantillon D).

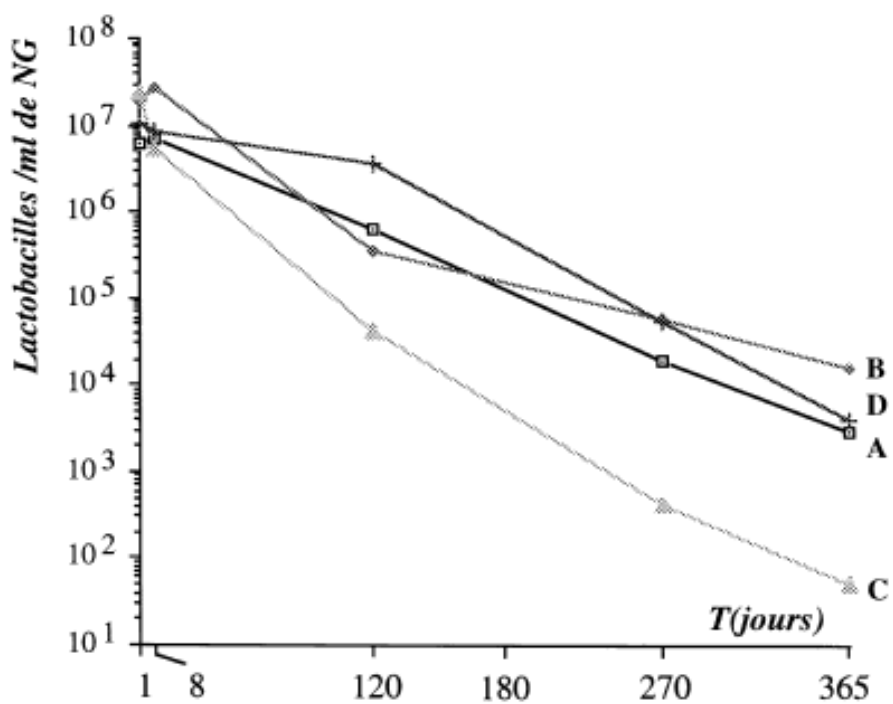


Fig. 1. Evolution de la charge bactérienne en fonction du temps

Fig. 1: Time course evolution of bacterial charge.

Tableau III : Composition et évolution des principales caractéristiques physico-chimiques de la matière grasse et du smen après 365 jours de conservation.

Table III: Composition and evolution of fatty material and Smen main's physico-chemical characteristics after 365 days of storage.

	Matière grasse		Smen	
	X _{1j}	Valeurs extrêmes	X _{365j}	Valeurs extrêmes
Indice d'acide (I.A. mg KOH/g MG)	5.17	3.9 -5.7	49.04	26.4 -74
Indice de peroxyde (I.P. meq/kg MG)	0.12	0 -0.3	2.46	1.74- 3.5
Teneur en chlorure (Na) (% NG)	0.42	0.4 -0.5	1.44	1.05 -1.8
Teneur en lactose (% poids)	0.55	0.51 -0.6	0.27	0.02- 0.36
Teneur en acide lactique (% NG)	0.61	0.57 -0.7	1.65	0.02- 0.36

X_n = moyenne du paramètre étudié après n jours de conservation.

Cette évolution est, en partie, le résultat des conditions physico-chimiques qui caractérisent la maturation des différents échantillons. En effet l'augmentation de l'acidité avec la maturation, la baisse de la teneur en lactose, la modification de la rhéologie du smen devenant sec par exsudation d'eau et le salage du produit expliquent en partie la baisse très lente des lactobacilles au cours de l'affinage de ce produit (Tab. III, VIII). Des travaux similaires sur la maturation des fromages ont montré que certains de ces paramètres ont, en fait, une action prononcée sur l'évolution de ces germes (16).

La tendance des lactobacilles à augmenter en début de l'affinage des échantillons A, B et D s'explique en partie par la faible concentration en sel de ces échantillons. En effet, il a été rapporté que les fortes concentrations en chlorure de sodium inhibent la croissance des bactéries lactiques alors que les faibles concentrations la stimulent légèrement ou n'influent guère sur elle (26, 27).

