

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences biologiques



Mémoire de Fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : **BABA HAMOU Meriem Sonia**

MELIK Rayane

Thème

Essai de fabrication du fromage frais à partir du lait de chèvre

Soutenu publiquement Le : 29/09/2020

Devant les membres de jury :

Présidente :	KHALLEF Sakina	MCB	Univ. K. M. Ouargla
Encadreur :	BOURICHA M'hamed	MAA	Univ. K. M. Ouargla
Co-Encadreur:	MOSBAH Said	MCB	Univ. K. M. Ouargla
Examineur :	SAADI Sid Ahmed	MAA	Univ. K. M. Ouargla

Année Universitaire 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de tout un long chemin d'étude :

*Au plus beau cadeau que le bon dieu nous a offert ceux qui m'ont aidé d'achever mon chemin,
ceux qui ont toujours été là pour moi ; à mes chers parents*

*À celle qui a sacrifié tout ce qu'elle a de cher pour me prodiguer une éducation, un soutien, une
assistance et un encouragement pour enfin devenir ce que je suis maintenant*

Ma chère maman

*À celui qui m'a toujours soutenu moralement au cours de mes études, notamment au
cours de mes moments difficiles, à qui j'éprouve toujours un profond respect*

Mon adorable papa

À mes très chères sœurs Amel, Aicha et leur époux Mehdi et Djalel

*À mon cher oncle Hamza, mon conseiller, qui m'a soutenu dans les moments difficiles et pour
traverser ensemble des épreuves, Je suis très reconnaissante, et je ne trouve pas les mots pour te
remercier pour les moments qu'on a passé ensemble*

À celles qui ont une grande place dans mon cœur Mazo, Guma et Sarah

À mes amis : Noussaiba, lina, Houda, Fatma, Hichem et Razik

À mes tantes et mes oncles

À ma nièce : Assil

*Une dédicace à une personne précieuse celle qu'elle est toujours avec moi dans les moments de
joie ou désespoir*

Mazo

*Et bien sûr à ma sœur et ma copine de mon chemin, Meriem qui est toujours à côté de moi et
pour sa sincère et profonde d'amitié et des moments agréables que nous avons passé ensemble.*

Rayane

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant

A mes parents

Vous m'avez éduqué et enseigné le sens de l'honneur, de la dignité, de la probité morale et le respect de soi

Votre soutien et conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie vos objectifs.

Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant.

Qu'Allah puisse vous accorde la santé, le bonheur, et la longévité.

A mon frère : Yacine

A mes sœurs : Souhila et Hanna Merci pour votre encouragement.

A toute ma famille

A ceux qui ont pris une place dans mon cœur Mazo, Rayane et sarah

A Mes proche amies : Noussa, Lina, Rim, Linda, Chaima.

A ma sœur : MAZO qui est toujours là à côté de moi, son cœur plein de joie et d'amour et son encouragement

Je remercie particulièrement ma sœur, mon binôme Rayane, pour son humour, sa vivacité d'esprit, ses précieux conseils et les moments passé ensemble

Et à son adorable famille : Tata Nora, Amou Bachir, Amel, Aicha et la petite Assil, que Dieu les protège

Meriem Sonia

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné la foi en nous a guidant jusqu'à la réalisation et l'aboutissement de ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous voudrions exprimer nos remerciements les plus vifs à Madame KHELLAF Sakina, Maître de Conférences B à l'Université K.M. Ouargla, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider le jury, d'évaluer et d'examiner ce mémoire

Mes plus sincères remerciements vont également à Monsieur SAADI Sid Ahmed, Maître Assistant A à l'Université K.M. Ouargla, pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter d'examiner ce travail

Nous tenant à remercier notre promoteur Monsieur BOURICHA M'hamed, Maître Assistant A à l'Université K.M. Ouargla, pour avoir assuré l'encadrement de ce mémoire, depuis les premiers instants, sa pédagogie, et son ouverture d'esprit pour son aide et ces précieux conseils qui ont été importants pour nous

Nous remercions Monsieur MOSBAH Said, Maître de Conférences B à l'Université K.M. Ouargla, qui nous a honorées en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité.

Nos remerciements vont également à Monsieur (Hamza) de nous avoir permis d'effectuer le stage au sein de son unité.

Nous remercions aussi tout le personnel du laboratoire de Département de science de la nature et de la vie pour leurs aides.

Liste des abréviations

Aw : Activité d'eau

ABS : Absence

AFNOR : Association française de normalisation est l'organisation française

ARN : Acide ribonucléique

BCPL : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol

CO₂ : dioxyde de carbone

CT : Coliformes totaux.

CF : Coliformes fécaux.

°D : Dornic (acidité)

DLC : Date limite de consommation

E : Echantillon

EPS : Exo polysaccharide

EST : Extrait sec totale

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FMAT : Flore mésophile aérobie total.

H₂O₂ : peroxyde d'oxygène

Ind sup : indénombrable supérieur

JORA : Journal Officiel République Algérienne.

Ln: *Leuconostoc*.

MRS: Man Rogosa et Sharpe.

NA : Norme Algérienne.

NPP : Nombre le Plus Probable.

NaOH : Hydroxyde de sodium

PCA : Plant Count Agar.

pH : Potentiel hydrogène.

Red/Ox : Oxydoréducteur.

S : *Staphylococcus aureus*

UHT : ultra haute température

UI : unité internationale

UFC : Unité formant colonie

VF : Viande Foie.

Liste des figures

Figure1 : Les facteurs de variation de la composition du lait (Vignola, 2002).....	4
Figure 2 : Aspect microscopique des bactéries lactiques observe au microscope électronique a transmission (M.E.T) x10000 : (A) Lactobacillus Rosell-11 ; (B) leuconostoc lactis.....	17
Figure 3 : Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres Aerococcus, Bacillus, Listeria et Staphylococcus d’après (Axelsson, 2004).....	18
Figure 4 : Schéma représentatif des étapes de fabrication du fromage frais par deux voies de fermentation	24
Figure 5 : Fromage frais obtenu par fermentation spontanée	32
Figure 6 : Résultat de mesure de pH	33
Figure 7 : Résultat de l'acidité Dornic.....	34
Figure 8 : Résultat de la matière sèche.....	35
Figure 9 : Résultat de la matière grasse	36
Figure 10 : Graphe représente les résultats de dénombrement de FMAT	40
Figure 11 : Graphe représente les résultats de dénombrement des BL	41

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vignola, 2002).....	4
Tableau 2: Principales caractéristiques physicochimiques du lait de chèvre (FAO, 1990).....	5
Tableau 3: Flore indigène du lait (Carole et al., 2002).....	6
Tableau 4: Composition moyenne et valeur énergétique pour 100g de fromage frais (Eck, 1987).	9
Tableau 5 : Résultats relatifs aux caractéristiques physico chimiques.	33
Tableau 6: Classement de lait en fonction de test réductase (Jean Paul Larpent, 1997).....	37
Tableau 7: Analyses microbiologiques de lait et fromage.....	38

Résumé

Le but de cette étude consiste à évaluer l'effet de type de fermentation sur la qualité et la conservation d'un fromage frais. Deux types de fermentation sont utilisés pour fabriquer un fromage frais à partir de lait de chèvre issu de la région de Mkhadema, Ouargla. Le premier par fermentation spontanée et l'autre fermenté par une souche autochtone *Leuconostoc sp.* La conservation est assurée par entreposage à 4°C soit par ou sans addition de sel. La qualité microbiologique est investiguée par le dénombrement de certains microorganismes pathogènes et d'altération. La qualité physicochimique correspond à la détermination du pH et de l'acidité ainsi que la détermination du taux de la matière grasse.

Les résultats du contrôle microbiologique montre que le lait de chèvre et le fromage frais sont de qualité acceptable (charges microbiennes de la FMAT de $1,3 \cdot 10^6$ et $2,58 \cdot 10^5$ UFC/ml pour les bactéries lactique et l'absence totale des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur*), Sur le plan physicochimique, les résultats de la plupart des échantillons du lait et du fromage obtenus sont proches ou conformes aux normes, (un pH de 6,47 et une acidité de 17° avec 1,7% de matière grasse pour le lait et un pH de 4,66, une acidité de 23° avec 1.5% de matière grasse pour le fromage). Après conservation à 4°C pour les deux types de fromage avec sel et sans sel, les résultats montrent l'absence totale des (coliforme totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur* et levure et moisissure), mais il existe certaine différence pour FMAT et les bactéries lactiques d'une charge de $1,04 \cdot 10^8$ UFC/g et $8,4 \cdot 10^7$ UFC/g pour le fromage avec sel par contre pour le fromage sans sel a une charge indénombrable ce qui explique l'effet de sel.

L'utilisation d'une souche lactique conduit à l'amélioration de la qualité du fromage et sur conservation.

Mots clés : Lait de chèvre, Fromage frais, Fermentation, *Leuconostoc*, Conservation, Additif.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of the type of fermentation on the quality and conservation of a fresh cheese. Two types of fermentation are used to produce a fresh cheese from goat's milk from the region of Mkhadema, Ouargla. The first by spontaneous fermentation and the other one fermented by an autochthonous strain *Leuconostoc* sp. Preservation is ensured by storage at 4°C either with or without the addition of salt. The microbiological quality is investigated by the enumeration of certain pathogenic and spoilage microorganisms. The physicochemical quality corresponds to the determination of pH and acidity as well as the determination of the fat content.

The results of the microbiological control show that goat's milk and fresh cheese are of acceptable quality (FMAT microbial loads of $1,3 \cdot 10^6$ and $2,58 \cdot 10^5$ UFC/ml for lactic acid bacteria) and the total absence of pathogenic germs (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducing*). On the physicochemical level, the results of most of the milk and cheese samples obtained are close to or conform to the standards, (a pH of 6.47 and an acidity of 17° with 1.7% fat for milk and a pH of 4.66, an acidity of 23° with 1.5% fat for cheese). After conservation at 4°C for both types of cheese with salt and without salt, the results show the total absence of (total and fecal coliform, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducing* and yeast and mould), but there is some difference for FMAT and lactic acid bacteria with a load of 1.04.108UFC / g and 8.4.107 UFC / g for cheese with salt on the other hand for cheese without salt has an uncountable load which explains the salt effect.

The use of a lactic strain leads to an improvement in the quality of the cheese and its preservation.

Key words: Goat's milk, Fresh cheese, Fermentation, *Leuconostoc*, Preservation, Additive.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير نوع التخمير على جودة الجبن الطازج وحفظه. يتم استخدام نوعين من التخمير لإنتاج جبن طازج من حليب الماعز من منطقة مخادمة بورقلة. الأول عن طريق التخمير التلقائي والآخر يتخمّر بواسطة سلالة أصلية *Leuconostoc sp*. يتم ضمان الحفظ عن طريق التخزين عند 4 درجات مئوية مع أو بدون إضافة الملح. يتم التحقق من الجودة الميكروبيولوجية من خلال تعداد بعض الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض والتلف. تتوافق الجودة الفيزيائية والكيميائية مع تحديد درجة الحموضة والحموضة وكذلك تحديد محتوى الدهون.

أظهرت نتائج المكافحة الميكروبيولوجية أن لبن الماعز والجبن الطازج ذات جودة مقبولة (الأحمال الميكروبية من FMAT $1.3.10^6$ و $2.58.10^5$ UFC / ml لبكتيريا حمض اللاكتيك والغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض (*Staphylococcus aureus*) ، من الناحية الفيزيائية ، نتائج معظم عينات الحليب والجبن التي تم الحصول عليها قريبة من المعايير أو تتوافق معها ، (درجة حموضة 6.47 وحموضة 17 درجة مع 1.7 ٪ دسم للحليب ودرجة حموضة 4.66 ، حموضة 23 درجة مع 1.5 ٪ دهن للجبن) بعد التخزين عند 4 درجات مئوية لكلا النوعين من الجبن بالملح وبدون ملح ، أظهرت النتائج الغياب التام لـ (القولونيات الكلية والبرازية ، المكورات العنقودية الذهبية ، كلوستريديوم الكبريتو المختزل والخميرة والعفن) ، ولكن هناك بعض الاختلاف بين FMAT وبكتيريا حمض اللاكتيك بحمل $1.04.10^8$ UFC / g و $8.4.10^7$ CFU / g للجبن بالملح من ناحية أخرى للجبن بدون ملح حمولة غير معدودة مما يفسر تأثير الملح.

يؤدي استخدام سلالة اللاكتيك إلى تحسين جودة الجبن وحفظه.

