



Caractérisation Physico-Chimique et Microbiologique du Processus de Fermentation Naturelle des Olives Vertes de la Variété Picholine Marocaine

Physico-Chemical and Microbiological Characterization of the Natural Fermentation of Moroccan Picholine Green Olives Variety

Yahya Rokni^{1*}, Nabil Ghabbour¹, Nour-Eddine Chihib², Philippe Thonart³,
Abdeslam Asehrou¹

¹Biology of Plants and Microorganisms Laboratory, Fac. of Sci., Med Ist University, B.P.717, Oujda, Morocco.

²ProBioGEM Laboratory, Polytech'Lille, Sci. and Technology, University Lille1, Villeneuve d'Ascq, France.

³Bio-Industry Laboratory, Faculty of Agricultural Sciences, Gembloux, University of Liege, Belgium.

Received 14 Nov 2014, Revised 15 Mar 2015, Accepted 15 Mar 2015,

*Corresponding Author. E-mail: yahya.rokni@gmail.com

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier le processus de fermentation naturelle des olives vertes du point de vue physico-chimique et microbiologique, au laboratoire et au niveau industriel, afin de dégager les mesures de son amélioration. L'expérience a consisté à fermenter deux lots d'olives dont le premier est désamérisé à la soude et le deuxième est non désamérisé. Ces deux lots ont été réalisés au laboratoire et au niveau industriel. Tous les lots ont été mis en saumure à 12% et maintenus à température ambiante. Les résultats obtenus ont montré un développement spontané de la fermentation lactique dans les deux essais, indiqué par la chute de pH jusqu'au pH 5 pour les lots désamérisés au laboratoire (LDL) et au niveau industriel (LDI), 4,5 pour le lot non désamérisé au laboratoire (LNDL) et 5,2 pour le lot non désamérisé au niveau industriel (LNDI). L'augmentation de l'acidité, le développement des bactéries lactiques (5,7 Log ufc/ml pour le LDL et le LNDL, 2,9 Log ufc/ml pour le LDI et le LNDI) et la disparition des coliformes. En plus, il ressort de ces résultats que les deux principaux facteurs qui agissent dans ce processus de fermentation sont la température ambiante et la soude résiduelle dans les olives (conditions de désamérisation des olives). En effet, la désamérisation et la faible température ambiante de l'ordre de 10-14°C retardent le processus ; alors que des températures comprises entre 20 et 30°C sont convenables pour un achèvement rapide du processus de fermentation lactique naturelle des olives vertes.

Mots clés: olives vertes, fermentation lactique, bactéries lactiques, Picholine Marocaine.

Abstract

The objective of this work is to study the natural physicochemical and microbiological fermentation process in the laboratory and at the industrial scale, in order to identify the improvement measures of the process. The experiment consisted of two batch lots of fermented olives where the first is debittered with lye and the second is not debittered. The both lots, made in the laboratory and at the industrial scale, were brined at 12% and kept at room temperature to undergo natural lactic fermentation. The results obtained showed a spontaneous development of lactic fermentation in the two assays indicated by the pH drop to pH 5 for the olives debittered in laboratory (LDL) and at the industrial scale (LDI), 4.5 for non-debittered-olives fermented in laboratory (LNDL) and 5.2 for non-debittered-olives fermented at the industrial scale (LNDI). In addition, the increase of acidity, the development of lactic acid bacteria (5.7 Log cfu/ml for LDL and LNDL, 2.9 Log cfu/ml for LDI and LNDI) and the disappearance of coliforms were observed. These results indicated that the main factors regulating the fermentation process are room temperature and the residual lye in debittered-olives. Indeed, debittering and low ambient temperature (10-14°C) delay the process; while temperatures of 20 to 30°C are suitable for the rapid completion of natural lactic fermentation of green olives.

Keywords: green olives, lactic fermentation, lactic acid bacteria, Moroccan Picholine.

1. Introduction

L'olivier (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *europaea*) est l'un des arbres fruitiers les plus importants dans le monde et plus précisément dans les pays méditerranéens (Espagne, Italie, Grèce). Il couvre 8 millions d'hectares, soit 98% de la surface totale plantée [1, 2], et qui produisent près de 97% de la production mondiale [3]. En outre, il est cultivé pour ses fruits comestibles (olive de table) et pour son huile végétale.

Au Maroc, l'olivier est la principale culture fruitière. Sa culture couvre environ 784 milles hectares, avec une production nationale de l'ordre de 1,57 millions de tonnes d'olives (compagne 2013/2014) dont 90 milles tonnes d'olive de table [4]. Les olives vertes de table constituent la denrée végétale fermentée la plus populaire au Maroc. Elles constituent un secteur agroindustriel majeur dans le développement économique du pays. Parmi les préparations industrielles des olives de table on trouve la méthode espagnole pour la préparation des olives vertes, le style californien pour les olives noires oxydées, et la préparation Grecque pour les olives noires dites façon grecque [5].

À l'échelle industrielle, la méthode la plus utilisée au Maroc pour l'élaboration des olives vertes est celle dite style Espagnole. Elle se base sur le traitement alcalin des olives pour éliminer l'oleuropéine, l'agent responsable de l'amertume des fruits d'olivier [6-11]. Après la désamérisation, les olives subissent des lavages successifs pour éliminer la soude résiduelle et sont mises ensuite en saumure où elles subissent la fermentation lactique naturelle [5]. C'est un processus rapide, mais il présente des inconvénients pour l'industriel (dépense de soude et d'eau de lavages), pour le consommateur (risque des résidus chimiques et la dégradation de la valeur nutritive des olives traitées) et pour l'environnement (rejets de lessives et d'eau de lavages dans l'environnement). Ce procédé entraîne une forte dégradation de l'oleuropéine, ce qui constitue une perte importante de la valeur nutritive d'olives désamérisées et une inhibition de la fermentation lactique par les lavages prolongés en éliminant les particules de soude mais également les sucres solubles nécessaires à la fermentation postérieure [7-9].

Au Maroc, ce procédé de transformation des olives vertes de table se base essentiellement sur la fermentation lactique naturelle, qui se développe spontanément dans la saumure d'olives. La fermentation spontanée permet de conférer une bonne qualité organoleptique et une stabilisation de la qualité de ces olives, par la diminution du pH et l'élimination d'une grande quantité de carbohydrates [12], en produisant spécialement des acides organiques (acide lactique et acide acétique) [13, 14]. Cette production importante d'acidité a été rapportée par plusieurs chercheurs [13, 15-18]. Elle est d'une grande importance technologique du fait qu'elle inhibe les bactéries pathogènes et les microorganismes responsables de l'altération des olives, (fermentations alcoolique, butyrique et putride) améliorant, par conséquent, la qualité hygiénique et organoleptique du produit fini.

Ce processus de fermentation naturelle est spontané et complexe [19], En effet, durant un tel processus, interviennent nombreux paramètres physico-chimiques comme la température, le pH, la concentration en soude et en sels, les sucres fermentescibles, la teneur et la nature des polyphénols et d'autre microbiologiques comme les bactéries lactiques, les entérobactéries, les levures et les moisissures, ce qui se traduit généralement par des niveaux élevés d'olives altérées et par un produit fini de qualité variable [18, 20-23].

L'objectif de ce travail est l'étude du processus de fermentation naturelle des olives vertes aux niveaux du laboratoire et en milieu industriel, afin de dégager les principaux facteurs qui agissent sur l'installation et l'évolution du processus de fermentation naturelle, qui permettra son optimisation et sa maîtrise.