L'analyse des résultats de l'identification de 184 souches de lactobacilles isolées des quatre échantillons A, B, C et D (tab. IV) montre la présence d'un grand nombre d'espèces à des fréquences très variables. *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus* et *Lb. salivarius* sont, par ordre décroissant, les plus fréquentes. Ces cinq espèces comptent, en effet à elles seules, environ les 2/3 de l'ensemble des souches isolées, alors que les autres espèces plus nombreuses (10 espèces) sont présentes à des fréquences faibles et variables.

Tableau IV: Fréquence (en %) des espèces de lactobacilles isolées des quatre échantillons. Évolution des principales espèces.

*Table IV: Frequency (%) of the *Smen Lactobacilli* species isolated from the four samples. Evolution of the main species.*

Espèces	Fréquence au début de la maturation	Fréquence à la fin de la maturation	Fréquence totale
<i>Lb. plantarum</i>	4.02	6.32	25.86
<i>Lb. casei</i>	1.72	7.47	18.39
<i>Lb. homohiochi</i>			4.59
<i>Lb. xylosus</i>			1.72
<i>Lb. curvatus</i>			1.14
<i>Lb. acidophilus</i>	2.29	1.14	9.19
<i>Lb. helveticus</i>	1.14	0.57	6.89
<i>Lb. salivarius</i>			6.32
<i>Lb. lactis</i>			4.59
<i>Lb. confusus</i>			5.17
<i>Lb. brevis</i>			3.44
<i>Lb. buchneri</i>			3.44
<i>Lb. fructivoram</i>			2.87
<i>Lb. fermentum</i>			0.57
<i>Lb. viridescens</i>			0.57
souches non identifiées			4.59
nombre total des souches	174*		

10 souches ont été identifiées au niveau des groupes seulement.

A priori, on peut prétendre à une relation entre le degré de présence d'une espèce dans le smen, sa maturation et l'acquisition de ces caractères organoleptiques. Mais il est préférable qu'aucune conclusion prématurée ne soit tirée de cette constatation. Ces résultats doivent être interprétés avec beaucoup de prudence et il ne faudrait sous estimer aucune des espèces isolées même si elle est faiblement représentée. Le dénombrement bactérien peut n'exprimer, en fait, que l'aptitude à la multiplication d'une espèce indépendamment de son rôle dans le milieu, ou traduire parfois l'existence d'un phénomène d'inhibition du à des bactériocines produite par ces microorganismes (2, 12, 20). L'efficacité des souches de lactobacilles dans la maturation du smen (lipolyse, protéolyse) doit se faire à la base de leur aptitude à la production des enzymes et de leur accessibilité aux substrats du milieu.

Néanmoins nos résultats préliminaires sur la lipolyse du smen quant à l'aptitude de ces espèces à l'hydrolyse des substrats lipidiques : Tributyrine, Huile de beurre et oléine d'une part ; les travaux d'un grand nombre de chercheurs sur les fromages d'autres part, montrent le rôle déterminant de ces espèces dans la maturation et la saveur de ces produits (6, 7, 17, 19, 21).

Les espèces identifiées appartiennent à trois groupes bactériens. Les Streptobactérium, les thermobactérium et les betabactérium. Le tableau V présente les fréquences de ces groupes dans un échantillon donné. L'analyse globale de ces résultats montre une nette dominance des

NOTES DE RECHERCHE

lactobacilles mésophiles sur les lactobacilles thermophiles, plus encore sur la population des hétérofermentaires (échantillons : A+B+C+D). Cette constatation générale typique dans les échantillons A et B, n'est pas reproductible dans les échantillons C et D dont les fréquences des betabacterium sont plus élevées que celles des thermobacterium (échantillons C et D) et des streptobacterium (échantillon D). Par ailleurs, on note que les fréquences des streptobacterium et thermobacterium des échantillons A et B sont nettement supérieures à celles des échantillons C et D, alors que les fréquences des betabacterium en sont très inférieures.

Tableau V: Répartition globale des groupes de lactobacilles (%) dans les quatre échantillons.

Table V: Global distribution of Lactobacilli groups (%) in the four samples.