الكلمات المفتاحية: حليب الماعز، الجبن الطازج، التخمير، *Leuconostoc*، الحفظ، المادة المضافة

Table Des Matières

Dédicace

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

I.	Généralités sur le lait.....	3
I.1	Définition du lait	3
I.2	Composition du lait de chèvre.....	3
I.3	Caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre	5
I.4	Microflore du lait	5
I.4.1	Flore originelle	6
I.4.2	Flore de contamination du lait.....	6
I.4.2.1	Flore d'altération.....	6
I.4.2.2	Flore pathogène.....	7

Chapitre II : Fromage

II	Transformation du lait au fromage.....	8
II.1	Définition du fromage	8
II.2	Composition chimique du fromage	8
II.3	Principales étapes de la fabrication fromagère.....	9
II.3.1	Coagulation du lait	9
II.3.1.1	Coagulation par acidification	9
II.3.1.2	Coagulation par les enzymes :	10
II.3.2	Egouttage.....	10
II.3.3	Salage.....	10
II.3.4	Affinage.....	11
II.4	Fromages traditionnels Algériens.....	11
II.4.1	Bouhezza	11
II.4.2	Madghissa.....	11
II.4.3	Takammart	12

II.4.4	Méchouna	12
II.4.5	Ighounane	12
II.4.6	Aghoughelou	12
II.4.7	Klila.....	12
II.4.8	Takmmarit (Kemaria).....	12
II.4.9	J'Ben.....	13
II.5	Définition du fromage frais	13
II.6	Mode de fabrication de fromage frais	13
II.6.1	Fermentation spontanée.....	13
II.6.2	Fermentation dirigé	14
II.7	Microflore de fromage	14
II.7.1	Flore d'altération	14
II.7.2	Flore de contamination.....	14

Chapitre III : Les bactéries lactiques

III	Les bactéries lactiques.....	16
III.1	Définition des bactéries lactiques.....	16
III.2	Habitat	17
III.3	Classification des bactéries lactiques	17
III.4	Taxonomie des bactéries lactiques	17
III.5	Le genre <i>leuconostoc</i>	18
III.5.1	Généralités et propriétés de <i>leuconostoc</i>	18
III.5.2	Classification du genre <i>leuconostoc</i>	19
III.6	Propriétés des bactéries lactiques	20
III.6.1	Activité protéolytique.....	20
III.6.2	Activité lipolytique.....	20
III.6.3	Activité acidifiante	20
III.6.4	Activité texturante	20
III.6.5	Activité aromatisante.....	21
III.6.6	Activité antimicrobienne	21

Matériel et méthodes

I.	Matériel et méthodes.....	22
I.1	Lieu du travail	22
I.2	Revivification et purification des souches	22
I.3	Pré identification des souches	22

I.3.1	Examen macroscopique.....	22
I.3.2	Examen microscopique (Coloration de Gram).....	22
I.3.3	Test de la catalase.....	23
I.3.4	Type fermentaire	23
I.4	Conservations des isolats	23
I.5	Choix des souches	23
II	Echantonnage	24
II.1	Préparation du fromage	25
II.1.1	Préparation par fermentation spontanée.....	25
II.1.2	Préparation par fermentation dirigée.....	25
III	Contrôle microbiologique du lait et de fromage	26
III.1	Test physico-chimique	26
III.1.1	Détermination du poids du fromage.....	26
III.1.2	Détermination du pH.....	26
III.1.3	Détermination de l'acidité titrable.....	26
III.1.4	Mesure de la teneur en matière sèche totale.....	27
III.1.5	Détermination du taux de matière grasse	27
III.2	Analyse Microbiologique des échantillons	28
III.2.1	Test de réductase pour le lait.....	28
III.2.2	Préparation des dilutions	28
III.2.3	Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	28
III.2.4	Recherche et dénombrement de la flore lactique	29
III.2.5	Recherche et dénombrement des coliformes.....	29
III.2.6	Recherche des Staphylocoques	30
III.2.7	Recherche des Clostridiums sulfite –réducteurs	30
III.2.8	Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	30
III.2.9	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	30

Résultats et discussion

I.	Résultats et discussion.....	31
I.1	Revivification et purification des souches lactiques	31
I.1.1	Sur Milieu liquide.....	31
I.1.2	Sur Milieu solide	31
II.	Pré-identification des souches	31
II.1.	Observation microscopique (Coloration de Gram)	31

II.2.	Test catalase	31
II.3.	Recherche de type fermentaire	31
III.	Choix des souches	32
IV.	Analyses macroscopiques et organoleptiques du fromage.....	32
IV.1.	Détermination du poids	32
IV.2.	Description de fromage préparé par fermentation spontanée.....	32
V.	Analyses physico-chimiques	32
V.1.	Mesure de pH	33
V.2.	Mesure l'acidité dornic (°D)	34
V.3.	Matière sèche.....	35
V.4.	Matière grasse(MG)	36
VI.	Analyse microbiologique	37
VI.1.	Test de réductase	37
VI.1.	Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile FMAT.....	39
VI.2.	Dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS.....	40
VI.3.	Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	41
VI.4.	La recherche des Staphylocoques	42
VI.5.	Les Clostridium sulfito-réducteurs.....	43
VI.6.	Dénombrement des levures et moisissures.....	43
VI.7.	La recherche des Streptocoque.....	44
	Conclusion.....	46
	Références bibliographique	47
	Annexes	60

Introduction

Introduction

En Algérie, le lait et ses dérivés constituent une denrée de grande consommation. Ils sont consommés sous forme de lait reconstitué ou de lait recombinaison, de yaourt, de lait caillé ou de fromage. La moyenne de la consommation du lait a été estimée à 120 l par habitant en 2013. A titre de comparaison, cette moyenne est respectivement de 83 l/an/habitant pour la Tunisie et de 64 l/an/habitant pour le Maroc (**Kacimi et Hassani, 2013**).

Parmi tous les aliments et sur la base de son contenu nutritionnel, le lait est considéré comme étant l'un des plus complets et des mieux équilibrés. Sur le plan physico-chimique, il se définit comme une émulsion de matières grasses sous forme de globules de gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines du lactosérum, etc.) et les autres sous forme colloïdale (caséines). Enfin, certains éléments, comme les minéraux, peuvent être soit à l'état dissous dans le sérum, soit à l'état colloïdal lorsqu'ils sont associés aux micelles de caséines (**Doyon et al., 2005**).

La teneur en eau et en nutriments du lait fait de lui une denrée alimentaire hautement périssable qui favorise la croissance de microorganismes tels que les levures, les moisissures et les bactéries (**Maiwore et al., 2018**).

Le lait de chèvre joue un rôle essentiel dans l'alimentation humaine, c'est le plus consommé par la communauté rurale, alors qu'il est très peu disponible sur le marché. Commercialement, le lait de chèvre est transformé en produits tels que Raib, Lben, klila, la crème, beurre frais et le J'ben (produits traditionnelles locaux) (**Badis et al., 2004**).

Le fromage est à son origine, un mode de conservation du lait ou du moins des éléments susceptibles d'être conservés, au prix de fermentations que l'homme a appris à diriger (**Eck and Gillis, 2006**). Le fromage constitue un élément important dans l'alimentation humaine. Ses taux élevés en lactose, lipides et en protéines en faisant de lui un aliment nutritif, riche en énergie (**Walther et al, 2008**).

Plusieurs variétés de fromage tel que le fromage frais « j'ben » sont préparés à partir du lait de vache, de chèvre et de brebis, à travers le monde, dans des fermes suivant des techniques traditionnelles, sans addition intentionnelle de levains, et sont généralement conçues comme des " fromages artisanaux (**Desmazeaud, 1997 ; Randazzo et al., 2009**).

Les différentes phases d'élaboration du fromage vont dépendre de la présence de microorganismes utiles. Ces germes vont conditionner la réussite du fromage en lui donnant ces caractéristiques de texture, de saveur, d'aspect etc. Produire un fromage consiste à sélectionner et

à favoriser les germes utiles, tout en limitant la contamination par des germes indésirables et entravant leur développement. (Le Jaouen J.C, 1993).

Les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires en permettant de développer certaines caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production des acides organiques (acides lactiques et acétiques) faisant baisser le pH, et par synthèse de bactériocines qui renforce cette conservation (Bekhouche et Boulahrouf, 2005 ; Tabak et Bensoltane, 2012), mais aussi d'autres métabolites aux propriétés antimicrobiennes telles que peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone et le di-acétyle. Donc, ces bactéries lactiques jouent un rôle hygiénique important en sécrétant une variété de composés inhibiteurs empêchant le développement de bactéries indésirables (Zarour *et al.*, 2013).

Parmi les bactéries lactiques utilisées dans les industries laitières : le genre de *Leuconostoc* qui est très utilisé en technologie fromagère pour son aptitude à produire le CO₂ ; certaines espèces de *Leuconostoc* ont été proposées pour la bioconservation des produits alimentaires contre les flores pathogènes et/ou d'altération (Hansal, 2015).

La courte durée de conservation des fromages frais dans l'industrie artisanale est un grand problème posé par les vendeurs. L'addition d'additifs chimiques dans ces industries conduit à la perte des caractéristiques organoleptiques artisanales de ces produits de terroir. Par ailleurs, la bioconservation des fromages frais reste la méthode la plus sécurisée (Dahou, 2017).

A cet effet, le but de la présente étude consiste à évaluer l'effet du type de fermentation au cours de la fabrication du fromage frais sur sa qualité de conservation.

L'objectif de notre travail est :

- Étudier la qualité microbiologique et physicochimique de lait de chèvre provenant de la région de Ouargla destinée à la fabrication du fromage
- Essai de fabrication de fromage frais à partir du lait de chèvre
- Influence de la microflore initiale du lait et d'agent additif (sel) sur la qualité microbiologique du fromage traditionnel.
- Avoir une souche du genre *Leuconostoc* performante afin de fabrication des fromages frais et d'évaluer son aptitude conservatrice

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le lait

I. Généralités sur le lait

I.1. Définitions du lait

Selon le Codex Alimentarius en 1999, le lait est une substance définie comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Le lait est un produit naturel sécrété par les glandes mamelles des différentes espèces de mammifères comme : la vache, brebis, chèvre et chamelle. Cet aliment est une source élémentaire très importante en lipides, glucides et une grande majorité de protéines notamment les minéraux avec des concentrations faibles tel que : calcium, potassium et aussi en vitamine B12, de la riboflavine, ces éléments nutritifs ont un grand intérêt nutritionnel pour les êtres humains et indispensable pour le nouveau-né (Carole, 2002 ; Kaan *et al.*, 2007).

D'après Aboutayeb, (2009) le lait est un liquide comestible de couleur blanchâtre au jaunâtre opaque de saveur légèrement sucrée de densité supérieure à celle de l'eau avec une odeur peu marquée mais reconnaissable. Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Chye *et al.*, 2004).

Le lait destiné à la consommation ne pourra être mis en vente que s'il provient de femelles laitières en parfait état sanitaire. Cela signifie que le lait provenant d'animaux non reconnus indemne de tuberculose, de brucellose, de mammites, de fièvre ne peut être considérée comme propre à la consommation humaine en nature (Fall, 1997).

I.2. Composition du lait de chèvre

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants constitués d'une solution vraie, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion (Vignola, 2002). Elle varie d'une espèce animale à une autre (tableau 1).

Le lait de chèvre est un liquide blanc composé de lipide, de protéine, des glucides et de minéraux en solution qui sont voisines au lait de vache. (Vignola, 2002). Mais contrairement. Ce dernier possède une couleur blanche très caractéristique en raison de l'absence de pigments caroténoïdes (Pradal, 2012).

La qualité et la composition du lait de chèvre varient en fonction de nombreux facteurs liés à l'animal, à son environnement et aux conditions d'élevage, tel que le type de la traite, l'alimentation, le stade de lactation, la saison, la longueur de la lactation, l'état physiologique et la santé de l'animale (Carnicella *et al.*, 2008 ; Goetsch *et al.*, 2011 ; Pradal, 2012).