2. Matériels et méthodes

2.1. Essais de fermentation des olives à l'échelle du laboratoire

Des olives vertes de la variété Picholine Marocaine, cueillies manuellement durant la campagne 2012-2013 à partir d'un verger irrigué à Guercif au Maroc Oriental, sont triées pour éliminer les fruits blessés, les feuilles et les pédoncules. Les olives sont d'abord subdivisées en deux lots (LDL et LNDL). Le premier lot (LDL) a subi une désamérisation à l'aide d'une lessive de soude à 2,5% (m/v) jusqu'au 2/3 de la pulpe des fruits (après cinq heures), puis lavé soigneusement avec de l'eau du robinet (deux lavages ; 1^{er} lavage d'une durée de 30 min, et le 2^{ème} lavage d'une durée de 5 heures) alors que le deuxième lot (LNDL) n'a subi aucun traitement alcalin. Ensuite les deux lots ont été mis en saumure à 12% (m/v) de chlorure de sodium (NaCl) dans des bouteilles hermétiquement fermées d'une capacité de 5 litres chacune.

Les deux lots, sont maintenus en obscurité et à température ambiante du laboratoire (mesurée régulièrement par thermomètre) pour subir une fermentation spontanée. Durant cette période des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été réalisées régulièrement chaque semaine sur des échantillons prélevés aseptiquement au niveau des saumures.

2.2. Essais de fermentation des olives à l'échelle industrielle

Les olives vertes réceptionnées au niveau de l'entreprise durant la campagne 2011/2012 ont subi un triage, un calibrage et un traitement à la soude (2,5%) jusqu'au 2/3 de la pulpe des fruits et enfin un lavage à l'eau de robinet trois fois pour une durée totale de 7 heures (1^{er} et 2^{ème} lavages d'une durée de 30 min chacun, et un

3^{ème} lavage d'une durée de 11 heures). Ensuite, les olives sont logées en saumure à 12% NaCl, où elles subissent une fermentation lactique naturelle à température ambiante de l'usine (durant la période allant d'octobre à mars). Au cours de cette étape de fermentation le pH et la salinité sont corrigés par un saumurage avec une nouvelle saumure fraîche légèrement acidifiée au besoin et avec des concentrations en sel adéquates.

Durant la période de fermentation naturelle, des échantillons de saumures ont été prélevés le matin chaque semaine dans des flacons stériles et transportés au laboratoire pour subir des analyses physicochimiques et microbiologiques.

2.3. Analyses physico-chimiques

- pH

La mesure du pH a été réalisée par un pH-mètre WTW type-LEVEL1, étalonné par les tampons pH 4 et pH7.

- Température

La température a été mesurée par un thermomètre centigrade.

- Chlorure

Le dosage des chlorures a été réalisé selon la méthode de Mohr[24] et la norme (AFNOR T90-014), qui consistent à doser les chlorures par une solution titrée de nitrate d'argent (AgNO_3 à 0,1N) en présence du chromate de potassium (K_2CrO_4 à 0,5%) comme indicateur coloré. La fin de la réaction est indiquée par le virage de la couleur du jaune au rouge brique, couleur caractéristique du chromate d'argent (Ag_2CrO_4).

- Acidité libre

Le dosage de l'acidité libre a été fait par titrage de la saumure prélevée par l'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. Ce dosage se base sur le virage de la phénolphthaléine incolore vers le rose persistant.

2.4. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques des saumures d'olives ont porté sur le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), des coliformes totaux (CT), des levures et des moisissures (L et M), et des bactéries lactiques (BL). La FMAT a été dénombrée sur le milieu Plate Count Agar (PCA) après 48 heures d'incubation à 30°C, les coliformes sur le milieu Désoxycholate Lactose agar (DCL) après 48 heures d'incubation à 37°C, les bactéries lactiques sur le milieu de Man Rogosa et Sharpe agar additionné de cycloheximide (0,01%), après 48 à 72 heures d'incubation, à 30°C, et les levures et les moisissures, sur le milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA), après 48-72 heures d'incubation à 28°C.

3. Résultats et discussion

3.1. Essais de fermentation à l'échelle du laboratoire

3.1.1. Paramètres physicochimiques

- pH

Le pH diminue progressivement pour les deux lots au cours de la fermentation naturelle des olives (Figure1). Ainsi, pour les olives désamérisées (LDL), le pH passe initialement de 9 à 5 pendant les 20 premiers jours, puis il se stabilise avant de marquer une légère augmentation (5,5) à partir du 120^{ème} jour.

Cette neutralisation peut être expliquée par la dégradation des acides organiques utilisés comme source de carbone par les levures et les moisissures qui forment un voile à la surface des saumures d'olives maintenues longtemps en fermentation [25].

Pour les olives non désamérisées (LNLDL), le pH chute de 6 à 4,5 pendant les 80 premiers jours et se stabilise à une valeur minimale de l'ordre de 4,4 jusqu'au fin de la fermentation. La chute du pH obtenue dans ce cas est plus importante et plus rapide par rapport aux olives désamérisées (LDL). Le pH final obtenu qui est inférieur à 4,5 permet une bonne stabilité du produit fermenté [26, 27]. Ceci indique bien l'effet négatif de la désamérisation et des lavages sur l'installation de la fermentation lactique et la stabilité du produit fini.

- Acidité libre

L'acidité libre évolue dans le sens inverse du pH (Figure 2). Les résultats obtenus ont montré une augmentation pour atteindre des maxima de 0,4 à 0,43%, pour le lot non désamérisé (LNLDL). Tandis que pour le lot désamérisé (LDL), l'acidité ne dépasse pas la valeur de 0,25 à 0,32%. L'augmentation de l'acidité est due à la fermentation des sucres en acides organiques par les bactéries lactiques et les levures [28]. Comme pour le pH, la différence d'acidité observée entre les olives désamérisées et les olives non désamérisées est due principalement à la soude résiduelle et à l'élimination des sucres fermentescibles dans les fruits [29-31]

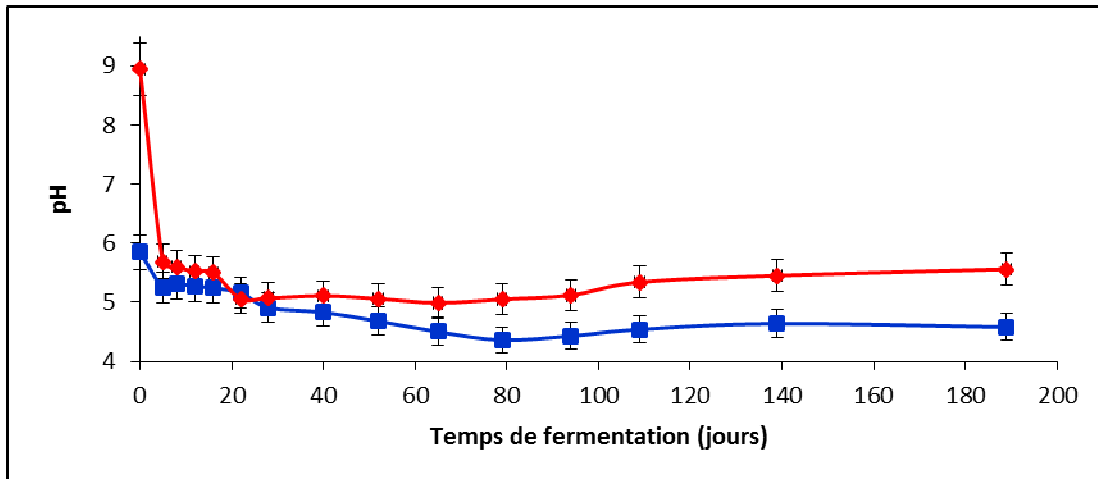


Figure 1 : Variations du pH au cours de la fermentation naturelle des olives vertes au laboratoire. (Légende: (■) lot non désamérisé, (◆) lot désamérisé).