Groupes bactériens Échantillons	Streptobactérium	Thermobactérium	Betabactérium
A	13.58	9.78	3.80
B	15.76	15.20	1.63
C	7.60	3.80	4.89
D	8.69	5.97	9.23
A+B+C+D	45.65	34.78	19.56
Nombre total de souches analysées		184	

Tableau VI: Répartition des groupes de lactobacilles (%) dans les échantillons: A, B de la saison du printemps C,D de la saison d'hiver.

Table VI: Distribution of Lactobacilli groups (%): A,B of spring season; C,D of winter season.

Groupes bactériens Échantillons	Streptobactérium	Thermobactérium	Betabactérium
A ⁽¹⁾	22.72	16.36	6.36
B ⁽¹⁾	26.36	25.45	2.72
(A+B) ⁽¹⁾	48.08	41.81	9.08
C ⁽²⁾	18.91	9.45	12.16
D ⁽²⁾	21.62	14.86	22.97
(C+D) ⁽²⁾	40.53	24.31	35.13
Nombre totale de souches (A +B)		110	
Nombre totale de souches (C+D)		74	

(1): Fréquence des groupes bactériens calculée sur la base du nombre total des souches des échantillons (A+B) de la saison du printemps.

(2): Fréquence des groupes bactériens calculée sur la base du nombre total des souches des échantillons (C+D) de la saison d'hiver.

Tableau VII: Evolution des groupes de lactobacilles (en%) dans les échantillons: A + B + C + D; A,B; A + B ; C, D et C + D.

Table VII: Evolution of Lactobacilli groups (%) in samples A+B+C+D; A, B, and C, D.

Groupes bactériens	Streptobactérium*		Thermobactérium*		Betabactérium*	
	début	fin	début	fin	début	fin
Échantillons	affinage		affinage		affinage	
A(1)	0	7.27	5.54	2.72	0	3.63
	2.72	16.36	10	2.72	0.90	3.63
B(1)	5.45	9.09	3.63	1.87	0	2.72
	10.90	2.72	7.27	7.27	0	2.72
(A+B) ⁽¹⁾	5.45	16.36	9.17	4.59	0	6.35
	13.62	19.08	17.27	9.99	0.90	6.35
C(2)	1.35	6.75	5.40	4.05	2.72	6.75
	12.16	17.56	5.40	4.05	5.40	9.45
D(2)	5.40	4.05	4.05	1.35	4.05	14.86
	13.51	8.10	6.75	8.10	6.75	16.21
(C+D) ⁽²⁾	6.75	10.80	9.45	5.40	6.77	21.61
	25.67	25.66	12.15	12.15	12.15	25.66
(A+B+C+D) ⁽³⁾	5.97	14.13	8.69	4.89	4.34	10.86
	18.47	27.71	15.21	10.86	7.06	12.50
Nombre totale de souches (A +B)			110			
Nombre totale de souches (C+D)			74			
Nombre totale de souches (A+B+C+D)			184			

(1): Fréquence des groupes bactériens calculée sur la base du nombre total des souches des échantillons (A+B) de la saison du printemps.

(2): Fréquence des groupes bactériens calculée sur la base du nombre total des souches des échantillons (C+D) de la saison d'hiver.

(3): Fréquence des groupes bactériens calculée sur la base du nombre total des souches des échantillons (A+B+C+D).

*: Fréquences des groupes bactériens impliquant le nombre des souches du 1er, 1er et 2è prélèvements respectivement avec le nombre des souches du dernier, dernier et avant dernier prélèvements.

Le tableau VI regroupant la répartition des différents groupes bactériens dans les échantillons de la même saison, par rapport au nombre de leurs souches seulement, confirme bien les résultats globaux du tableau précédent quant à la dominance ; des lactobacilles mésophiles sur les lactobacilles thermophiles et la population des hétérofermentaires des échantillons A et B. ; des lactobacilles mésophiles et des lactobacilles thermophiles de ces échantillons sur les mêmes populations des échantillons C et D. La dominance des betabacterium sur les thermobacterium des échantillons d'hiver (C et D), et sur les betabactérium des échantillons du printemps (A et B), relevée dans l'analyse globale, devient plus nette.