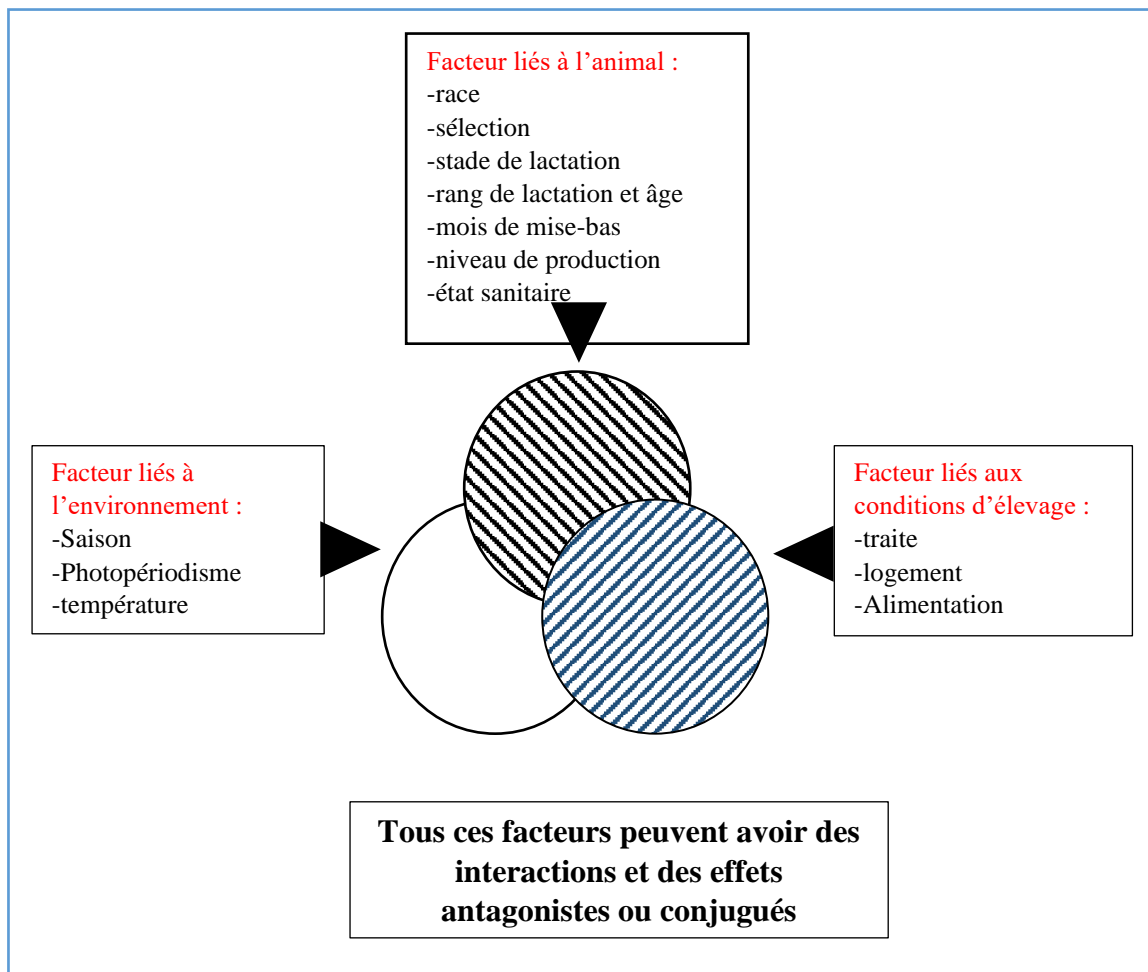


Figure1 :Les facteurs de variation de la composition du lait (Vignola, 2002).

Tableau 1: Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vignola, 2002).

	Eau (%)	Matière grasse (%)	Protéine (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Jument	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5

I.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité. Le tableau sous dessous représente les caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre.

Tableau 2: Principales caractéristiques physicochimiques du lait de chèvre (FAO, 1990).

Energie (kcal/litre)	600-750
Densité du lait entier à 20C°	1.027-1.035
Point de congélation (°C)	-0,550- -0,583
pH à 20C°	6,45-6,60
Acidité titrable (° dornic)	14-18
Tension superficielle su lait entier à 15°C (dynes cm)	52
Conductivité électrique à25°C (siemens)	43-56.10 ⁻⁴
Viscosité du lait entier à20°C (centpoises)	1,8-1,9
Indice de réfraction	1,35-1,46

I.4. Microflore du lait

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement (Gosta, 1995).

Le lait dans les cellules du pis est stérile (Tolle, 1980), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Ménard *et al.*, 2004).

I.4.1. Flore originelle

Le lait est pratiquement stérile à sa sortie du pis, il est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain moins de 10^3 /ml (Guiraud, 2012).

Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (tableau 3). Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Guiraud, 2003).

La microflore naturelle du lait cru est un facteur qui exprime ses caractéristiques sensorielles, la charge microbienne dans la glande mammaire d'un animal en bonne santé est faible (Fotou *et al.*, 2011).

D'autres micro-organismes pathogènes et dangereux peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection de pis ; comme il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait (Guiraud, 2003).

Tableau 3: Flore indigène du lait (Carole *et al.*, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	<10
Bactéries à gram négatif	<10

I.4.2. Flore de contamination du lait

Cette flore correspond à l'ensemble des microorganismes de notre environnement pouvant contaminer le lait de la traite jusqu'à la consommation. Elle est composée d'une flore d'altération et d'une flore pathogène.

I.4.2.1. Flore d'altération

Sont des microorganismes qui contaminent le lait de la traite jusqu'à la consommation sauf s'il est consommé à l'état cru, qui provoque la dégradation de la qualité organoleptique d'un produit au niveau du goût, de l'arôme, de l'apparence ou de la texture ou contribuer à réduire le temps de conservation (Mami, 2013).

Les principaux microorganismes d'altération sont : *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, Coliformes, principalement *E. coli*, Enterobacter. Les sporulés tels que *Bacillus sp*, Clostridium et certaines levures et moisissures. (Carole *et al*, 2002)

I.4.2.2. Flore pathogène

La flore pathogène est incluse dans la flore contaminant du lait, ce sont des flores provenant des différentes sources animales, environnementales et humaines provoquant l'apparition des troubles plus au moins grave chez le consommateur de lait (Kabir, 2015).

Ces microorganismes pathogènes associe à les produits laitier sont : *Salmonella sp*, *staphylococcus aureus*, *Brucella cereus*, *yersinia enterolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Eschrichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonei*, *Brucella abortis*, *Mycobacterium tuberculosis* et certaines et moisissures qui sont plupart toxigènes. (Kabir, 2015 ; Mami, 2013).

Chapitre II

Fromage

II. Transformation du lait au fromage

Le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage (**Carole, 2002**).

La fermentation du lait conduit un abaissement du pH qui augmente la stabilité et la durée de conservation du produit laitier qui conduit à inhiber la prolifération microbienne. En outre, les bactéries lactiques produisent plusieurs composés antimicrobiens tels que les acides organiques (lactique, acétique, formique, caproïque), le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (**Mosbah, 2019**).

Il existe plusieurs variétés de fromages connues dans le monde entier, c'est plus de 1000 variétés de fromages sont produites dans le monde (**Irlinger et Mounier, 2009**).

II.1. Définition du fromage

Le fromage correspond à un véritable moyen de conservation et de stockage ancestral des principaux composants du lait (**Irlinger et Mounier, 2009**). Selon la norme codex, le fromage est défini comme un produit fermenté ou non, affiné ou non de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport entre le taux de protéines lactosériques et caséiques ne dépasse pas celui du lait (**Carole, 2002**).

Il est obtenu par coagulation complète ou partielle des protéines du lait, et par égouttage du lactosérum résultant de cette coagulation (**Leksir et Chemmam, 2018**). Les fromages sont obtenus à partir des matières d'origines exclusivement laitières, lorsqu'ils sont fermentés, ont subi une fermentation à prédominance lactique combinant souvent l'action des ferments lactiques à celle de la présure, et doivent renfermer une flore vivante. Ils sont traditionnellement des fromages à égouttage lent, avec une DLC (date limite de consommation) de 24 jours (**Mahaut et al., 2000 ; Luquet et Corrieu, 2005**).

II.2. Composition chimique du fromage

Les fromages représentent un groupe alimentaire très hétérogène dont la constitution est très variable selon la qualité de la matière première utilisée ou selon la technique de fabrication (Tableau 4). Le fromage est très riche de part de sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et minéraux (**Walther et al, 2008**).

Tableau 4: Composition moyenne et valeur énergétique pour 100g de fromage frais (Eck, 1987).

composition	Valeur pour 100g de fromage frais
Eau	79g
Energie	118Kcl
Lipides	4g
Protéines	7.5g
Calcium	8.5g
Phosphore	100mg
Magnésium	140mg
Potassium	130mg
Sodium	40mg
Zinc	0.5mg
Vitamine	170UI
Thiamine	0.03mg
Riboflavine	0.15mg

II.3. Principales étapes de la fabrication fromagère

Les principes de base de la fabrication des fromages sont les mêmes pour presque toutes les catégories de fromages. Elle consiste à enlever l'eau du lait avec pour conséquence la concentration de six à dix fois d'une partie des protéines principalement caséine, lipides, minéraux et vitamines par phénomène d'agglomération avec l'expulsion de lactosérum. Les processus impliqués sont : la coagulation, l'égouttage, le salage et l'affinage (Abbas, 2012 ; Aissaoui, 2014).

II.3.1. Coagulation du lait

La coagulation correspond à une modification physico-chimique des micelles de caséine sous l'action d'enzymes protéolytiques et/ou d'acide lactique. Celle-ci entraîne la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement selon que ces modifications sont induites par acidification ou par actions d'enzymes coagulantes ou encore par l'action combinée des deux (Brulé *et al.*, 1997).

II.3.1.1. Coagulation par acidification

Le mécanisme de la coagulation acide est de nature électrochimique. Elle est provoquée par la flore lactique qui transforme le lactose en acide lactique ou par addition d'un acide minérale ou organique comme l'acide citrique (Gelais et Tirard, 2002). Le pH du lait de fromagerie

diminue avec la production d'acide. Ce qui provoque une solubilisation du phosphate et du calcium colloïdal, un élément important dans la stabilité des micelles de caséine. Ces dernières vont se lier entre-elles et former un gel cassant très friable et peu élastique

(Ramet, 1997).

Si l'acidification est rapide par addition d'un acide minéral ou organique, il y a floculation des caséines à pH 4,6 sous la forme d'un précipité plus ou moins granulé dispersé dans le lactosérum. Par contre, une acidification progressive, obtenue soit par fermentation lactique, soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait **(Eck et Gillis, 2006).**

II.3.1.2. Coagulation par les enzymes

Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétales ou microbienne, qui ont la propriété de coaguler le complexe caséique. Traditionnellement, le coagulant de choix est la présure, dérivé de la caillette des jeunes ruminants nourris au lait, dont le principal ingrédient actif est la chymosine mélangée avec la pepsine aussi des sources fongiques telles que *Rhizomucor meihe* **(Bennett et Johnston, 2004 ; Eck et Gillis, 2006).**

II.3.2. Égouttage

Dans un coagulum laissé au repos, l'égouttage se traduit par une élimination progressive du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique qui s'accompagne d'une rétraction (synérèse) et d'un durcissement corrélatif du gel donc formation du caillé ou caillebotte **(Tormo, 2010).**

Il s'agit donc d'une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage. Le lactosérum est constitué, par la plus grande partie, des éléments solubles du lait (lactose, sels minéraux et protéines sériques) et quelques fractions insolubles mineures (composés azotés, matières grasses) qui sont en effet expulsées du gel conjointement à l'eau. A l'opposé, la quasi-totalité de la caséine et des matières grasses se retrouvent dans le fromage sous forme plus ou moins concentrée en fonction de la teneur en lactosérum résiduel **(Ramet, 1997).**

II.3.3. Salage

Le salage s'effectue de différentes façons, en saupoudrant le caillé de sel, en l'immergeant dans la saumure ou encore en le frottant avec un chiffon salé **(Mahaut, 2000).**

Le salage a plusieurs rôles, il présente un rôle technologique en complétant l'égouttage et contribution du caillé à la formation de la croûte, ainsi que, il règle l'activité de l'eau (A_w) du fromage, il la favorise, comme il freine ou oriente le développement des micro-organismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage.

Un rôle sensoriel en donnant une saveur marquée au produit, rehausse l'arôme du fromage et masque ou exalte le goût de certaines substances formées au cours de l'affinage (**Abbas, 2012 ; Leskir, 2018**).

II.3.4. Affinage

L'affinage est une étape clé pour le développement des qualités spécifiques de chaque fromage (**Abbas, 2012**).

Elle correspond à une digestion enzymatique par des enzymes protéolytiques et lipolytiques. Ces enzymes sont soit d'origine microbienne ou ils correspondent à l'enzyme coagulant ou à l'enzyme du lait et des constituants du caillé égoutté. Le fromage subit alors un affinage (ou maturation) qui va modifier sa composition, sa valeur nutritive, sa digestibilité et qui lui confèrera à la fin des caractères organoleptiques (texture, odeur et saveur) caractéristiques selon le type de fromage recherché (**Vignola, 2010**).

Cette étape est réalisée dans des conditions de température et d'hygrométries bien déterminées qui sont en partie à l'origine d'un croutage différent des fromages (**Tormo, 2010**).

II.4. Fromages traditionnels Algériens

Le fromage est le groupe de produits laitiers le plus important et le plus diversifié. Leur production artisanale est fortement liée au «terroir». Les fromages traditionnels sont des biens culturels qui méritent d'être étudiés, caractérisés et protégés (**Leksir et Chemmam, 2015**).