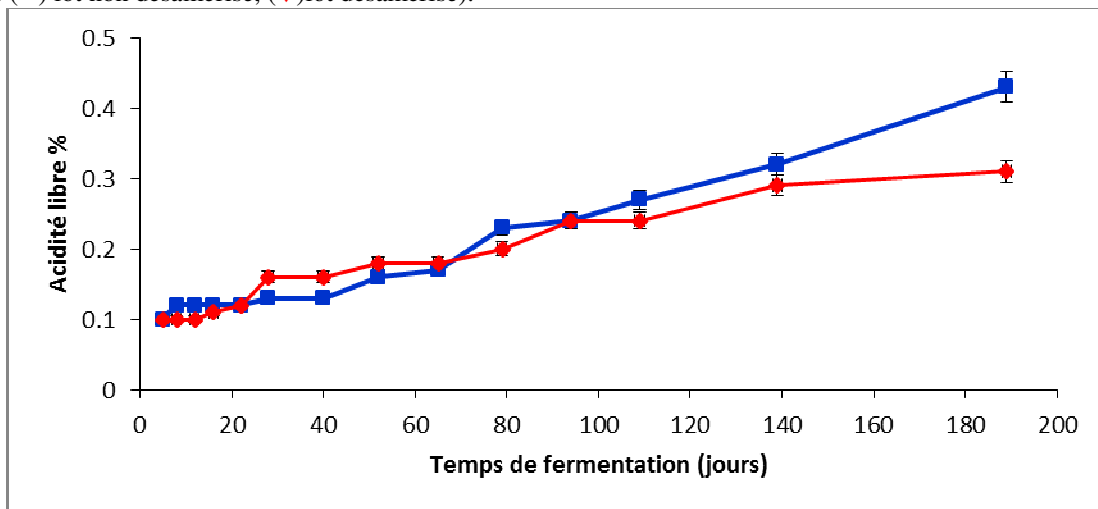


Figure 2 : Variation de l'acidité libre (%) au cours de la fermentation naturelle des olives vertes au laboratoire. (Légende : (■) lot non désamérisé, (◆) lot désamérisé)

- Chlorures

Les teneurs en chlorures ont montré une diminution de 12% au niveau initial à 9,2% et 8,4% à l'équilibre, respectivement pour les lots désamérisés et non désamérisés (Figure 3).

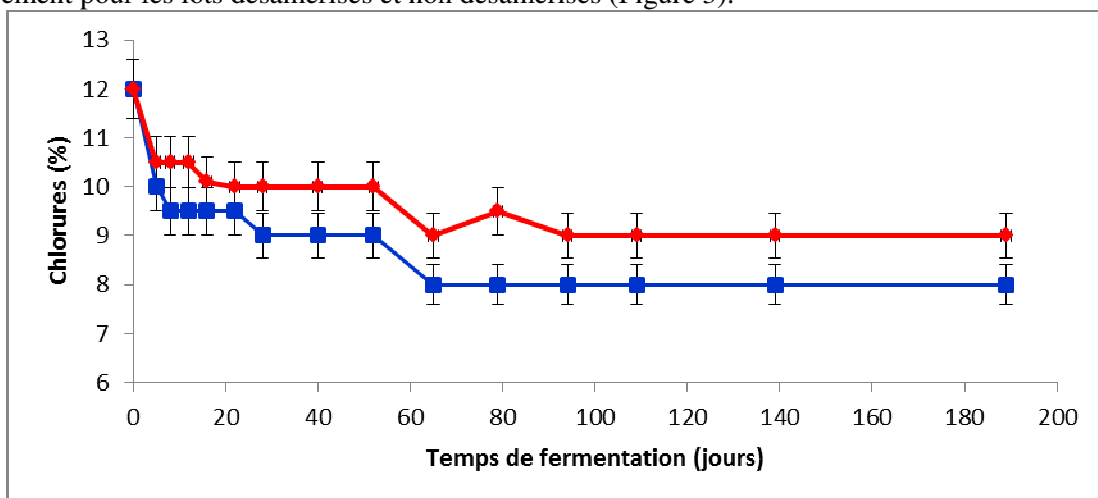


Figure 3 : Variation des chlorures (%) au cours de la fermentation naturelle des olives vertes au laboratoire. (Légende (■) : lot non désamérisé, (◆) : lot désamérisé).

Par conséquent, une concentration inférieure à 6,2% en sel peut permettre la croissance de certains microorganismes d'altération comme *Clostridium* durant le processus de fermentation, surtout à des pH supérieurs à 4,5 [32]. Alors qu'une concentration comprise entre 6,2 et 8,4% de sel inhibe la croissance des microorganismes responsables des fermentations malodorantes [33], et stimule la croissance des bactéries lactiques qui dominent sur la croissance des levures [34, 35]. Cependant, une concentration trop élevée en sel (de 10 à 14%) inhibe la croissance ainsi que le métabolisme des bactéries lactiques, surtout la production de l'acide lactique [36]. Donc le degré ou teneur en sel de la saumure est un facteur très important dans le processus de fermentation et la conservation des olives de table.

- Température

Au début du processus de fermentation, la température qui était de l'ordre de 25°C a chuté de 8 à 10°C durant la période hivernale (Figure 4). Ensuite elle a remonté aux environs de 14°C pendant la période printanière. Durant la période de fermentation, la température a varié globalement de 8 à 14°C, ce qui est nettement inférieure à la température optimale de croissance des bactéries lactiques (30°C). Cette diminution de température a entraîné un retard de croissance de ces bactéries et de leur activité biochimique fortement recherchées pour la réussite du processus de fermentation lactique des olives vertes.

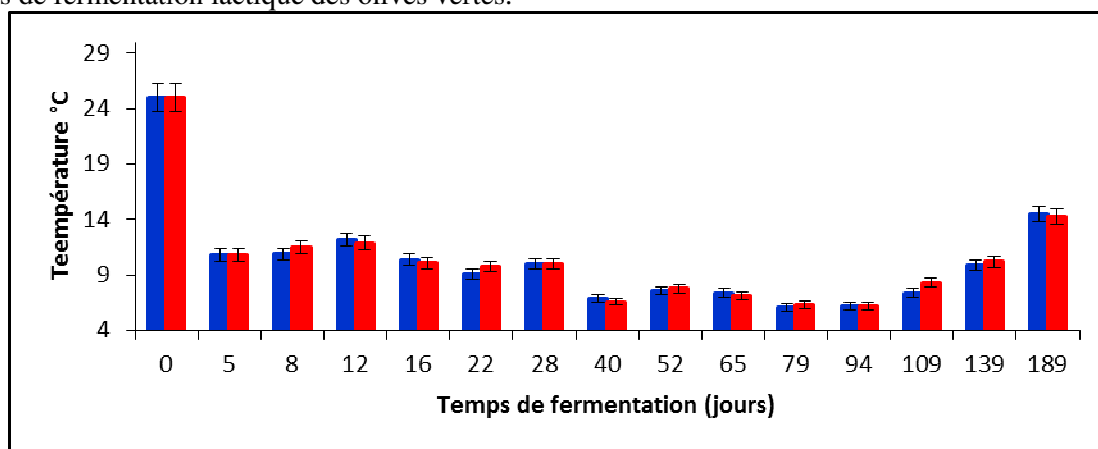


Figure 4: Variation de la température (°C) au cours de la fermentation naturelle des olives vertes au laboratoire. (Légende : ■ lot non désamirisé, ■ lot désamirisé).