L'évolution de ces groupes de lactobacilles (tab. VII) montre que les streptobacterium présents en de faibles fréquences au début de la maturation, se multiplient activement pour atteindre des fréquences élevées en fin d'affinage. Inversement les thermobacterium présents à des fréquences relativement élevées au début de l'affinage diminuent progressivement pour atteindre des fréquences modérées en fin d'affinage. Quant aux betabacterium, leur fréquence augmente avec la maturation du produit à des vitesses variables suivant les échantillons: lentement dans les échantillons de la saison du printemps A et B qui sont dépourvus de ces bactéries au début d'affinage, plus activement dans les échantillons C et D de la saison d'hiver où ils sont présents dès le début à des fréquences importantes.

Tableau VIII: Résultats des caractères organoleptiques des échantillons A, B, C et D (d'après le jury de dégustation).

Table VIII: Results of the organoleptic characters of the samples A, B, C et D (according to the panelists)

Caractères	Consistance	saveur, odeur	couleur	flore du surface	Appréciation générale
Échantillons					
A	Masse en grains et mottes	Agréable	Jaune	Pas de flore	Bon smen
B	Masse en grains et mottes	Agréable	Jaune	Pas de flore	Bon smen
C	Etat pâteux	Saveur de rance	Blanche	Levures et Moisissures	Mauvais smen
D	Etat pâteux Produit humide	Saveur d'hiver	Blanche	Levures et Moisissures	Mauvais smen

Tableau IX: Degré de lipolyse (en %) des échantillons: A, B de la saison du printemps; C, D de la saison d'hiver.

Table IX: Lipolysis level (%) of samples: A,B of spring season; C,D of winter season.

Age des produits	X1j	X180j	X365j
Echantillons			
A + B	1.75	12.08	15.52
C + D	2.73	18.49	27.10

Xn: moyenne du paramètre étudié après n jours de conservation.

La qualité organoleptique de ces échantillons testée par le jury de dégustation sur un ensemble de caractères, en fin d'affinage, est cotée bonne pour les échantillons A et B de la saison du printemps, mauvaise pour les échantillons C et D de la saison d'hiver (tab. VIII).

Par ailleurs, le tableau IX et le tableau I montrent que les échantillons A et B de la saison du printemps sont peu lipolysés, en revanche les échantillons C et D de la saison d'hiver, naturellement plus acides, sont très lipolysés.

L'évolution de ces différents groupes bactériens pendant la maturation s'explique par la nature de leur équipement enzymatique et l'action synergique qu'ils contractent entre eux au sein de ce produit. La lyse cellulaire et la libération des endoenzymes étant peu probable, au moins en début d'affinage de ce produit où le salage est très atténué (tab. I et III).

En effet, l'importance des thermophiles (tab. VII), en début d'affinage, en dépit de leurs caractères lipolytiques et protéolytiques d'origine endocellulaires (11, 17, 28, 33) s'explique par leur dotation d'un système protéolytique complexe de nature périplasmique doublé d'un système purement cytoplasmique, qui dégrade les substrats protéiques de haut poids moléculaire telle la caséine en acides aminés indispensable à la synthèse protéiques et à la croissance de ces bactéries (32), alors que le système protéolytique des mésophiles est exclusivement cytoplasmique (10). L'hydrolyse de la caséine par les enzymes des thermophiles et des levures présents dans la pâte du produit et la formation de peptides accessibles aux protéases cytoplasmiques, expliquerait, en effet, pourquoi la croissance de cette flore, principalement de *Lb. casei* et *Lb. plantarum*, ne peut avoir lieu sérieusement que dans la seconde partie de l'affinage (14, 25, 28) (tab. IV).

La température de conservation des échantillons (18°C-25°C, suivant les saisons), celle d'isolement bactérien (30°C), voisines (ou égale) de la température optimale de croissance des mésophiles (30°C), très inférieures à celle de la croissance optimale des thermophiles (45°C), auraient aussi favorisé la croissance des lactobacilles mésophiles au dépens des lactobacilles thermophiles dans la seconde étape de maturation (tab. V, VII) et, ce en dépit, de leur sensibilité et de leur tolérance respectives à l'acidité du produit. L'effet du pH cytoplasmique plus important sur leur métabolisme cellulaire que le pH du produit a également une influence majeure sur l'évolution de ces bactéries.