Parmi les fromages traditionnels algériens :

II.4.1. Bouhezza

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, préparé à l'origine à partir du lait de chèvre ou de brebis, mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache. Il est très répandu dans l'Est Algérien, plus précisément dans les régions d'Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certaines régions de Batna (**Mekentichi, 2003**).

Le fromage est obtenu après transformation du Lben dans la Chekoua, préalablement traitée avec du sel et du genièvre. L'égouttage, le salage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans la Chekoua pendant une durée de 2 à 3 mois. Au cours de la période d'affinage, du Lben et du lait sont rajoutés au contenu de la Chekoua. Au stade de la consommation, le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière (**Aissaoui et al., 2006**).

II.4.2. Madghissa

Le fromage est connu dans la zone du Chaouia coté Est du pays. Il est préparé avec la Klila fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu doux

jusqu'à séparation du caillé et de lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi préparé est une pâte jaune salée et élastique appelée Madghissa (Aissaoui, 2003).

II.4.3. Takammart

Littéralement "Fromage" en langue Tamahaq (Touareg), le *Takammart* est un fromage de la région désertique du Hoggar (Tamanrasset). Il est produit par l'introduction d'un morceau de caillette de jeunes chevreaux dans le lait de chèvre. Le caillé obtenu est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte, il est ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une natte à base de tiges de fenouil qui lui transmet un arôme particulier. Les nattes sont, par la suite, exposées au soleil durant deux jours puis placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage (Mahamedi, 2015).

II.4.4. Méchouna

Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute du lait fermenté, le l'ben ou Rayeb et du sel. En utilisant un tissu poreux, le mélange est laissé égoutter. Il est consommé frais ou avec une galette (Lemouchi., 2008).

II.4.5. Ighounane

C'est un fromage fabriqué en Kabylie, à partir du colostrum (lait du premier jour après la mise bas), la préparation d'Ighounane se fait dans des ustensiles en terre cuite, enduits d'huile d'olive, dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé pour continuer l'égouttage puis consommé à l'état frais (Lahsaoui, 2009).

II.4.6. Aghoughelou

Fromage fabriqué en Kabylie, il est obtenu à partir de lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier (Lahsaoui, 2009).

II.4.7. Klila

La klila est préparée à partir du lben chauffé sur feu modéré (50-75°) pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté spontanément dans un tissu fin. La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (Touati, 1990 ; Mennane *et al*, 2007).

II.4.8. Takmmarit (Kemaria)

C'est un fromage connu également sous le nom de *Takmmarit* frais, très répandu dans la Wilaya de Ghardaïa ou la région du M'zab Sud Algérien. Est un fromage utilisé à des fins festives

et souvent servie avec du thé. Il est coagulé par des présures végétales et aussi fabriqué à partir de lait de vache et de chamelle. Après coagulation le caillé est découpé et égoutté pour une période de 30 min jusqu'à 24h (Nouani *et al*, 2009).

II.4.9. J'Ben

Le « Jben » est un fromage frais artisanal le plus connu chez certains pays arabes et connu même sous le nom de jibneh baida, qui signifie "fromage blanc". Le « Jben » est préparé par fermentation spontanée à température ambiante dans des pots en terre cuite jusqu'à la coagulation du lait cru soit de vache ou de chèvre ou du mélange. Le caillé de la fermentation est obtenu par la même manière que L'ben. L'égouttage est assuré par le transfert du caillé dans un sac en tissu pendant 2 à 3 jours pour obtenir une consistance caractéristique. Le fromage est ensuite vidé du sac en tissu et coupé en morceaux, salé à la surface et conditionné pour un égouttage ultérieur (Benkerroum et Tamime, 2004).

II.5. Définition du fromage frais

Le fromage frais résulte d'une coagulation lente du lait par action d'acidification combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure. Les fromages frais présentent une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et de la teneur en matière grasse du lait mis en oeuvre (Mahaut *et al.*, 2003).

La teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 g pour 100 g de fromage (Jeantet *et al.*, 2007).

II.6. Mode de fabrication de fromage frais

Il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de fermentation de produit laitier en générale et fromage frais en particulier, et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisés (El Marrakchi et Hamama, 1996), parmi ces méthodes, on peut citer :

II.6.1. Fermentation spontanée

Traditionnellement, la fermentation du lait se fait spontanément sans introduire aucun additif pendant 24 à 72 h à température ambiante jusqu'à la séparation des deux phases, la phase caséique et la phase sérique (Benkerroum et Tamime 2004).

Elle provoque l'augmentation de la charge microbienne et donc la flore endogène de lait (*Streptococcus* et *Lactobacillus*) est responsable transformation du lactose en acide lactique qui donne un caillé après une coagulation et qui permet d'avoir un indicateur du degré de conservation (Yateem, 2008 ; El Marnissi *et al.*, 2013).

II.6.2. Fermentation dirigé

Consiste à l'emploi de la technologie, la fermentation va être obtenue par action de levain, ferment lactique ou de la présure (**Mahaut et al., 1986**).

Le lait subit une ébullition pendant un temps suffisant pour détruire sa population microbienne, puis introduire le ferment lactique voulu (souche sélectionnée), après un refroidissement ralentit le processus de fermentation ce qui peuvent favoriser le développement des micro-organismes indésirables alors qu'une température plus élevée provoque des défauts d'apparence, l'incubation se fait à température de 30 °C (**O'mahony et Peters, 1987**).

Le choix des ferments utilisés détermine les caractéristiques organoleptiques ainsi que la texture du produit (**lavaua et al., 2016**).

II.7. Microflore de fromage

La composition microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de l'âge du fromage (**Ercolini et al., 2009**). Généralement, elle est dominée par les bactéries lactiques en l'occurrence les *Lactococcus* et les *Enterococcus* qui influencent les caractéristiques sensorielles du produit fini (**Randazzo et al., 2009**).

II.7.1. Flore d'altération

Ce sont des bactéries, champignons indésirables apportés par la contamination.

Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Abdessalam, 1984**).

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablette du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre (**Kabir, 2015**).

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telle que *Bacillus sp*, et *Clostridium sp*, des bactéries psychrotrophes et certaines levures et moisissures (**Vignola, 2002**).

II.7.2. Flore de contamination

D'après **Eck et Gillis (2006)**, le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement, c'est le caractère physico- chimique et les conditions d'affinage et de stockage qui les définissent, trois critères sont importants :

-L'activité de l'eau (Aw) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95. -Le potentiel

d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.

-Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes, néanmoins certaines exceptions sont visibles dont les champignons qui croient à un pH inférieur à la limite.

- En absence de traitement thermique pour les fromages au lait cru, les bactéries pathogènes s'accroissent fortement (conditions technologiques favorables) et peuvent être d'origine exogène (environnement) ou endogène (animale malade), la plupart de celles retrouvées dans le fromage sont des ubiquistes : bactéries originaire du lait cru (agents de mammites), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*.

Chapitre III

Bactéries lactiques

III. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments, elles appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques de très anciens micro-organismes utilisées pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans (**Dridier et Prevost, 2009**).

III.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans différentes niches écologiques elles constituent un groupe hétérogène dont le caractère commun est la production d'acide lactique suite à la fermentation des glucides (**Labioui, 2005**).

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes, à Gram positifs, immobiles, en forme de bâtonnet ou coque, asporulées, Elles sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et le cytochrome oxydase. Ce sont des bactéries anaérobies mais aérotoles, ne liquéfient pas la gélatine, et ne produisent ni de l'indole ni de l'hydrogène sulfureux (**Desmazeaud, 1983 ; Guiraud, 2003 ; Achemchem, 2014**).

Les bactéries lactiques se caractérisent par de faibles activités protéolytiques et lipolytiques, et sont très exigeantes en acides aminés, vitamines, acides gras, peptides, glucides fermentescibles et en sels (**Guiraud, 1998**).

Elles ont également une activité aromatique très importante d'où leur utilisation en agroalimentaire sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques ont une tolérance des pH acides. Cette dernière propriété est utilisée en agroalimentaire pour acidifier le milieu et empêcher le développement des bactéries pathogènes et d'altérations (**Tahlaiti, 2019**).

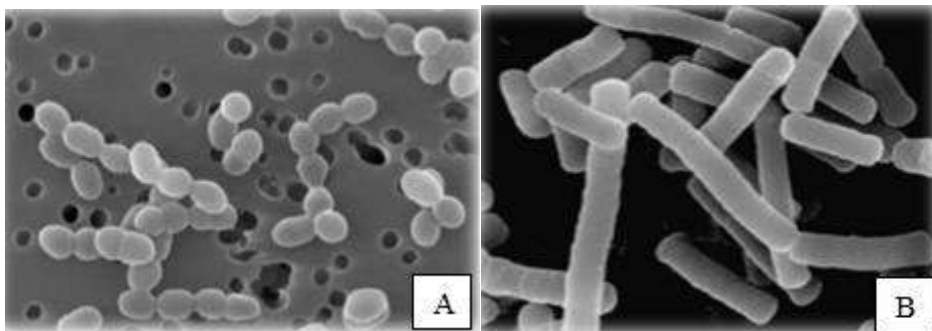


Figure 2: Aspect microscopique des bactéries lactiques observe au microscope électronique a transmission (M.E.T) x10000 : (A) *Lactobacillus Rosell-11* ; (B) *leuconostoc lactis*

(http://www.institut-rosell-lallemand.com/uploads/images/souches/lactobacillu-R52_big.jpg).

III.2. Habitat

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'Homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait (**Makhloufi, 2011**). Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (**Bekhouche, 2006**).

Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp. lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé (**Sandine, 1988**). Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (**Bekhouche, 2006**).

III.3. Classification des bactéries lactiques

Il est possible de classer les bactéries lactiques suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides. En effet les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO₂ en plus de l'acide lactique. Les BL homolactiques sont représentées par les genres *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*, alors que le genre *Leuconostoc* et certaines espèces de *Lactobacillus* appartiennent aux bactéries hétérolactiques (**Achemchem, 2014**).

III.4. Taxonomie des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes découverts dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années, avant l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (**Quiberoni et al., 2001**). De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Makhloufi, 2011**)

Les bactéries lactiques regroupent de nombreux genres bactériens tels que *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* (**Figure**)

De plus, l'utilisation des séquences de gènes codant les ARN 16S et 23S a conduit à l'identification de nouveaux genres bactériens parmi des bactéries lactiques, tels que *Carnobacteria*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* issue d'une évolution taxonomique (**Vandamme et al., 1996**).

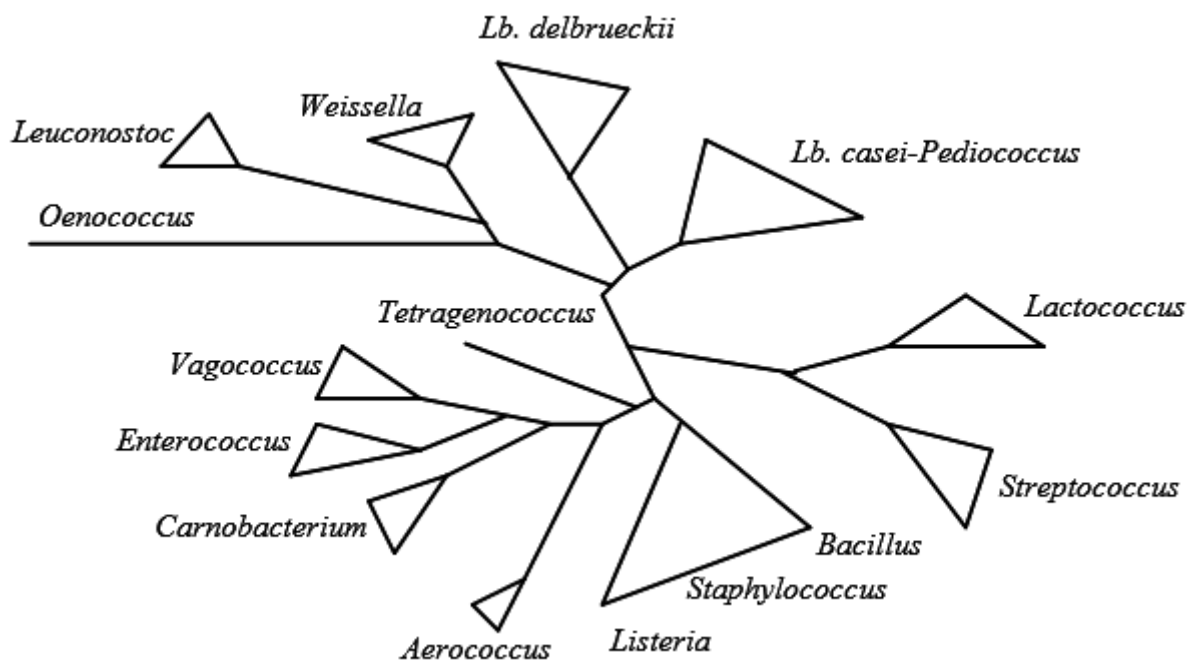


Figure 3: Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres *Aerococcus*, *Bacillus*, *Listeria* et *Staphylococcus* d'après (**Axelsson, 2004**).