3.1.2. Paramètres microbiologiques

- Flore mésophile aérobie totale

Les variations des populations des principaux groupes microbiens recherchés au cours du processus de fermentation des olives non désamirisées et des olives désamirisées sont indiquées sur la figure 5 (a et b). Juste après la mise en saumure des olives (désamirisés et non désamirisés), toutes les populations microbiennes naturellement présentes dans le milieu (olives, saumure, matériel) ont montré une croissance importante, pour atteindre leurs maxima au bout de 12 jours qui sont de l'ordre de 9,4 Log ufc/ml et 8,7 Log ufc/ml, respectivement pour le lot non désamirisé et le lot désamirisé.

Elles diminuent légèrement après cette période et se maintiennent aux environs de 8,4 Log ufc/ml pour LNDL et 7,1 Log ufc/ml pour LDL. Quantitativement il existe peu de différences entre ces deux lots, cependant, du point de vue qualitatif, la saumure du lot non désamirisé a montré une texture visqueuse. Cette texture est due principalement au dextrane produit par les bactéries lactiques [37-39] connu pour son effet positif sur la qualité sensorielle du produit fini.

- Coliformes

Au niveau des 2 lots, les coliformes ont montré une augmentation importante au début de la fermentation, pour atteindre des maxima de l'ordre de 6,7 Log ufc/ml pour le LNDL et 7,2 Log ufc/ml pour le LDL (Figures 5 a et b). Après ces pics, ces bactéries ont montré une chute importante au niveau des 2 lots pour disparaître, respectivement au 20^{ème} jour pour le lot non désamirisé et diminue puis remonte et ne disparaît complètement qu'à partir du 60^{ème} jour pour le lot désamirisé.

La chute des coliformes dans les saumures montre la bonne évolution du processus de fermentation des olives vers la fermentation lactique, au lieu des autres fermentations d'altération (putride, butyrique, alcoolique, acides mixtes). La durée de cette phase critique pèse beaucoup sur le processus de transformation des olives, du fait

qu'elle est souvent associée à une mauvaise qualité hygiénique et à des taux d'altérations élevés des olives [5, 40]. Ainsi, plus cette phase est courte plus le niveau de réussite du processus de fermentation lactique des olives est important. Ainsi, les olives non désamérisées ont montré une réussite du processus de fermentation lactique plus importante que celle des olives désamérisées.

- *Bactéries lactiques*

Les bactéries lactiques atteignent leurs maxima de croissance au bout de 16 jours pour les deux lots non désamérisés et désamérisés, qui sont respectivement 5,7 Log ufc/ml et 5,9 Log ufc/ml (Figures 5a et 5b). Après, la population diminue légèrement et se maintient entre 3,9 et 4,9 Log ufc/ml pendant le reste de la fermentation.

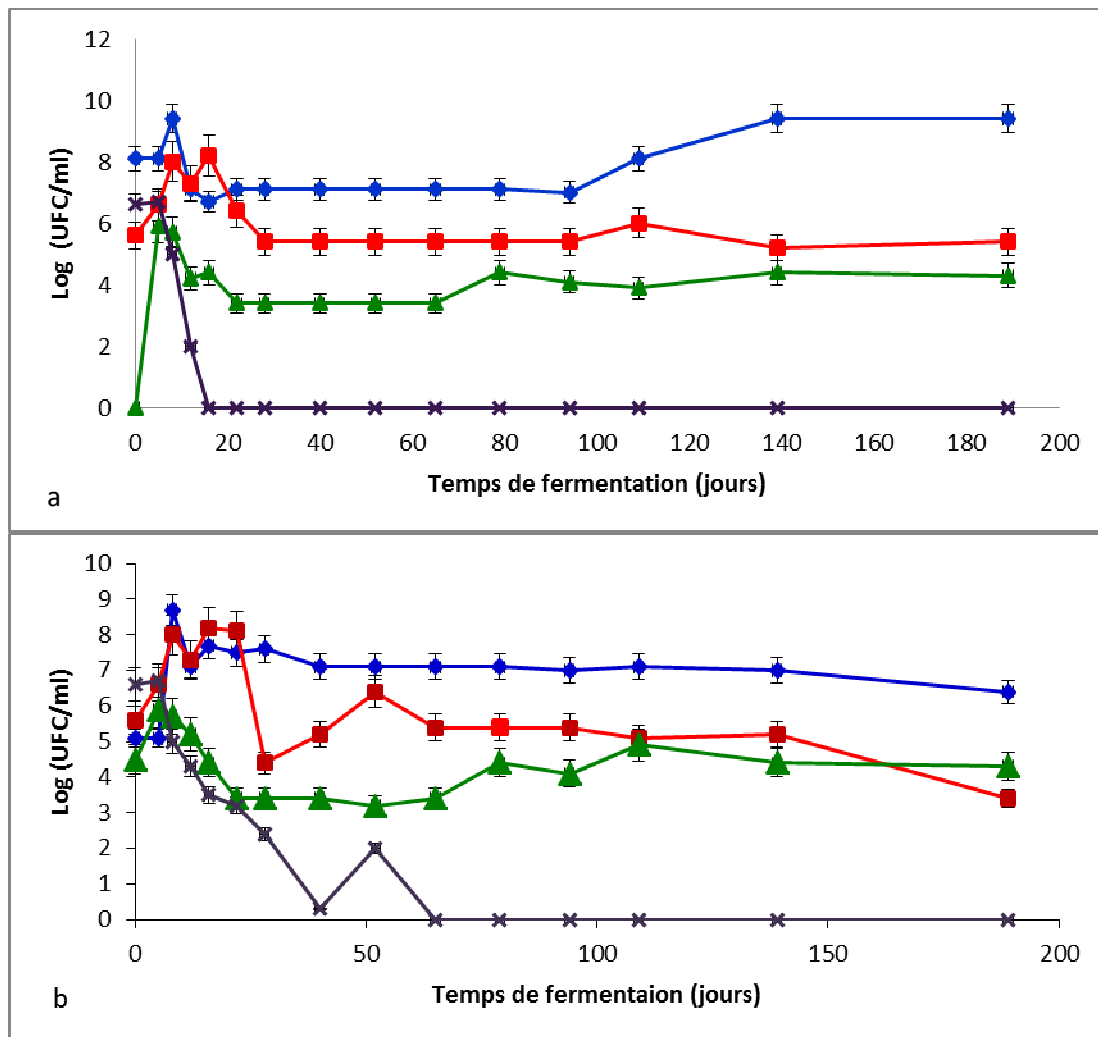


Figure 5: Evolution des populations de FMAT (◆), de Levures (■), de Bactéries lactiques (▲), et de coliformes (×), au cours de la fermentation des olives vertes non désamérisées (Figure a), et des olives vertes désamérisées (Figure b) au laboratoire.

En comparant les deux lots, on constate que la flore lactique est plus abondante au niveau du lot désamérisé que dans le lot non désamérisé. Ceci peut être expliqué par la présence de l'oleuropeine, naturellement présente dans les olives et connue pour son effet inhibiteur sur les bactéries lactiques [41-46]. Les populations lactiques obtenues au niveau des deux lots sont plus faibles que celles trouvées par d'autres auteurs [47]. Ce faible développement des bactéries lactiques peut être dû à la température de fermentation (de l'ordre de 10 à 14°C) qui est nettement inférieure à la température optimale de croissance des bactéries lactiques (30°C).