L'absence des betabacterium en début de la maturation des échantillons A et B, leur multiplication très lente en fin d'affinage (tab. VII), est le résultat d'un affinage lent et modéré (tab. IX) de ces deux échantillons de la saison du printemps, non naturellement acide (pH=6.8), où les lactobacilles, population bactérienne dominante (tab. VI) sont susceptibles de dégrader la caséine et de libérer en fin d'affinage des produits azotés de faible poids moléculaire indispensables pour la croissance des souches de betabacterium dont le système protéolytique est

de nature exclusivement cytoplasmique (25, 33). Ces produits libérés contribuent aussi à l'amélioration de la consistance et la saveur du produit (6, 7). L'apparition des betabacterium dont l'activité protéolytique est plus faible que celle de *Lb. casei* et *Lb. Plantarum* (33) : d'intérêt négligeable dans l'affinage, producteur de gaz et de saveurs désagréables, à la fin de maturation du smen, est à la fois un critère de bonne maturation de ces échantillons et l'indice du début de leurs transformations profondes.

En revanche, la présence des betabacterium à des fréquences relativement importantes en début d'affinage des échantillons C et D, associée à leur multiplication rapide pendant la maturation (tab. VII) est due vraisemblablement à l'affinage court, accentué et précoce de ces échantillons de la saison d'hiver, naturellement très susceptibles à la lipolyse (Tab. IX), qui s'envahissent, dans les premiers jours d'affinage, d'une flore de surface constituée essentiellement de moisissures et levures, d'aptitude à la lipolyse et à la protéolyse élevée, libérant dans la pâte du produit suffisamment de produits azotés moins complexes que la caséine et d'acides gras libres qui servent d'éléments nutritifs à la flore hétérofermentaire pourvue de l'équipement péptidasique nécessaire.

Cette apparition précoce des betabacterium est un indice d'anomalie de maturation et de défauts de ces produits. La rhéologie pâteuse, la saveur et la flaveur piquante du smen de ces deux échantillons (tab. VIII), la présence de *Lb. confusus* à fréquence relativement élevée dans ces deux échantillons en sont d'autres critères de leur défaut de maturation et de la détérioration de leur qualité organoleptique.

La population des bactéries lactiques d'activité lipolytique et protéolytique faible, comparée à celle des levures et moisissures, réduite à une population secondaire pendant l'affinage (tab. VI), a eu un rôle probablement limité dans ces échantillons.

Les résultats de l'analyse sensorielle de « bon smen » des échantillons de printemps (A, B) et de « mauvais smen » des échantillons d'hiver (C, D) s'expliquent par les caractéristiques et les conditions de maturation de ces échantillons, principalement la qualité de la matière première qui commande le degré de lipolyse (tab. IX).

La maîtrise de la maturation du smen aux plans microbiologique, physico-chimique et organoleptique dépend de l'aptitude de la technologie traditionnelle à pallier l'irrégularité de la matière première du produit. Si la technologie traditionnelle adoptée s'est avérée efficace, avec ses particularités d'absence de traitement thermique et du salage comme seule procédure de conservation, dans la régularité et la qualité du produit des échantillons de printemps (A, B), il n'en est pas le cas pour les échantillons d'hiver (C, D). Une modification de la technologie s'impose en conséquence pour améliorer la régularité et la qualité de leur produit: le beurre de ces échantillons peut subir exceptionnellement, avant salage, une cuisson de 1h à 1h30 pour stimuler la croissance des bactéries du smen : favoriser la destruction de leurs microorganismes inhibiteurs et l'évaporation de l'eau. Ainsi cette procédure permet de réduire les accidents de fabrication, améliore les caractéristiques microbiologique, physico-chimique et technologique du produit et permet sa conservation pour une longue période. Cette cuisson peut intervenir également à la fin de la maturation normale du smen (cas des échantillons A, B) pour inactiver complètement ses bactéries et le préserver des éventuelles profondes transformations pouvant lui conférer des saveurs désagréables aux consommateurs. Il est donc raisonnable que la cuisson du beurre ou du smen soit pratiquée, jadis et de façon empirique, au Maroc dans des régions de grandes productions où le smen devrait être conservé longtemps avant sa consommation. La maîtrise de la maturation et de la flaveur du smen, du fait de la complexité du processus mis en œuvre, tient plus, en fait, d'un savoir-faire que d'une approche scientifique.