III.5. Le genre *leuconostoc*

III.5.1. Généralité et propriété de *leuconostoc*

Le genre *leuconostoc* a été défini par Van Thieghem en 1878. Le terme *leuconostoc* vient du mot *Nostoc* qui est une algue bleu mucilagineuse et de *leuco* qui veut dire blanc (**Säde, 2011**).

Les premières souches ont été isolées à partir d'accidents apparus dans des sucreries, les *Leuconostocs* responsables de ces accidents produisent des dextranses en milieu saccharosé (**Bouricha, 2011**)

Au cours des dernières années, plusieurs espèces ont été reclassées à l'intérieur du genre *Leuconostoc* et de nouvelles espèces y ont été ajoutées. En 1984, trois espèces de *Leuc.*

mesenteroides (*Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* et *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris*) ont été reclassés en sous-espèces de *Leuc. mesenteroides* (Zhang et Cai, 2014).

Les *Leuconostocs* sont des bactéries à Gram positif, immobiles, asporulées, anaérobies facultatives avec une forme ovoïde, associées en paires ou en chaînes courtes (Lahtinen *et al*, 2012). Sont également chimioorganotrophes et exigeants au point de vue nutritionnel (Guiraud, 1998), nécessitant pour se développer des milieux riches comportant des facteurs de croissance et des acides aminés. La croissance ne se fait qu'en présence d'un sucre fermentescible (Lahtinen *et al*, 2012).

Cette bactérie est hétérofermentaire produisant l'acide lactique, l'éthanol et le CO₂. Les *leuconostocs* sont mésophiles (optimum : 20-30°C) (Achemchem, 2014). Les *leuconostocs* sont essentiellement utilisés pour leur production de composés aromatiques (diacétyle, acétoïne) (Chamba, 2008). Parmi les caractères biochimiques les plus importants de *leuconostoc* sont : la fermentation des sucres, la fermentation du citrate, la production de dextrane et la production de substances inhibitrices.

Leuconostocs sont utilisés comme levains d'arôme, pour améliorer la structure des fromages et pour éliminer certains défauts de goût (Devoyod, 1988)

III.5.2. Classification du genre *leuconostoc*

La première classification exhaustive du genre *Leuconostoc* est celle de Hucker et Pederson de 1931 qui ont étudié 80 souches d'origines très diverses (sirop de sucre, légumes en fermentation, y compris de choucroute, fenouils marinés, haricots verts, betteraves, blettes, produits fermentés à base de tomates ainsi que de lait et de produits laitiers). Ils ont classé le genre *Leuconostoc* en trois groupes :

- Le groupe I ne fermentant pas le saccharose : *Leuconostoc citrovorus*.
- Le groupe II fermentant le saccharose et les pentoses : *Leuconostoc mesenteroides*.
- Le groupe III fermentant le saccharose mais non les pentoses : *Leuconostoc dextranicus*.

Les groupes II et III sont des producteurs de dextrane, or bien que *Leuconostoc citrovorus* ne produise pas de dextrans, les propriétés de production de gomme par des organismes faibles producteurs d'acide isolés de levains montrent, d'après Hucker et Pederson (1931), qu'ils sont identiques aux organismes dextrane-positifs isolés des végétaux et des sirops de sucre (Devoyod et Poullain, 1988).

III.6. Propriétés des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement utilisées en industrie alimentaire, dans une variété de fermentation. En outre, ces bactéries participent à la transformation de produits animaux tels que le lait et certains produits carnés ainsi qu'à l'élaboration de produits végétaux. Elles sont aussi connues pour leur rôle probiotique (**Braegger, 2002**).

III.6.1. Activité protéolytique

La protéolyse constitue l'un des phénomènes majeurs de l'affinage des fromages. Les bactéries lactiques disposent des systèmes enzymatiques permettant d'hydrolyser les caséines et les polypeptides. Elles possèdent une ou plusieurs protéinases de paroi nécessaires à leur métabolisme azoté (**Chamba, 2008**).

III.6.2. Activité lipolytique

L'activité lipolytique des bactéries lactiques est moins importante que leurs activités protéolytiques. Il paraît, au travers des publications scientifiques, que les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaires. Néanmoins, les voies métaboliques liées à la lipolyse génèrent des acides gras libres et des précurseurs d'arômes qui entrent dans la saveur globale des produits alimentaires (**Bigret, 1994**).

III.6.3. Activité acidifiante

Ces bactéries ont une capacité d'acidifier les produits alimentaires. Le produit principal du métabolisme qui est l'acide lactique joue un rôle majeur dans la conservation des aliments puisqu'il inhibe fortement l'accroissement des bactéries pathogènes (**Stiles, 1996**). Il a également un rôle direct dans l'industrie laitière puisqu'il permet la formation du caillé à bas pH. Cette fonction acidifiante des bactéries lactiques est déterminante dans le processus d'élaboration des fromages (**Chamba, 2008**).

III.6.4. Activité texturante

Certaines bactéries lactiques ont la capacité à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) qui jouent un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (**Welman et al., 2003**). Cette activité est particulièrement intéressante lors de l'élaboration des laits fermentés tels que les yaourts brassés (**Béal et al., 2008**).

Les EPS jouent un rôle important dans les propriétés texturantes (viscosité, formation d'un gel). Par exemple, la texture du yoghurt est liée à la quantité et au type d'EPS produit (**Atlan et al., 2008**).

III.6.5. Activité aromatisante

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arôme tel que le diacétyl qui est responsable de l'arôme de noisette caractéristique du beurre, lait et de certain fromage frais. La formation de cette molécule est associée à la capacité des bactéries à fermenter le citrate composé présent dans le lait (**Hugenholtz, 1993**).

III.6.6. Activités antimicrobiennes

Les bactéries lactiques depuis toujours ont une activité antimicrobienne dirigée à la fois contre des germes pathogènes et d'autres responsables de la détérioration de la putréfaction des aliments (**Achemchem, 2014**). Ces bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites à effet antimicrobien tels que les acides organiques, le dioxyde de carbone, le diacétyl, le peroxyde d'hydrogène, les acides gras, la reutérine et les bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009 ; Suskovic et al., 2010**).

Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes

Afin de déterminer la qualité hygiénique du fromage frais (j'ben) à partir de lait de chèvre cru préparé à l'artisanal et l'influence de sel et l'action des souches *Leuconostoc sp.* sur la qualité microbiologique du produit analysé, nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques et biochimiques sur le lait et différents échantillons de fromage traditionnel (J'ben).

I.1. Lieu du travail

Ce travail est effectué durant la période du 10 février jusqu'au 13 mars 2020 au niveau des laboratoires de microbiologie et biochimie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, l'Université Kasdi Merbah Ouargla et quelques tests physico-chimique sont effectués au niveau du laboratoire de l'usine lacto-sud à Ouargla.

I.2. Revivification et purification des souches

Vingt-trois souches d'espèces de bactéries lactiques genre *Leuconostoc* (Annexe 01) proviennent de la collection du laboratoire de microbiologie appliquée du département de biologie de la faculté des Sciences, de l'Université d'Ouargla, Algérie isolées à partir de fromage traditionnel (J'ben) à base de lait de vache et de chèvre par DJEBESS Assia et AYADI Hanna en 2018 qui sont identifier phénotypiquement.

La revivification est réalisée sur des bouillons MRS sur des souches étant en dormance à -18°C, avec une incubation à 30°C pendant 24h.

La purification est faite par des repiquages successifs sur le milieu gélosé (ensemencement en stries) et bouillon MRS, l'incubation à 30°C pendant 24h et 48heures jusqu'à l'obtention des isolats homogènes, des colonies de même taille, même forme.

I.3. Pré identification des souches

I.3.1. Examen Macroscopique

L'observation macroscopique est réalisée dans le but d'observer visuellement la couleur, la taille, la forme et l'aspect des colonies sur milieu solide et la trouble dans le milieu liquide (**Badis et al, 2005 ; Guiraud, 2003**).

I.3.2. Examen microscopique (Coloration de Gram)

Après la coloration de Gram (Annexe 02), les cellules sont examinées au microscope optique (x100). Il s'agit d'observer la morphologie cellulaire et le mode d'association.

La coloration de Gram est effectuée sur frottis. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). Celles-ci différent

de par la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, par la présence d'une membrane externe (**Larpent, 1990**).

I.3.3. Test catalase

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capable de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction Catalase.



Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase-) des entérobactéries (catalase+). Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame. La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O₂) (**Marchal et al, 1991**)

I.3.4. Type fermentaire

Dans des tubes à essai nous avons versé un milieu MRS et entreposé des cloches de Durham pour mettre en évidence la production de gaz. Ensuite nous avonsensemencé les souches. Les souches homofermentaires ont produit 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO₂, par contre les souches hétérofermentaires ont produit l'acide lactique et le CO₂ a proportions égales (**Carr et al, 2002**).

I.4. Conservations des isolats

La conservation à court terme des isolats purifiés est effectuée sur milieu MRS gélosé incliné à 4°C. Pour une conservation de long terme, les souches sont conservées dans les tubes eppendorf a -18°C dans du le bouillon MRS (70%) additionné de glycérol (30%) (**Saidi et al, 2002**) (Annexe 07).

I.5. Choix des souches

Dans ce travail, le choix des souches est basé sur le rendement de coagulation du lait, pour cela nous avons sélectionné 10 souches et réalisé un ensemencement de 1ml d'une suspension des souches lactiques dans 9ml du lait UHT, incubé à 30°C pendant 18h.

Après 18h d'incubation, nous avons obtenu une bonne coagulation par les souches C1 et C2. Ces deux souches appartenant au genre *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* qui ont été isolées à partir du lait de chèvre sont utilisée dans la fermentation dirigée.

II. Echantillonnage

L'échantillon de lait cru de chèvre provient d'une ferme à Sidi Amran-Mkhadma de la commune d'Ouargla, Wilaya d'Ouargla. Le 1 mars 2020 à 11h du matin, le lait est collecté d'une chèvre en bonne santé âgée de 2ans. Un volume de 5 L est prélevé dans des conditions hygiéniques (Nettoyage des trayons, la propreté de récipient et la salubrité de l'échantillonneur) afin de réduire le risque de contamination. L'échantillon est mis dans une glacière et transporté rapidement au laboratoire, afin de ne pas modifier l'état du lait.

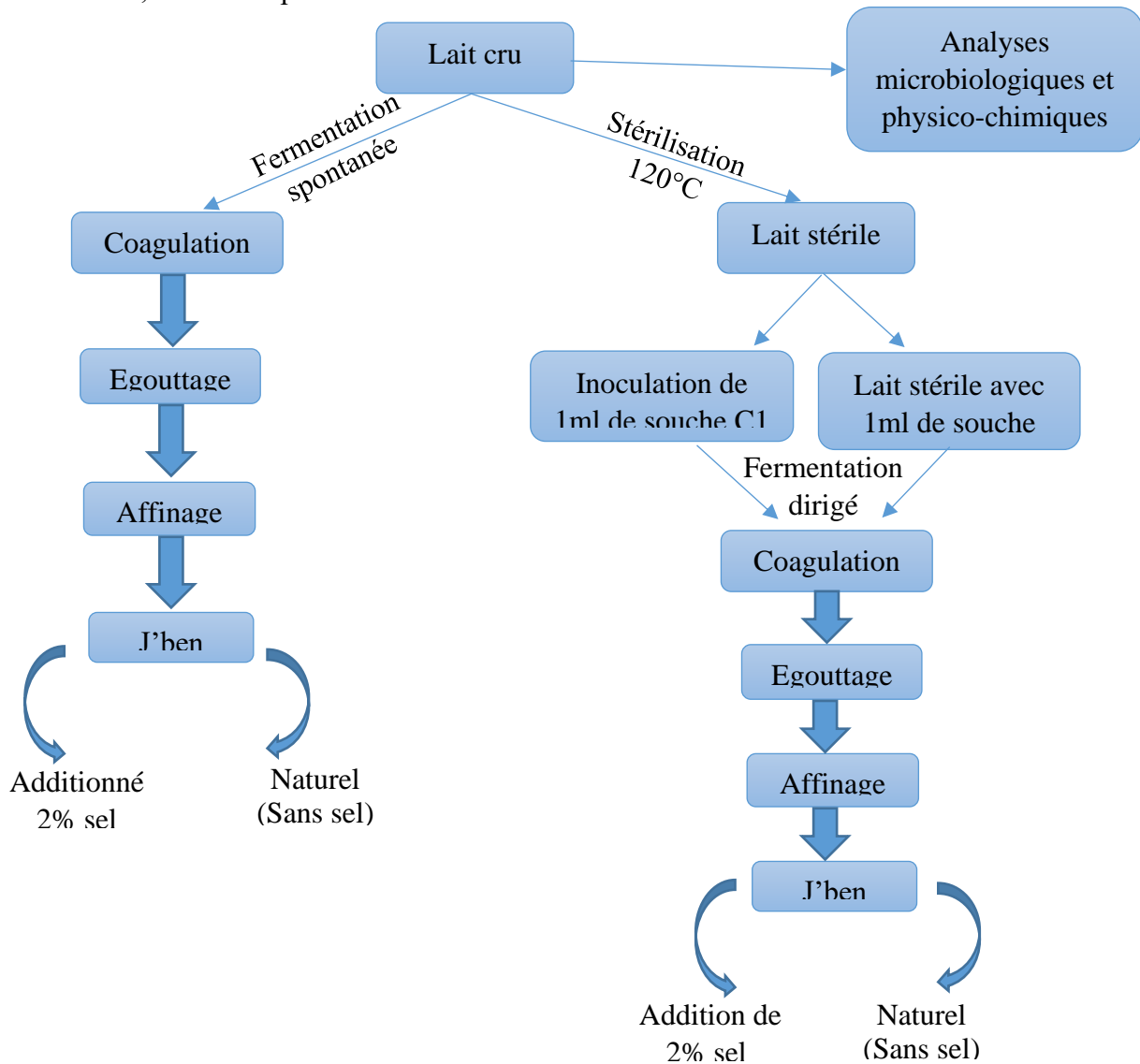


Figure 4 : Schéma représentatif des étapes de fabrication du fromage frais par deux voies de fermentation

Avant la préparation du fromage, les analyses physicochimique et microbiologique étant effectuées sur le lait cru de chèvre.