- *Levures et moisissure*

Les populations de levures et de moisissures augmentent considérablement durant les 10 premiers jours (Figure 5a et 5b). Puis elles baissent progressivement et restent en fluctuation entre 5,4 et 3,2 Log ufc/ml et entre 4,4 et 3,4 Log ufc/ml, respectivement pour les lots non désamérisés et désamérisés, jusqu'à la fin de la fermentation.

La dominance des levures vers la fin de la fermentation, par rapport aux autres populations microbiennes, peut être justifiée par leur tolérance à des concentrations élevées en sel, en polyphénols, à la forte acidité [48, 49], et

à des températures relativement basses [50]. Les levures sont connues pour leur implication dans la formation des altérations dans les olives, ainsi que la réduction de l'acidité du produit fini [51].

3.2. Essais de fermentation à l'échelle industrielle

3.2.1. Paramètres physicochimiques

- pH

Le pH a chuté de 9,3 et 7,8 pour atteindre durant les deux premiers mois des valeurs des 7,3 et 7, pour les lots désamérisés et non désamérisés respectivement (Figure 6a). Pendant le troisième mois, le pH a chuté rapidement à des valeurs respectives de 5 et 5,2 pour LDI et le LNDI. La chute lente du pH durant la première phase serait due à la soude résiduelle dans les olives désamérisées en plus de l'activité biochimique faible des bactéries lactiques; alors que la chute plus rapide du pH observée au niveau de la 2^{ème} phase pourrait être due à un regain d'activité biochimique des bactéries lactiques, suite à l'augmentation de la température.

- Acidité libre

L'acidité libre a montré, dans les deux lots, une augmentation progressive, pour atteindre un maximum de 0,52% pour le lot non désamérisé et 0,44% pour le lot désamérisé (Figure 6b). Cette différence est due aux restes de soude dans les olives désamérisées qui neutralisent les acides organiques produits au cours du processus de fermentation. En plus de l'activité physiologique des bactéries lactiques et des levures conditionnée par plusieurs facteurs, dont les principaux sont la température et les nutriments fermentescibles [52]. La production importante d'acidité obtenue au niveau des 2 essais, a été rapportée par plusieurs chercheurs [13, 15-18]. Elle est d'une grande importance technologique du fait qu'elle inhibe les bactéries pathogènes responsables de l'altération des olives et améliore par conséquent la qualité bactériologique et organoleptique du produit fini [15, 18, 53, 54].

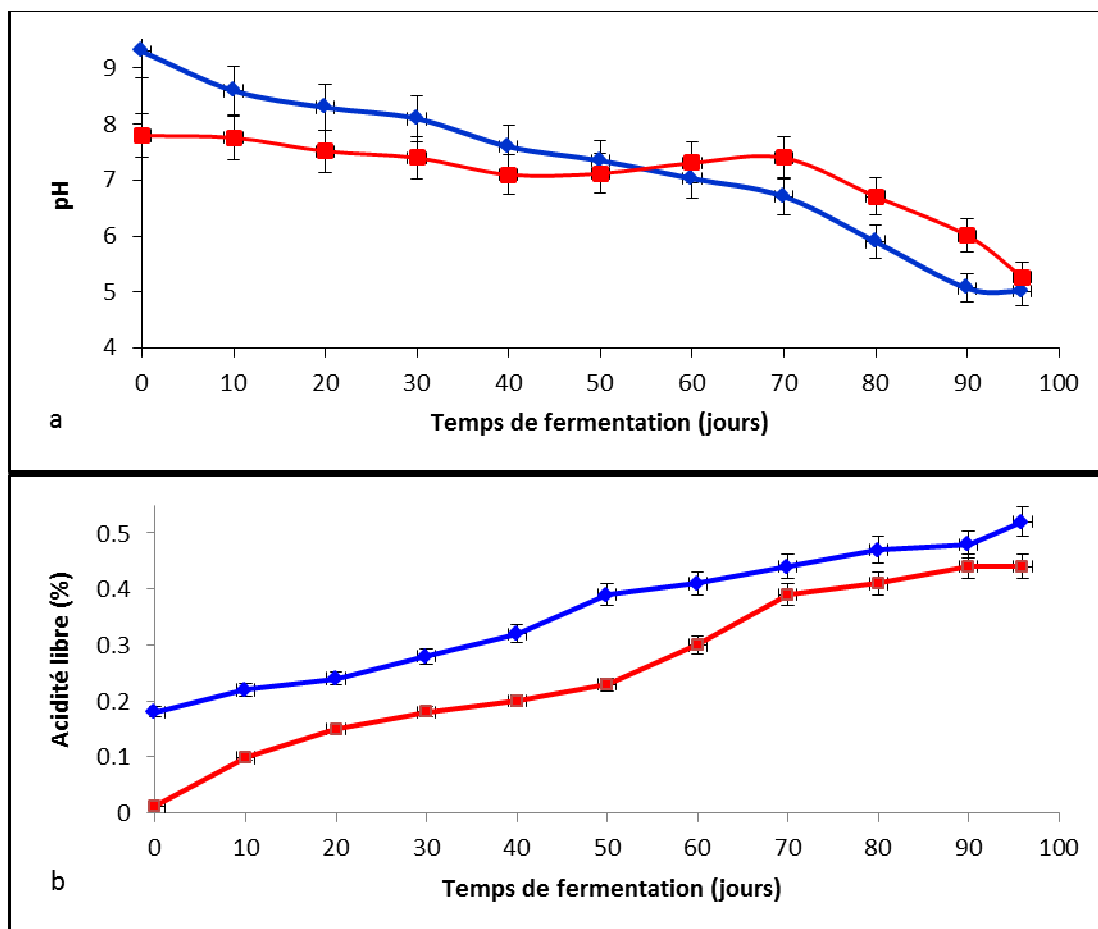


Figure 6: Evolution (a) du pH, (b) de l'acidité libre au cours de la fermentation des olives vertes au niveau industriel. (Légende : (■) lot non désamérisé, (◆) lot désamérisé).

- Température

La température a diminué de 20°C au début de l'expérience à 10°C au cinquantième jour, puis elle a remonté rapidement après pour dépasser 25°C à partir du soixante dixième jour, pour fluctuer entre 25 et 35°C durant le dernier mois de la fermentation (Figure 7). Ces variations de température ont eu des effets sur la croissance et l'activité des microorganismes associés au processus de fermentations des olives.

En effet, deux phases ont été distinguées, la phase de chute et la phase d'augmentation de la température. Ces deux phases coïncident bien avec les phases de variation du pH. En effet, durant la première phase ou la température a diminué, on a constaté une faible chute de pH ; alors que la 2^{ème} phase caractérisée par une montée de la température a été caractérisée par une chute importante du pH qui a un effet négatif sur la croissance des microorganismes, particulièrement les bactéries lactiques.

La température est un des paramètres les plus importants qui influent directement la réussite de la fermentation. Cette dernière se déroule en grande partie en hiver où la température est inférieure aux valeurs optimales de croissance des bactéries lactiques, hautement désirées dans ce processus. En effet, les bactéries lactiques et les levures majoritaires dans ce processus sont connues pour des températures optimales de 25 à 30°C [55, 56].

- Chlorures

Les chlorures diminuent fortement au début de la fermentation, jusqu'au soixante cinquième jour puis ils se stabilisent à 6% et 8% pour le lot non désamérisés et le lot désamérisés respectivement (Figure 8). Cette diminution est due à la diffusion des chlorures dans la pulpe des olives, jusqu'à ce que l'équilibre s'établisse entre le milieu extérieur (la saumure) et le milieu intérieur (la pulpe).