L'hétérogénéité de maturation des échantillons de printemps (A, B) et des échantillons d'hiver (C, D) aux plans microbiologique, physico-chimique et organoleptique pose un problème

de grande importance dans l'échantillonnage du smen marocain en vue de la caractérisation du produit. Celle-ci, pour qu'elle soit crédible, doit se faire impérativement à la base d'un ensemble d'échantillons de printemps. La caractérisation du produit à partir des échantillons d'hiver ou d'un mélange d'échantillons de printemps et d'échantillons d'hiver conduira inévitablement à des résultats aberrants et par conséquent à des produits mal définis.

En conclusion, au cours de la maturation du Smen, *Lactococcus* et *Streptococcus* sensibles aux acides gras, disparaissent complètement en début d'affinage. En revanche, les lactobacilles qui utilisent ces acides gras comme nutriments, et qui sont résistants à leurs effets inhibiteurs, peuvent augmenter en début d'affinage, avant de diminuer lentement et sans disparaître complètement à la fin de maturation.

La nature saisonnière du Smen a une incidence directe sur l'évolution quantitative et qualitative des bactéries lactiques et les propriétés organoleptiques du produit élaboré.

Le travail du smen, au vu des caractéristiques précédentes, doit se faire au printemps. Le lait d'hiver, de fin lactation de nature lipolysé doit-être orienté à l'usage des fabrications de courtes périodes de conservation.

La technique artisanale adoptée est relativement efficace pour l'élaboration d'un smen de qualité en terme de caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques. Son succès se justifie d'avantage par l'état initial de la matière grasse, la nature saisonnière du lait d'une part; le respect des prescriptions que l'opérateur doit apporter à cette technologie d'autre part.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) ACCOLAS J.P., HEMME.D., DESMAZEAUD M.J., VASSAL L., BOUILLANE C., VEAUX M., 1980. – Les levains lactiques thermophiles; propriétés et comportements en technologie laitière: une revue. *Le lait* 60 ; 487-524.
- (2) ATRIH A., REKHIF N., MICHEL M., LEFEBVRE G., 1993. – Detection de Bactériocins produced by "Lactobacillus" Plantarum strains isolated from different fouds. *Microbios.*, 75 (303) ; 117-123.
- (3) BENBOUHO M., 1980. – Contribution à l'étude de la chimie du smen, Thèse Doct. vétérinaire, INAV Hassan II, Rabat.
- (4) BERGEY'S MANUAL, 1986-1989. – Manual of determinative bacteriology,. William and Wilkin,Baltimore,.
- (5) BOTTAZZI V., 1959. – Studio sulla microflora del fromagio Fontina 1. la microflora Lattira durante il processo di maturazione Latte, 33, 675-678.
- (6) CARRASCO, MARTA S., SACARINCITT E., SIMONETTA A.C., 1995. – Technological properties of strains of lactic acid bacteria for cheese starter: proteolytic and lipolytic activities. *Microbiol, aliments, Nutr.* 13(3) 249-254.
- (7) CARINI S., 1983, – Lactic acid bacteria in Italian cheese ripinning. *Microbiol., Aliments, Nutr.* 1(1) 35-47.
- (8) DE ROISSART H ET LUQUET F.M., 1994. – Bactéries lactiques. vol. 1 et 2, Loriga.
- (9) ELISABETH S., 1979. – Identification of the lactic acid bacteria in: Identification methods for *Microbiol.* second édition by FA Skinner and an love lock, Academic press London New york,
- (10) EL SODA M.A., 1975. – Contribution à l'étude des peptidases de *L. casei*, Thèse de Docteur ingénieur, université de caen,.
- (11) EL SODA M.A., BERGERE J.L., DESMAZEAUD M.J., 1978. – Detection of peptide hydrolases in lactobacilles casei. *J. Dairy Res.* 45, 519-524.