II.1. Préparation du fromage

Pour savoir l'action des souches *Leuconostoc* sur la qualité hygiénique (sanitaire) du fromage, nous avons préparé deux fromages frais (J'ben) illustrés dans le schéma ci-dessus.

II.1.1. Préparation par fermentation spontanée

2.5 litre de lait de chèvre cru fermenté spontanément, servent à la formation d'un caillé (fromage non affiné), puis la séparation d'une partie plus ou moins importante de sérum pour obtenir une caillebotte (Egouttage). À l'aide d'une spatule stérile, nous avons divisé le fromage en deux échantillons en ajoutant le sel (2%) à l'un des échantillons puis en les conservant dans un réfrigérateur de 4°C pour refaire la deuxième analyse après sept jours.

Donc, nous avons obtenu deux échantillons :

- Echantillon 01 fromage frais sans sel.
- Echantillon 02 fromage frais avec le sel (2%).

II.1.2. Préparation par fermentation dirigée

2.5 Litres de lait ont subi une stérilisation afin de tuer tous les microorganismes, puis sont répartis dans deux bécher stérile, ensuite nous avons introduit les souches de *Leuconostocs* C1 et C2 qui sont sélectionnées par apport au bon rendement de coagulation, puis nous les avons incubées à 30°C jusqu'à séparation des deux phases caséique et sérique. Donc ils ont subi une coagulation, la formation d'un caillé. Ce caillé est mis dans un tissu propre et poreux pour l'égouttage. Une fois bien égoutté. L'un des échantillons de chaque souche est enrichi avec le sel et l'autre reste naturel sans sel, conservés les deux dans un réfrigérateur de 4°C pour la deuxième analyse après sept jours.

Donc 4 échantillons obtenus :

- Echantillon 01' fromage frais de la souche C1 sans sel
- Echantillon 02' fromage frais de la souche C1 avec le sel
- Echantillon 03 fromage frais de la souche C2 sans sel
- Echantillon 04 fromage frais de la souche C2 avec le sel

III. Contrôle microbiologique du lait et du fromage

III.1. Test physico-chimique

III.1.1. Détermination du poids de fromage

Après égouttage, le fromage est mis dans un pot puis pesé à l'aide d'une balance électronique.

III.1.2. Détermination du pH

Le pH est une mesure de l'activité des ions H⁺ contenus dans une solution. Le but est de pouvoir mesurer quantitativement l'acidité de celle-ci. (Essalhi, 2002).

Le pH des échantillons est déterminé en utilisant un pH-mètre, avant de noter les mesures, l'électrode du pH-mètre doit être rincée avec l'eau distillée et séché avec du papier. La mesure se fait par la pénétration de l'électrode dans un bécher contenant 10ml du lait à analyser. Pour le fromage, 10g sont bien mélangés dans 90 ml d'eau peptonée puis introduit l'électrode jusqu'à la stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche sur l'écran (AFNOR, 1985 ; Owusu-Kwarteng et al, 2012).

III.1.3. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité est définie comme étant la quantité d'acide lactique obtenue après fermentation du lactose par les microorganismes (Guiraud, 1998).

L'acidité titrable est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à N/9 en présence de phénolphthaléine (3 gouttes) préparée à 1 %, comme indicateur coloré, qui indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) (Mathieu, 1998).

Celle-ci consiste un échantillon de 10 ml de lait est placé dans un bécher en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95% comme indicateur. Le deuxième échantillon de 90 ml d'eau distillée stérile est chauffé à une température de 40°C sont ajoutés à 10 g de fromage. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titré par la soude N/9 en présence l'indicateur colorée. Le résultat est exprimé en degré dornic par gramme de fromage (°D/g) (Afnor, 1986).

1ml —————> 10°D

1°D —————> 0.01% d'acide lactique

En mesure l'acidité du lait et de fromage par le titrage du volume de solution NaOH (0.1N) est rajoutée jusqu'au virage de couleur rose. La coloration rose doit persister au moins 10 Secondes (Guiraud, 1998). La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante :

$$A=10(V/V') \text{ (g/l)}$$

A : quantité d'acide lactique en (g/l)

V : volume de la solution de NaOH utilisé (ml)

V' : volume de l'échantillon (ml)

L'acidité en degré Dornic est égale :

$$\text{Acidité} = V \times 10 \text{ (°D)}$$

V : le volume en millilitres de la soude nécessaire au titrage.

III.1.4. Mesure de la teneur en matière sèche totale

Entendant par « matière sèche » du lait et du fromage c'est le produit résultant de la dessiccation du lait et le fromage dans les conditions décrites par la norme (AFNOR, 1985).

Mode opératoire

- Dans la capsule séchée et tarée, introduire à l'aide de la pipette 10ml de lait et 5 g de fromage
- Introduire dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et l'y laisser 3 heures.
- Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
- On pèse en suite à l'aide d'une balance analytique le résidu.

Expression des résultats

La matière sèche est exprimée en pourcentage comme suit :

$$[(M1-M0) / (M2-M0)].100$$

M0 : est la masse en grammes de la capsule vide.

M1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

M2 : est la masse en grammes de la capsule et de l'échantillon avant dessiccation. –

III.1.5. Détermination du taux de matière grasse

Par la méthode acido- butyrométrique. Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire et les graduations du butyromètre révèlent le taux (AFNOR, 1980).

10 ml d'acide sulfurique, 11ml d'échantillon et 1ml d'alcool Iso-amylique sont introduits dans le butyromètre de GERBER. Le butyromètre est fermé à l'aide d'un bouchon, puis mélangé jusqu'à la dissolution totale du mélange. Une centrifugation pendant 10 minutes à 1200 tours / min est ensuite effectuée. Le résultat est exprimé en g/L et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

Expression des résultats

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre (figure) :

$$MG = (B - A)$$

A : est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse

B : est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse

III.2. Analyse Microbiologique des échantillons

III.2.1. Test de réductase pour le lait

Le test de la réductase permet d'estimer la charge microbienne d'échantillons de lait collectés. Son principe est basé sur la décoloration du bleu de méthylène. La rapidité de cette décoloration est directement proportionnelle au nombre de germes présents (**Larpen et al, 1997**).

Ce test est réalisé par l'addition de 1ml d'une solution de bleu de méthylène 0,5 % (m/v) stérile dans un tube à essai contenant 10 ml de lait. Après agitation, le tube est incubé à 37°C au bain marie. Une observation est effectuée au bout de 30 min, 1 h 30 min et de 3 h (**Guiraud, 1998**).

III.2.2. Préparation des dilutions

Une série de dilutions jusqu'à 10^{-6} est réalisée à partir des échantillons de lait et de fromage. Le lait lui-même est la solution mère et 10g de fromage sont homogénéisés dans 90 ml d'eau peptonée pour obtenir la solution mère. À l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1 ml de l'échantillon de lait et de fromage à analyser est prélevé et introduit dans des tubes contenant 9 ml de diluant d'eau peptonée pour effectuer la dilution 10^{-1} pour le lait et 10^{-2} pour le fromage. Répéter ces étapes jusqu'à la dilution 10^{-6} .

III.2.3. Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Appelés aussi flore totale ou globale, c'est un bon indicateur de la qualité des produits. Ces micro-organismes peuvent par leur quantité d'altérer et dégrader la qualité marchande provoquer des allergies et des troubles digestifs chez le consommateur. Cette flore peut être originale ou amener lors de la manipulation. (**Lebres et al, 2002**).

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale est généralement réalisé sur le milieu solide PCA, l'ensemencement est effectué par un étalement en surface à partir de 100µl des dilutions décimales (de 10^{-4} à 10^{-6}) pour le lait et le fromage. L'incubation 30°C pendant 24 à 48 heures (**Guiraud, 2012**).

Lecture des résultats

Les boîtes contenant plus de 300 colonies et moins de 30 colonies sont écartées. Le calcul du nombre de microorganismes par millilitre du lait et par gramme pour le fromage se fait selon la formule pour tous les autres microorganismes ont été recherché (**Guiraud, 1998**).

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{Vml(n1 + 0.1n2)} d1$$

- N : Nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.
- Σ colonies : somme des colonies des boites interprétables.
- Vml : volume de solution déposé.
- n1 : nombre de boites considéré à la première dilution retenue.
- n2 : nombre de boite considéré à la seconde dilution retenue.
- d1 : facteur de la première dilution retenue.

III.2.4. Recherche et dénombrement de la flore lactique

La flore lactique représente les espèces utilisées en industrie laitière pour la fabrication de certains produits laitiers. Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} pour les deux échantillons : le lait et le fromage dans deux boites de gélose MRS et incubation à $30^{\circ}\text{C}/24,72\text{heurs}$ (**Guiraud, 1998**).

III.2.5. Recherche et dénombrement des coliformes

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit la malpropreté du matériel de fabrication (**Larpent, 1997**).

La présence des coliformes est traduite par trois caractères distingués sur le milieu (Présence de trouble, changement de couleur, l'apparition de gaz). Leur dénombrement se fait par la méthode de NPP (nombre le plus probable).

La recherche des coliformes dans nos échantillons est réalisée en milieu liquide le bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol (BCPL). Ce milieu est réparti dans des tubes à raison de 10ml/tubes, munis d'une cloche de Durham. Après ensemencement de deux tubes de (BCPL) par échantillon par 1 ml de dilution choisie (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}), les tubes sont incubés 37°C pendant 24h à 48h pour les coliformes totaux et 44°C pour les coliformes fécaux à 48h, la lecture des résultats se fait en utilisant la table de Mac Credy (**Larpent, 1997**).

III.2.6. Recherche des Staphylocoques

Staphylococcus aureus produisant éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire. L'étude de cette flore permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur.

La recherche est effectuée sur milieu sélectif Chapman par étalement en surface de deux boîtes 0,1ml pour chaque dilution (10^{-1} et 10^{-2}). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h. La détection fait par la présence et l'apparition des colonies dorées avec un changement de couleur de milieu (**Benhedane bachtarzi, 2012**).

III.2.7. Recherche des Clostridiums sulfito –réducteurs

Les spores de Clostridies sont recherchées sur gélose viande foie (VF) additionnée d'alun de fer, après avoir tué la forme végétative et gardes uniquement les formes sporulées.

Un volume de 1 ml de lait est inoculé dans 5 ml de milieu viande –foie en surfusion additionné de 2 à 3 gouttes de sulfite de sodium et d'alun de fer puis incubé à 37°C/ 48 h. Afin de mettre en évidence la présence de formes sporulées, la même analyse est répétée après chauffage de 1 ml de lait et 1ml de la première dilution de fromage au bain marie à 90°C/10 min a fin d'éliminé la forme végétative suivi d'un refroidissement immédiat (**Guiraud, 2003**).

III.2.8. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

La flore fongique comprend les levures et les moisissures. Leur présence peut être à l'origine des accidents de fabrication ou de défauts de quelques produits laitiers (**Guiraud, 1980**).

A partir des dilutions décimales, 10^{-1} à 10^{-2} , un volume de 0.1ml des échantillons de lait et fromage sontensemencé dans des tubes inclinés de gélose Sabouraud et incubées à 25°C/5 jours (**Lebres et al, 2002**).