La concentration en sel à un rôle très important dans l'évolution du processus de fermentation. En conséquence, à des concentrations élevées (>8%) les bactéries lactiques responsables de la fermentation peuvent être inhibées [57, 58]. La concentration trouvée, qui est de l'ordre de 6% peut inhiber très fortement une partie de la flore d'altération, notamment les coliformes, sans affecter la flore lactique. Cette concentration en sel est la même concentration optimale pour une fermentation préconisée [58].

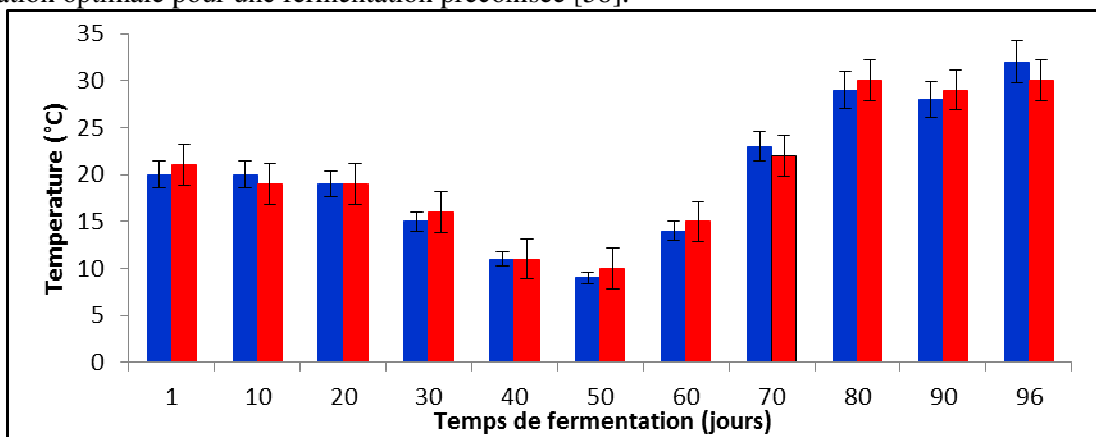


Figure 7: Evolution de la température au cours de la fermentation des olives vertes au niveau industriel. (Légende : ■ lot non désamérisé, ■ lot désamérisé).

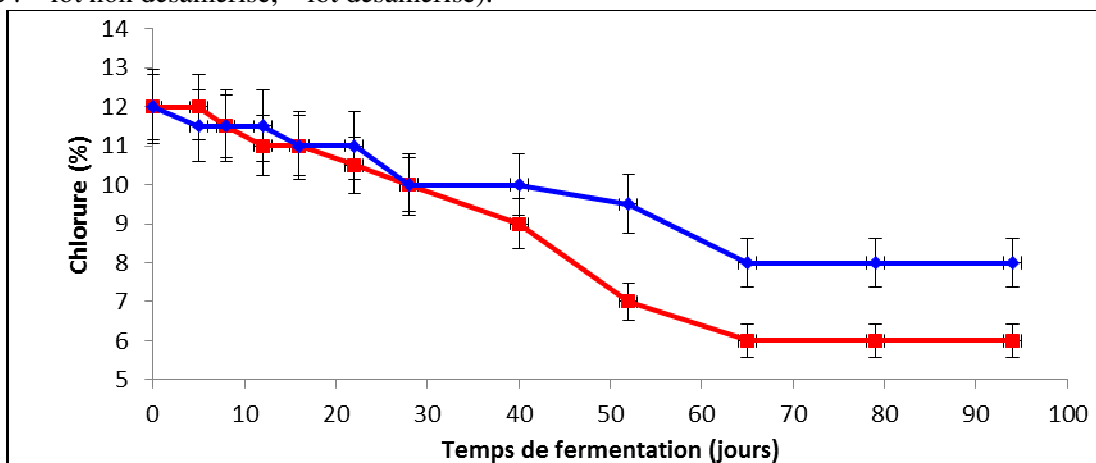


Figure 8: Evolution des chlorures (%) au cours de la fermentation des olives vertes au niveau industriel. (Légende : ■) : lot non désamérisé, (◆) : lot désamérisé).

3.2.2. Paramètres microbiologiques

- Flore mésophile aérobie totale

Au début de la fermentation, les populations de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) augmentent rapidement dans les saumures des deux lots, pour atteindre au bout de seize jours leurs maxima, qui sont de l'ordre de 4Log ufc/ml pour le lot désamérisé, et 4,7Log ufc/ml pour le lot non désamérisé (Figure 9a et 9b). Ensuite, elles diminuent légèrement et restent en fluctuations jusqu'à la fin du processus autour de cette valeur. En comparant les 2 lots, on constate que le lot non désamérisé est relativement plus chargée que le lot désamérisé. On remarque, en plus, que ce dernier montre toujours un certain retard dans le développement de la FMAT par rapport au premier (LNDI). Ceci pourrait être dû aux opérations de désamérisation et des lavages qui éliminent une grande partie de la flore naturelle associées aux olives, et en plus des nutriments fermentescibles.

- Coliformes totaux

Juste après le saumurage, on note un développement des coliformes dans les deux lots (Figure 9a et 9b). Ils atteignent un maximum de 2,5Logufc/ml pour le lot désamérisé et 2,8 Logufc/ml pour le lot non désamérisé au bout de huit jours. Ils chutent ensuite rapidement pour disparaître au bout de 25 et 15 jours,dans le lot désamérisé et le lot non désamérisé respectivement.