- (12) ENAN G., EL ESSAWY A.A., UYTENDAELE M., DEBEVERE J., 1996. –Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UG1 isolated from dry sansaye: caractérisation, productiman bacterial action of plantaricin UG1. *International Journal of Food Microbiology*, 30(3), 189-215.
- (13) EXTERKATE F.A., 1976. – Comparison of strains of streptococcus cremoris for the protéolytic activities associated with the cell wall Neth. *Milk Dairy J.* 30 95-105
- (14) FERNANDEZ DEL POZO B., GAYA P., MEDIA M., RODRIGUEZ-MARIN M.A., NUNEZ M., 1988. – Changes in chimical and rheological characteristics of la Serena ewes'milk cheese during ripinning. *J. Dairy Res.*, 55(3) 457-64.
- (15) GARVIE E.I., 1978. – *Streptococcus raffinolactis* (orta Jensen and itansan) a group streptococcus found in raw milk. *International Journal of Systematic Bactériology*.
- (16) GIRGIS E.S., HASSAN M.N.A., YOUSSEF L.M., HARBY S.I., 1992. – Some chimical and microbiological properties of Ras cheese in the Egytian market. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 20(2) 273-87.
- (17) GOBBETTI M., FOX P.F., STEPANIAK L., 1996. – Esterolytic and lipolytic activities of mesophilic and thermophilic *Lactibacilli* Ftal. *J. Food Sci.*, 8(2) 127-135.
- (18) HAMAMA A., 1981. – Contribution à l'étude de la flore bactérienne lipolytique du smen au cours de son élaboration, Thèse Doct. vétérinaire INAV Hassan II, Rabat.
- (19) JHA Y.K., SINGH S., 1991. – Effet of modilase enzyme on characteristic flavor buffalo cheddar cheese xithout *J. Food Sci. Technol.*, 28(1) 18-22.
- (20) JIMENEZ-DIAZ R., TIOS-SANCHEZ R.M., DESMAZEAUD M., RUIZ-BARBA J.L., PIARD J.C., 1993. – Plantariuns S and T two new bacteriocins produced by *Lactobacillus Plantarum* LPcoio isolated from green olive fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(5) 1416-1424.
- (21) KARKUS M., ALPERDEN I., 1995. – Effect of starter composed of various species of *Lactis* bacteria on quality and ripining of turkish white pickled cheese. *Food Sci. Technol.*, 28(4) 404-9
- (22) LARPENT J.P., 1993. – Probleme de nomenclature en bactériologies. *L'information du biotéchnicien* 1, 147-157
- (23) LARPENT J.P., 1996. – Les bactéries lactiques in : *Microbiologie alimentaire*, Tome 2, Technique et documentation, 1-31.
- (24) MAACH L., 1983. – Etude microbiologique du smen, Thèse Doct. vétérinaire INAV, Hassan II, Rabat.
- (25) NATH K.R., LEDEFORD R.A., 1973. – Growth response of *lactobacillus casei* variety *casei* to proteolysis produits in cheese during ripinning. *J. Dairy Sci.*, 56, 710-715.
- (26) QUINTANILLA L., IBANEZ C., CID C., ASTIASARN I., BELLO J., 1996. – Inlence of partial replacement of Nacl with Kcl on lipid fraction of dry fermented sansages inoculated with a mixture of *Lactobacillus plantarum* and *staphylococcus carnosus*. *Maet Sci.*, 43(3/4) 225-34.
- (27) RASIC J., 1965. – L'effet de l'augmentation graduelle des concentrations de chlorure de sodium sur la résistance des bactéries lactiques. *Le lait* 411-442, 27-34.
- (28) ROUSSIS I.G., 1994. – Dairy lactic acid bacteria physiologic and Growth, *Chim. Chron.* 23(4) 137-153.
- (29) SAKILI D., 1988. – Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique du smen marocain (les ferments lactiques; systématique et activité lipolytique), Thèse de Doctorat de 3ème cycle Faculté des Sciences, Rabat.
- (30) TANTAOUI E.A., BERRADA M., EL MARRAKCHI A. BERRAMOU A., 1983. – Etude sur le lben marocain. *Le Lait*, 63, 230-245.
- (31) THOMAS T.D., JARVIS B.D.W., SKIPPER N.A., 1974. – Localisation of proteinase near the cell surface of *streptococcus lactis*. *J. Bact.*, 118, 329-333.
- (32) TOURNEUR C., 1972. – Aptitude à la protéolyse des lactobacilles présents dans les fromages et les lactoserums de fromage. *Lait*, 52, 149-174.
- (33) TOURNEUR C., 1979. – Contribution à l'étude de l'activité protéolytique des lactobacilles, Thèse de Doctorat de spécialité, Université de Caen.