III.2.9. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques sont recherchés en milieu liquide. La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs qui sont incubées à 37°C pendant 24h :

*Le test présomptif : la recherche des streptocoques sur milieu de Rothe l'agent sélectif dans ce milieu est l'azide de sodium,

* Le test confirmatif : la confirmation proprement dite sur milieu Litsky, pour les tubes trouvés positifs au niveau des tests de présomption. Les agents sélectifs dans le milieu de confirmation sont l'azide de sodium et l'éthyle viole (**Benhedane bachtarzi, 2012**)

Résultat et discussion

I. Résultat et discussion

I.1. Revivification et purification des souches lactiques

23 souches lactiques appartenant au genre *Leuconostoc* sont revivifiées et purifiées sur milieu MRS liquide et solide (Annexe 03).

I.1.1. Sur Milieu liquide

Après 24h d'incubation, la croissance au milieu MRS liquide se traduit par l'apparition du trouble fumeux homogène au fond du tube avec une zone claire de 5 mm d'épaisseur à la surface du milieu liquide.

I.1.2. Sur Milieu solide

L'observation directe des colonies sur milieu MRS solide après 24h d'incubation permet de déterminer les caractéristiques macroscopiques des souches de *Leuconostoc* en montrant que toutes les colonies purifiées sont d'une petite taille, rondes, aspect lisse, de couleur blanchâtre, à contour régulier.

II. Pré-identification des souches

II.1. Observation microscopique (Coloration de Gram)

L'observation microscopique des souches après une coloration de Gram a révélé une seule forme de cellules, des cocci disposées en paires ou en courtes chainettes, de gram positive ce qui confirme les isolats sont des bactéries de genre *Leuconostoc* (**Kihal et al., 2009**) (Annexe 04).

II.2. Test catalase

Pour une identification des souches de *Leuconostoc*, il est nécessaire de passer par la recherche de la catalase (**Marchal et al, 1991**).

Les 23 souches testées sont toutes catalase négative car il n'y a pas un dégagement gazeux c'est-à-dire les souches ne possèdent pas l'enzyme catalase pour la dégradation du peroxyde d'hydrogène.

L'absence de cette enzyme est un caractère spécifique aux bactéries lactiques (*Leuconostoc*) (Annexe 04).

II.3. Recherche de type fermentaire

Test de type fermentaire permet de différencier entre les souches homolactiques et hétérolactiques (production de CO₂ dans la cloche de Durham à partir du glucose) (**Guiraud, 2003**).

Après une incubation à 30°C, les résultats montrent l'apparition d'un trouble au fond des tubes ensemencés avec un dégagement de gaz au niveau de la cloche, donc ces souches étudiées sont des hétérofermentaires (Annexe 04).

La production de CO₂ par les espèces de *Leuconostoc* provient de son métabolisme hétérofermentaire. Cette caractéristique est dû à l'utilisation du glucose comme sucre fermentescible qui est par la suite converti en D(-) lactate, éthanol, acétate et émission de CO₂ (Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2004).

I. Choix des souches

Les deux souches C1 et C2 appartenant au genre *Leuconostoc mesenteroide subsp mesenteroide* à partir lait de chèvre ont donné un bon rendement de coagulant le lait (UHT) après une incubation à 30°C pendant 18 heures (Annexe 05).

II. Analyses macroscopiques et organoleptiques du fromage

IV.1. Détermination du poids

Le fromage obtenu à partir 2.5L de lait de chèvre par une fermentation spontanée est mesuré par une balance électronique d'une masse de 394g.

IV.2. Description de fromage préparé par fermentation spontanée

La couleur : le fromage apparait d'une couleur blanche.

La saveur : une certaine d'acidité.

L'odeur : généralement il n'y a pas d'odeurs anormales.

Texture : crémeuse, lisse, pâteuse, légèrement beurrée.



Figure 5 : Fromage frais obtenu par fermentation spontanée

III. Analyses physico-chimiques

Les résultats d'analyses physico-chimiques du lait de chèvre et de fromage frais sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Le tableau résume les résultats relatifs aux caractéristiques physico chimiques.

Les paramètres	Lait de chèvre	Fromage après 24h	Fromage après 7j E1	Fromage après 7j E2
pH	6,47	4,66	4,61	4,47
Acidité dornic (°D)	17°	23°	25°	27°
Matière sèche %	13,7%	38,4%	44,4%	49%
Humidité%	86,3%	61,6%	55,6%	51%
Matière grasse %	1,7%	1,5 %	1,2 %	0,5 %

E1 : Echantillon de j'ben après conservation à 4° sans aucun additif /**E2 :** Echantillon de j'ben après conservation à 4° additionné le sel.

V.1. Mesure de pH

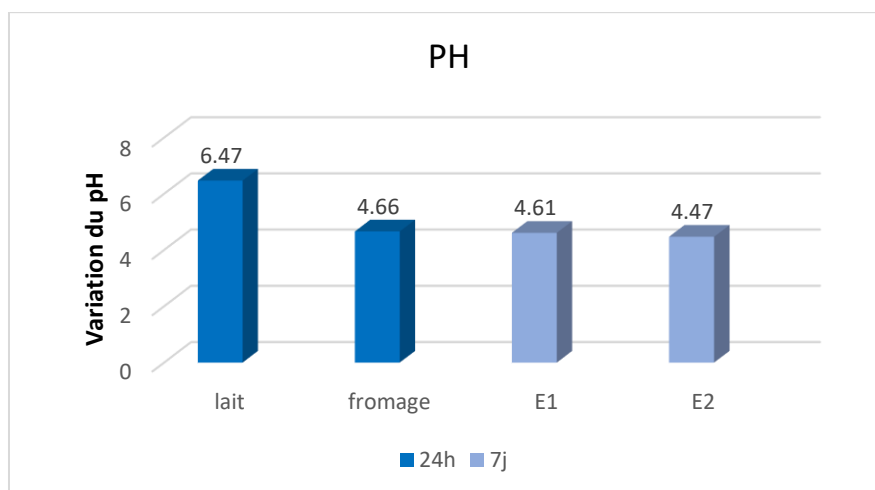


Figure 6: Résultat de mesure de pH

La valeur du pH du lait de chèvre cru analysé égale à 6,47. Cette valeur est proche de 6.5 à celle trouvée par **Labaoui et al., (2009)**. Le pH du lait de chèvre, se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90. Il est un peu différent du pH moyen du lait bovin qui est de 6,6 (**Remeuf et al, 1989**), nos résultats sont rapportés par la norme algérienne.

Le pH n'est pas une valeur constante et peut varier selon le cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Dans le cas où le pH est inférieur à la norme, cela indique une acidification du lait, qui peut être dû à un stockage inadéquat (**Diao, 2000**).

Les résultats de mesure du pH montrent que le J'ben possède des valeurs entre (4,47, 4,66 et 4,61). Ceci est dû à la production des acides organiques qui abaissent le pH (l'activité acidifiante des bactéries lactique) qui est supérieur par rapport à celle rapportée par **Benattous et Bettayeb(2019)** ou le pH est (4,21), **Boudjaadar(2015)** de (3,9) et **El Galiou et al, (2015)** de pH (4).

Le pH d'échantillon de j'ben (E2) additionné le sel est le plus acide de (4,47). Le salage a pour objectif de régler l'activité de l'eau (aw) du fromage qui oriente et freine les activités enzymatiques au cours de l'affinage (salage dans le cas du fromage frais) aussi il donne un goût relevé au fromage (**FAO, 1998**).

Les différences valeurs de pH de J'ben par rapport aux autres produits peuvent être dues à la méthode de préparation, au type de lait, à la date de préparation ou peuvent être liées au type d'alimentation donnée aux animaux ou à la méthode de préparation (**Ouadghiri, 2009**).

V.2. Mesure l'acidité dornic (°D)

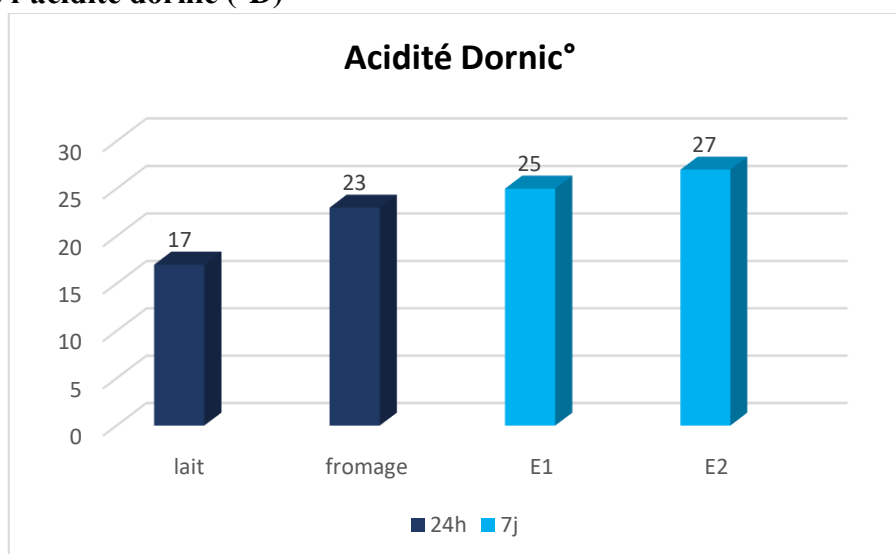


Figure 7: Résultat de l'acidité Dornic

Le lait frais contient très peu d'acide et pas d'acide lactique provenant de la transformation du lactose par les bactéries lactiques. L'augmentation de l'acidité provient donc d'un développement important de la flore lactique influencé par la température et la durée de conservation de ce produit (**Guiraud, 1998**).

Le résultat de l'acidité dornic du lait est 17°D, Cette valeur est proche de celle de **Boumendjel *et al.*, (2017)**. Selon l'**AFNOR (1998)** (15-18°D) ces résultats montrent que la qualité de lait est dans la norme. Cette valeur est dans l'intervalle d'acidité d'un lait frais et selon **Vignola, (2002)**, l'acidité du lait cru varie entre 13-17°D

L'acidité du lait est liée au climat, au stade de lactation, à la saison et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique (**Aggad *et al*, 2009**).

La mesure de l'acidité de j'ben a donné des valeurs variables et comprise entre (23° et 27°D), ces valeurs sont inférieure à celles cités par **Boudjaadar (2015)** (191°-211°D) et supérieures aux résultats de **Benattous et Bettayeb(2019)** ou l'acidité de j'ben de chèvre est 21°D.

La différence des teneurs en acide lactique dans les échantillons est due aux différents additifs ou les aromes utilisés et les caractéristiques de la matière première, des charges bactériennes et de stade de maturation. (**Ouadghiri, 2009**).

V.3. Matière sèche

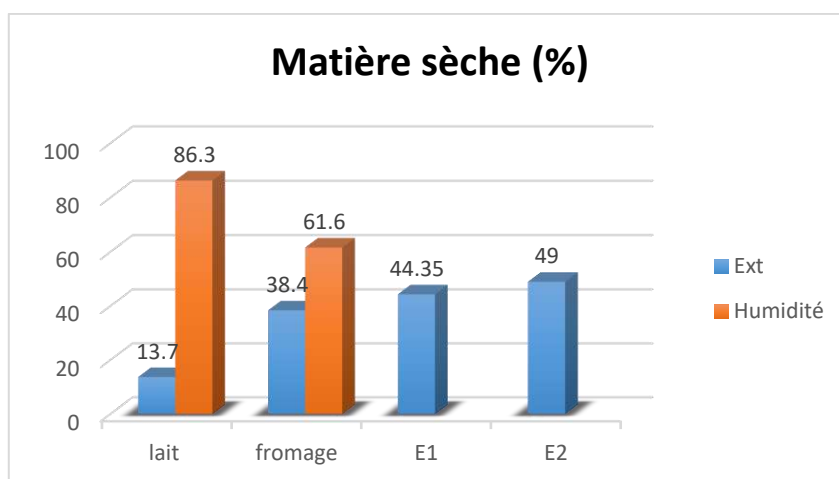


Figure 8 : Résultat de la matière sèche

Le taux de matière sèche de lait est de 13.7% et d'une humidité de 86,3%. Ceci est proche aux résultats mentionnés par **Benattous et Bettayeb, (2019)** où la teneur du lait frais en MS est de 12,4% et une humidité de 87,6%.

Selon **Vignola *et al*, (2002)** le taux de matière sèche de lait de chèvre peut varier entre 10,5 et 13,5%.

La teneur des échantillons de j'ben en extrait sec total varie entre 38,4% et 49% et une humidité de 56%, ces valeurs sont élevées par rapport aux valeurs rapportés par **Menassel(2019)** sur le contrôle de qualité du fromage frais « j'ben » à partir du lait cru de vache dont la valeur de

l'EST est entre 32% et 41% et par **Dahou et al., (2015)** de 42% pour le fromage traditionnel algérien.