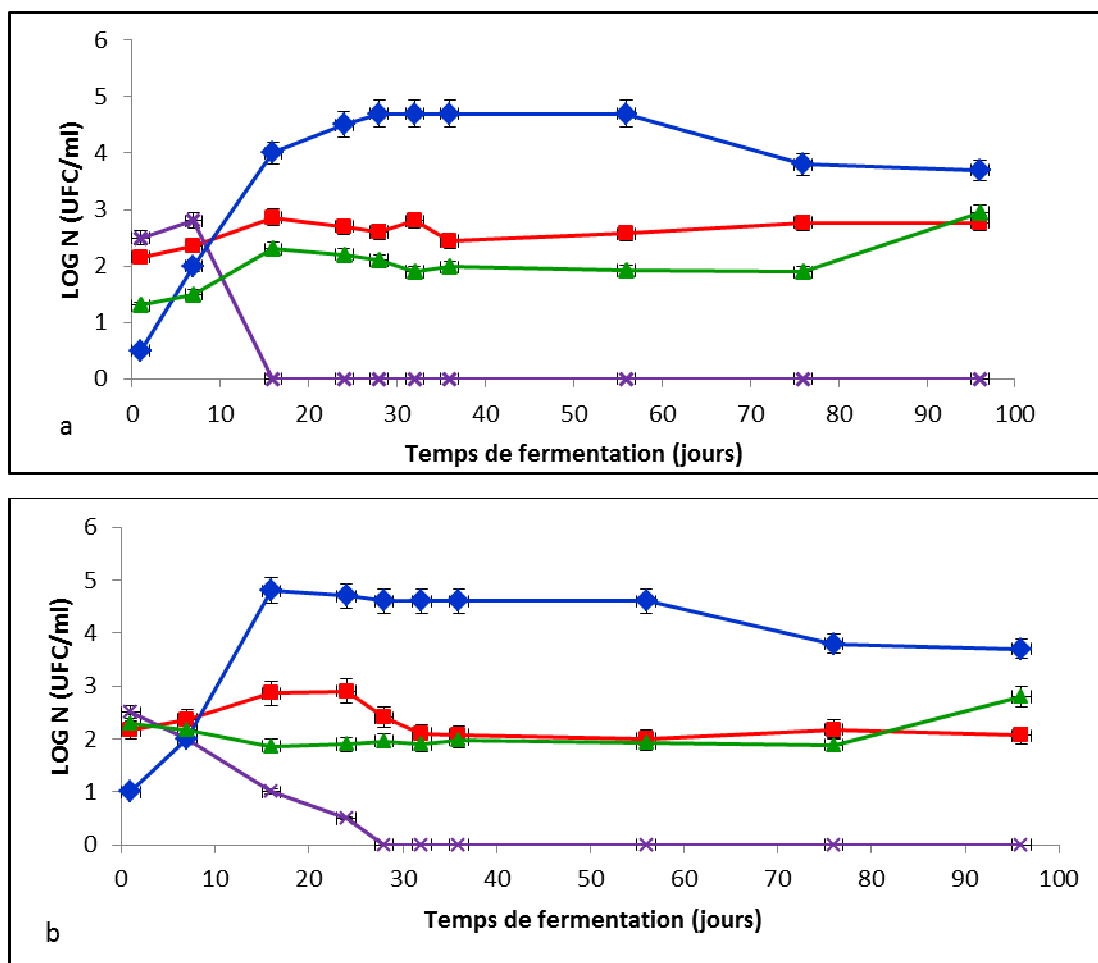


Figure 9: Evolution des populations de FMAT (◆),de Levures (■), de Bactéries lactiques (▲)et de coliformes (x),au cours de la fermentation des olive vertes nondésamérisés (EDNI) (Figure a), et des olive vertes désamérisés (EDI) (Figure b) au niveau industriel.

Le lot désamérisé a montré un certain retard d'installation du processus de fermentation par rapport au lot non désamérisé. Cette différence entre les deux lots peut être expliquée par le traitement de désamérisation et des lavages, qui éliminent une grande partie de la flore indigène des fruits, et demandent de grandes quantités d'acides organiques pour neutraliser la soude résiduelle dans les fruits.

La chute de la population des coliformes est due à l'acidité du milieu [59, 60] ou à des inhibiteurs produits par les bactéries lactiques tels que H₂O₂ et les bactériocines [61-63]. Aussi on peut citer les polyphénols présents dans les olives non désamérisés, qui sont connus pour leur effets antimicrobiens contre les bactéries pathogènes

[64]. L'élimination des coliformes témoigne d'une amélioration naturelle de la qualité hygiénique des olives fermentées.

- *Bactéries lactiques*

Les populations des bactéries lactiques suivent les mêmes allures dans les deux lots (Figure 9a et 9b). Ainsi, un maximum est atteint au bout de 16 jours pour le lot non désamérisé (2,86 Log ufc/ml) et 24 jours pour le lot désamérisé (2,9 Log ufc/ml). Après, la population diminue et se maintient entre 2,07 et 2,44 Log ufc/ml, pendant le reste de la fermentation.

En comparant les deux lots, on constate que la flore lactique est plus abondante au niveau du lot non désamérisé que dans le lot désamérisé. La réduction de cette flore au niveau de ce dernier lot est probablement due à son élimination lors de la désamérisation et des lavages. Les populations lactiques trouvées au niveau des deux lots restent plus faible que celle trouvées dans la littérature [47]. Ce faible développement des bactéries lactiques peut être dû à la faible température observée durant les 2 premiers mois, en plus de la présence de polyphénols (oleuropéine) connus pour leurs effets inhibiteurs sur un grand nombre de bactéries lactiques [41-46]. Ce faible développement des bactéries lactiques peut être à l'origine des faibles acidités trouvées.

- *Levures et moisissures*

Les levures et les moisissures ont montré des fluctuations entre 1,3 et 3 Log ufc/ml et 1,9 et 2,8 Log ufc/ml pour le lot non désamérisé et le lot désamérisé respectivement (Figure 9a et 9b). Au niveau des 2 lots, et durant toute la durée du processus de fermentation, les levures et les moisissures sont plus abondantes que les bactéries lactiques (Figure 9a et 9b). Cette dominance peut être expliquée par leur tolérance aux conditions de stress du milieu (polyphénols, teneurs en sel, pH acides) [49].

Une partie de ces levures et moisissures se développent à la surface de la saumure en créant un film blanc (voile) riche en espèces oxydatives, qui dégradent les acides organiques et neutralisent par conséquent la saumure du milieu [5, 65], ce qui entraîne un retard du processus de fermentation et/ou installation de fermentations indésirables[66].

Conclusion

L'étude physico-chimique et microbiologique du processus de fermentation naturelle des olives vertes, désamérisées et non désamérisées, de la variété Picholine Marocaine, aux niveaux du laboratoire et industriel, nous a permis de conclure que :

- Ce processus s'installe naturellement dans les olives vertes sans nécessiter de désamérisation et à un taux élevé en sel (12%) initialement.
- Les opérations de désamérisation et de lavages (3 lavages), largement pratiquées au niveau industriel, entraînent un retard du processus de fermentation par la réduction de la population lactique et de son activité biochimique.
- La température joue un rôle prépondérant sur la vitesse de déroulement de ce processus. En effet, des températures de l'ordre de 10-14°C retardent le processus ; alors que des températures comprises entre 20 et 30°C sont convenables pour un achèvement rapide du processus de fermentation.
- La maîtrise de la température de fermentation naturelle des olives vertes aux environs de 20-30°C permet aux entreprises de ce secteur de :
 - Augmenter la vitesse de déroulement du processus de fermentation lactique;
 - Réduire le nombre de lavages des olives après désamérisation;
 - Réduire les rejets des eaux de lavage dans l'environnement ;
 - Réduire le coût de production.

Remerciements-Les auteurs tiennent à exprimer leur profonde gratitude pour le CNRST Maroc (Contrat n : PPR/19/2015), la Commission Universitaire pour le Développement (Belgique), l'Université de Lille1 (France) et à l'entreprise TRIFFA Conserves, pour leurs soutiens à la réalisation de ce travail.

Références

1. Guinda Á., Pérez-Camino M.C., Lanzón A., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106 (2004) 22-26.
2. Tabera J., Guinda A., Ruiz-Rodriguez A., Senorans F.J., Ibanez E., Albi T., Reglero G., *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 4774-9.
3. Pereira A., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade P., Seabra R., Estevinho L., Bento A., Pereira J., *Molecules.* 12 (2007) 1153-1162.

4. Ministère De L'agriculture Du Développement Rural Et Des Pêches Maritime, (2014).
5. Fernandez A.G., Fernandez-Diez J., Adams R. *Table Olives: Production and Processing*, ed., S. S. B. Media, 1997.
6. Soler-Rivas C., Espín J.C., Wichers H.J., *J. Sci. Food Agric.* 80 (2000) 1013-1023.
7. Fleming H.P., Walter W.M., Etchells J.L., *Appl. Microbiol.* 26 (1973) 777-782.
8. García J.M., Yousfi K., Mateos R., Olmo M., Cert A., *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 4231-4235.
9. Gutierrez-Rosales F., Rios J.J., Gomez-Rey M.L., *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 6021-5.
10. Andrews P., Busch J., Joode T., Groenewegen A., Alexandre H., *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 1415-1420.
11. Kailis S., Harris D.J. *Producing table olives*, ed., L. Press, 2007.
12. Daeschel M.A., *Food technol.* 43 (1989) 164-167.
13. Balatsouras G., Tsibri A., Dalles T., Doutsias G., *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (1983) 68-74.
14. De La Torre J.E., Moya E.R., Bota E., Sancho J., *Grasas Aceites.* 44 (2010) 274-278.
15. Sanchez A.H., De Castro A., Rejano L., Montano A., *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 5975-80.
16. Sanchez A.H., Rejano L., Montano A., De Castro A., *Int. J. Food Microbiol.* 67 (2001) 115-22.
17. De Castro A., García P., Romero C., Brenes M., Garrido A., *J. Food Eng.* 80 (2007) 1206-1212.
18. Vega Leal-Sánchez M., Jiménez Díaz R., Garrido Fernández A., Rejano Navarro L., Ruiz-Barba J.L., Sánchez Gómez A.H., *Food Microbiol.* 20 (2003) 421-430.
19. Rehm H.J., Reed G., Meyer D., *Acta Biotechnol.* 5 (1985) 26-26.
20. Montaña A., Sánchez A.H., Castro A., *J. Food Sci.* 58 (1993) 842-844.
21. Durán Quintana M., Romero Barranco C., García García P., Brenes Balbuena M., Garrido Fernández A., *Grasas Aceites.* 48 (1997) 297-311.
22. Chammem N., Kachouri M., Mejri M., Peres C., Boudabous A., Hamdi M., *Bioresource technology.* 96 (2005) 1311-1316.
23. Panagou E.Z., Schillinger U., Franz C.M., Nychas G.J., *Food Microbiol.* 25 (2008) 348-58.
24. Pearson D., Cox H.E. *The chemical analysis of foods*, ed., C. Livingstone, 1976.
25. Asehraou A., Peres C., Brito D., Faid M., Serhrouchni M., *Grasas Aceites.* 51 (2000) 225-229.
26. Harris L., *The microbiology of vegetable fermentations*, in: B. B. Wood (Eds.), *Microbiology of Fermented Foods*, Springer US, 1997, pp. 45-72.
27. Bevilacqua A., Corbo M.R., Mastromatteo M., Sinigaglia M., *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24 (2008) 1721-1729.
28. Chorianopoulos N.G., Boziaris I.S., Stamatiou A., Nychas G.J.E., *Food Microbiol.* 22 (2005) 117-124.
29. El Khaloui M., Nouri A. *Procédés d'élaboration des olive de table à base des variétés Picholine Marocaine et Dahbia. Transfert de la technologie en agriculture*, 2007. 152.
30. Asehraou A., Peres C., Faid M., Brito D., *Grasas Aceites.* 53 (2002) 330-334.
31. Lamzira Z., Asehraou A., Brito D., Oliveira M., Faid M., Peres C., *Food Technol. Biotechnol.* 43 (2005) 373-377.
32. Garrido Fernandez P., Brenes Balbuena M., García García P., Durán Quintana M., *Grasas Aceites.* 47 (1996) 197-206.
33. Tassou C.C., Panagou E.Z., Katsaboukakis K.Z., *Food Microbiol.* 19 (2002) 605-615.
34. Özyay G., Borcak M., *Food Res. Int.* 28 (1995) 553-559.
35. Gonzalez-Cancho F., Nosti Vega M., Duran Quintana M.C., A. G.F., M.J. F.D., *Grasas Aceites.* 26 (1975) 297-309.
36. Chammem N., Kachouri M., Mejri M., Peres C., Boudabous A., Hamdi M., *Bioresour Technol.* 96 (2005) 1311-6.
37. Carr F.J., Chill D., Maida N., *Crit Rev Microbiol.* 28 (2002) 281-370.
38. Oberg C.J., Brown R.J., *J. Chem. Educ.* 70 (1993) 653.
39. Sutherland I.W., *Biosynthesis of Microbial Exopolysaccharides*, in: A. H. Rose and J. G. Morris (Eds.), *Adv. Microb. Physiol.*, Academic Press, 1982, pp. 79-150.
40. Franzetti L., Scarpellini M., Vecchio A., Planeta D., *Ann. Microbiol.* 61 (2011) 843-851.
41. Fleming H.P., Etchells J.L., *Appl. Microbiol.* 15 (1967) 1178-1184.
42. Ruiz-Barba J.L., Rios-Sanchez R.M., Fedriani-Iriso C., Olias J.M., Rios J.L., Jimenez-Diaz R., *Syst. Appl. Microbiol.* 13 (1990) 199-205.

43. Rodríguez H., Curiel J.A., Landete J.M., De Las Rivas B., De Felipe F.L., Gómez-Cordovés C., Mancheño J.M., Muñoz R., *Int. J. Food Microbiol.* 132 (2009) 79-90.
44. Hurtado A., Reguano C., Bordons A., Rozes N., *Food Microbiol.* 26 (2009) 827-33.
45. Landete J.M., Curiel J.A., Rodríguez H., De Las Rivas B., Muñoz R., *Food Chem.* 107 (2008) 320-326.
46. Segovia-Bravo K.A., Jarén-Galán M., García-García P., Garrido-Fernández A., *Food Chem.* 114 (2009) 1380-1385.
47. Bravo-Abad F., Inigo R., *Aliment.* 189 (1988) 87-89.
48. Bautista-Gallego J., Rodriguez-Gomez F., Barrio E., Querol A., Garrido-Fernandez A., Arroyo-Lopez F.N., *Int. J. Food Microbiol.* 147 (2011) 89-96.
49. Tofalo R., Perpetuini G., Schirone M., Suzzi G., Corsetti A., *Int. J. Food Microbiol.* 161 (2013) 203-8.
50. Moletta R., Goma G., Durand G., *Arch. Microbiol.* 118 (1978) 293-299.
51. Borcakli M., Özay G., Alperden I., Özsan E., Erdek Y., *Grasas Aceites.* 44 (1993) 253-258.
52. Marin M., *Rev. Off. Fed. Int. Olé.* (1972) pp, 199-209.
53. Spyropoulou K.E., Chorianopoulos N.G., Skandamis P.N., Nychas G.J.E., *Int. J. Food Microbiol.* 66 (2001) 3-11.
54. Skandamis P., Nychas G., *J. Food Prot.* 66 (2003) 1166-1175.
55. Guerzoni M.E., Sinigaglia M., Gardini F., Ferruzzi M., Torriani S., *Am. J. Enol. Vitic.* 46 (1995) 368-374.
56. Betts G.D., Linton P., Betteridge R.J., *Food Control.* 10 (1999) 27-33.
57. Casolari A., Trabucchi G., Gola S., *Ind. conserve.* 55 (1980) 23-30.
58. Balatsouras G., *Grasas Aceites.* 36 (1985) 239-249.
59. Etchells J.L., Costilow R.N., Anderson T.E., Bell T.A., *Appl. Microbiol.* 12 (1964) 523-535.
60. Garrido A., González Pellissó F., González Cancho F., Sánchez F., Rejano L., Cordón J., Fernández Díez M., *Grasas Aceites.* 28 (1977) 267-285.
61. Tagg J.R., Dajani A.S., Wannamaker L.W., *Bacteriol. Rev.* 40 (1976) 722-756.
62. Lewus C.B., Kaiser A., Montville T.J., *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991) 1683-1688.
63. Smaoui S., Elleuch L., Bejar W., Karray-Rebai I., Ayadi I., Jaouadi B., Mathieu F., Chouayekh H., Bejar S., Mellouli L., *Appl. Biochem. Biotechnol.* 162 (2010) 1132-46.
64. Nychas G., Tassou S.C., Board R., *Lett. Appl. Microbiol.* 10 (1990) 217-220.
65. Vaughn R.H., Jakubczyk T., Macmillan J.D., Higgins T.E., Davé B.A., Crampton V.M., *Appl. Microbiol.* 18 (1969) 771-775.
66. Nout M., Rombouts F., Fermented and acidified plant foods, in: B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, and G. W. Gould (Eds.), *The Microbiological Safety and Quality of Food*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 2000, pp. 685-737.

(2015); <http://www.jmaterenvirosci.com>