L'EST est en fonction de la teneur en matière sèche du lait et de l'importance de l'égouttage, car l'élimination du lactosérum entraîne une forte augmentation de la teneur en matière sèche du fromage (**Fredot, 2009**).

L'extrait sec total varie selon le type du fromage. Il est influencé par la composition initiale du lait, le type de coagulation ainsi que le type d'égouttage (**Alais, 1984**).

V.4. Matière grasse(MG)

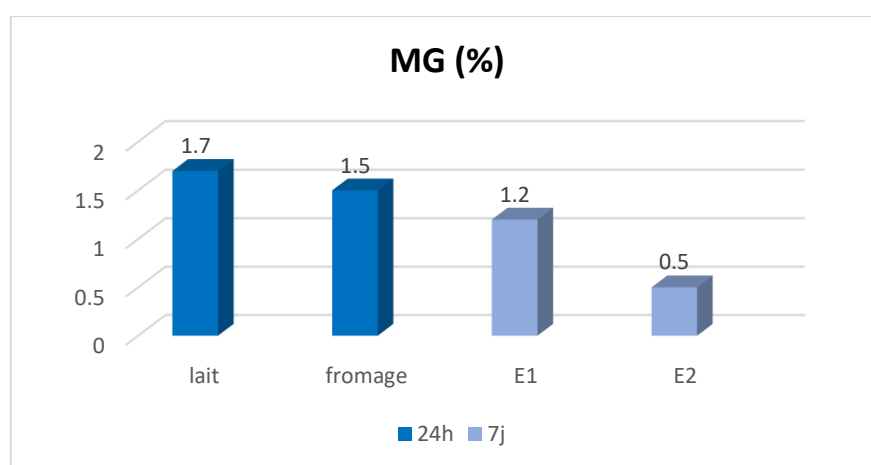


Figure 9: Résultat de la matière grasse

Selon le journal officiel de la république algérienne (**JORA ,1998**), La norme de la teneur en matière grasse pour le lait cru varie entre 3,4 et 3,8%. La teneur de la matière grasse de lait cru de chèvre est 1,7% est inférieur aux résultats mentionné par **Fedala et al., (2020)** (3.39%), et dans les échantillons de j'ben est entre (0,5% et 1.5%), elles sont inférieures à la norme fixée. Selon **Gret, (2002)**, les taux de matière grasse de fromage frais varient entre 3,5 % jusqu'à 10%.

Cela peut s'expliquer par les facteurs intervenant sur la composition de lait cru : La race, âge, la saison (le lait riche en matière grasse quand le climat est froid (**Mahaut et al, 2000**).

Les proportions de la matière grasse dans le lait de chèvre sont en relation directe avec les conditions d'élevage, d'alimentation, du stade de lactation et de la race comme les taux de matière sèche (**Morand- fehr et al, 1976 ; St-Gelais et al, 1999**).

IV. Analyse microbiologique

VI.1. Test de réductase

Le résultat de test réductase du lait est resté négatif : pas de décoloration pendant 5 heures (Annexe 10), donc le lait est de bonne qualité car nombre de bactéries varie entre 100000-200000 B/ml selon (Larpen, 1997).

Tableau 6: Tableau représente le classement de lait en fonction de test réductase (Jean Paul Larpen, 1997).

Temps de décoloration	Nombre de bactéries/ml	Qualité du lait
5 heures ou plus	10^5 - 2.10^5	Bonne
2 à 4 heures	2.10^5 à 2.10^6	Bonne à passable
Moins de 2 heures	2.10^6 à 1.10^7	Insuffisante

V.2. Analyse microbiologique de lait et fromage

Le tableau regroupe les résultats des analyses microbiologiques des échantillons (lait et j'ben). Comparant ces résultats avec d'autres travaux effectués dans les facultés de Ouargla.

Tableau 7: Analyses microbiologiques de lait et du fromage.

	Contrôle de lait (24H) (j'ben)	1 ^{er} contrôle (24H) (j'ben)	2 ^{eme} contrôle (7jour après)		1 ^{er} contrôle (24H) (j'ben)	2 ^{eme} contrôle (7jour après)		Contrôle de lait (24H) (j'ben)	1 ^{er} contrôle (24H) (j'ben)	2 ^{eme} contrôle (7jour après)		
	Résultat rapporté par Boudjaadar (J'ben a partir lait de vache)				Résultat rapporté par Dia Benattous et Bettayeb (lait et J'ben de chèvre)							
Echantillon	Lait	Fromage frais	E(1)	E(2)	fromage	E(1)	E(2)	lait	fromage	E(1)	E(2)	
Flore												
Flore mésophile aérobie totale (UFC)	1,3.10 ⁶	Ind sup	Ind sup	1,04.10 ⁸	1.10 ⁸	<10 ⁴	6,1.10 ⁶	Ind sup	Ind sup	6,3.10 ⁴	3,5.10 ⁴	
Bactéries lactiques (UFC)	2,58.10 ⁵	6,5.10 ⁵	2,07.10 ⁶	8,4.10 ⁷	9,7.10 ⁷	9,7.10 ⁷	4,7.10 ⁵	Ind sup	Ind sup	Ind sup	2,8.10 ³	
Coliformes totaux (UFC)	Abs	Abs	Abs	Abs	0	140	15	700	700	700	600	
Coliformes fécaux (UFC)	Abs	Abs	Abs	Abs	0	2	0	5	700	700	250	
Staphylocoque	Abs	Abs	Abs	Abs	+	+	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	
Bactéries sporulés (UFC)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	
Levures et moisissures (UFC)	Abs	1,3.10 ²	Abs	Abs	6,2.10 ⁸	4.10 ⁷	/	<10 ³	9,3.10 ³	3,7.10 ⁴	4,5.10 ⁴	
Streptocoques	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	+	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	

Ind sup : indénombrable supérieur / **Abs** : absence / **E1** : Echantillon de j'ben après conservation à 4° sans aucun additif / **E2** : Echantillon de j'ben après conservation à 4° additionné le sel.

VI.2. Dénombrement de flore totale aérobie mésophile FMAT

Le dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C sur milieu PCA montre que le lait possède une charge microbienne $1,3 \cdot 10^6$ UFC/ml. Ce résultat est proche à celle rapporté par **Mchiouer et al., (2017)** de ($3,92 \cdot 10^6$ UFC/ml) de cité Oujda au Maroc, mais elle est supérieure au résultat mentionné par **Ghazi et al., (2010)** de (10^5 UFC/ml) pour les échantillons de lait cru recueillis dans la région de Tiaret.

On constate que le nombre de FMAT dans le lait de chèvre enregistré est supérieur selon **Farris (2009)** un lait de chèvre est de très bonne qualité microbiologique quand il contient moins de 10^5 (g/ml). La charge microbienne est élevée due à la mauvaise pratique d'éleveur lors de la traite.

En effet, Selon (**JORA, 1998**), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10^5 UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml et $3 \cdot 10^5$ UFC/ml (**Alais, 1984**).

La flore aérobie mésophile totale des échantillons de fromage (j'ben) après 24 heures et après 1 semaine de conservation révéla des valeurs indénombrables et supérieur à $\geq 10^6$ UFC/g de ($1,04 \cdot 10^8$ UFC/g).

Ces valeurs sont plus élevées par rapport aux résultats mentionnés par **Benattous et Bettayeb (2019)** pour le j'ben de chèvre de la région d'Ouargla possédant une charge de $6,3 \cdot 10^4$ et $3,5 \cdot 10^4$ UFC/g, aussi aux travaux de **Boudjaadar (2015)**, où la charge est entre (10^4 et $1 \cdot 10^8$ UFC/g) à partir de lait de vache et **El Marnissi et al., (2013)** pour des j'bens marocains traditionnels ($7 \cdot 10^6$ UFC/g).

La charge de la FMAT a diminué pendant la conservation pendant une semaine du fait du salage qui limite sa croissance et détruit les bactéries. Dans le fromage frais salé, l'utilisation du sel a conduit à une perte plus importante d'eau, et par conséquent un moindre développement bactérien (**Hamama et al, 1995**).

Une flore totale d'un « jben » est élevée quand la charge microbienne du lait est élevée, ceci est dû à un manque de respect des règles d'hygiène. En effet, le matériel de la traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (**Amhoury et al, 1998**).

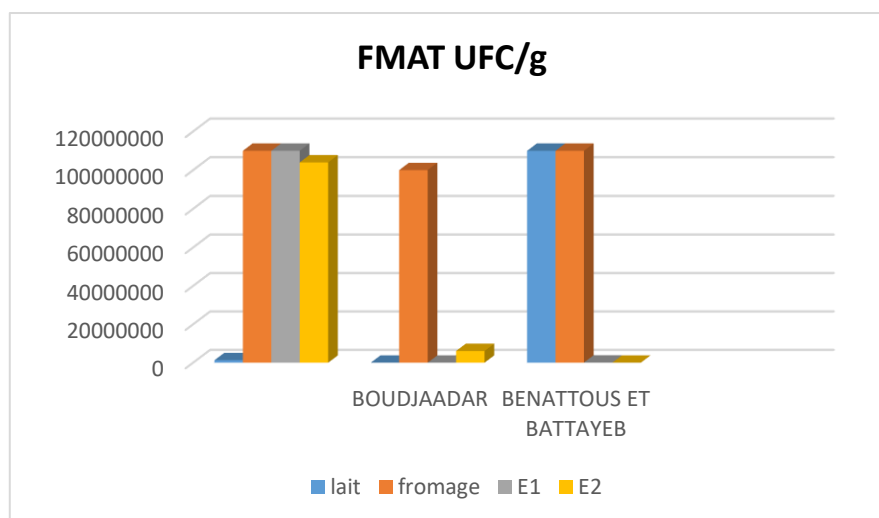


Figure 10: Graphe représente les résultats de dénombrement de FMAT

VI.3. Dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS

L'observation directe des colonies sur milieu MRS solide permet de déterminer les caractères macroscopiques des colonies qui sont blanches, rond, bombé et de différentes tailles, irrégulières. Ce sont des lactobacilles présents dans la flore naturelle du lait (**Benhannah et al, 2006**).

La présence des bactéries lactiques dans le lait a révélé une charge de $(2,58.10^5 \text{ UFC/ml})$. Cette valeur est proche à celle citée par **Taybi et al., (2014)** dans la charge de flore lactique de région gherb Maroc est $(5,02.10^5 \text{ UFC/ml})$.

Les échantillons du j'ben analysés à des dénombrements de $(6,5.10^5 \text{ à } 8,4.10^7 \text{ UFC /g})$ dû à la flore indigène ou originelle du lait, ces valeurs sont inférieures aux résultats rapportés par **Boudjaadar(2015)** où la charge est de $(9,7.10^7 \text{ et } 4,7.10^5 \text{ UFC/g})$, de même les études de **Khmis et Bachi(2016)** sur les contrôles de qualité microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (j'ben) et celles de **Benattous et Bettayeb (2019)** sur le j'ben de chèvre.

Mais aussi par rapport aux résultats décrites par **Ouadghiri, (2009)** sur des échantillons du fromage blanc traditionnel (J'ben) du Maroc, où les bactéries lactiques sont présentes dans les échantillons à des dénombrements de $(10^8 \text{ à } 10^9 \text{ UFC/ml})$. Par contre les valeurs sont élevées aux résultats obtenus par **Menassel(2019)** avec une moyenne de $(2,14.10^6 \text{ UFC/g})$ de j'ben à partir de lait cru de vache.

Les lactobacilles constituent la majorité des bactéries lactiques indigènes présentes dans les fromages (**Mannu et al, 2000**).

Le taux de la flore lactiques est de $6,5.10^5$ UFC/g après 24h et de $2,07.10^6$ UFC/g après une semaine de conservation (E1), une augmentation est remarquée et s'explique par la production des bactéries lactiques des composés inhibiteurs telles que les acides organique (Acide lactique,...), inhibent la prolifération des microorganismes (**Païrd et Desmazeaud, 1991**)

La flore lactique du fromage provient des bactéries lactiques autochtones responsables de la fermentation spontanée du lait qui est par la suite transformée en fromage. Ces bactéries offrent une protection au fromage contre les contaminations bactériennes indésirables grâce à l'acidification et la baisse du pH par la suite de la transformation du lactose du lait en acide lactique par voie fermentaire. Les pathogènes étant neutrophiles, ne supportant pas des pH loin de leur optimum. Les bactéries lactiques sont connues par leur capacité de produire des substances antibactériennes comme les acides organiques (acides lactique et acétique), le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines. Donc elles ont la capacité de conservé les aliments (**leskir, 2018**).

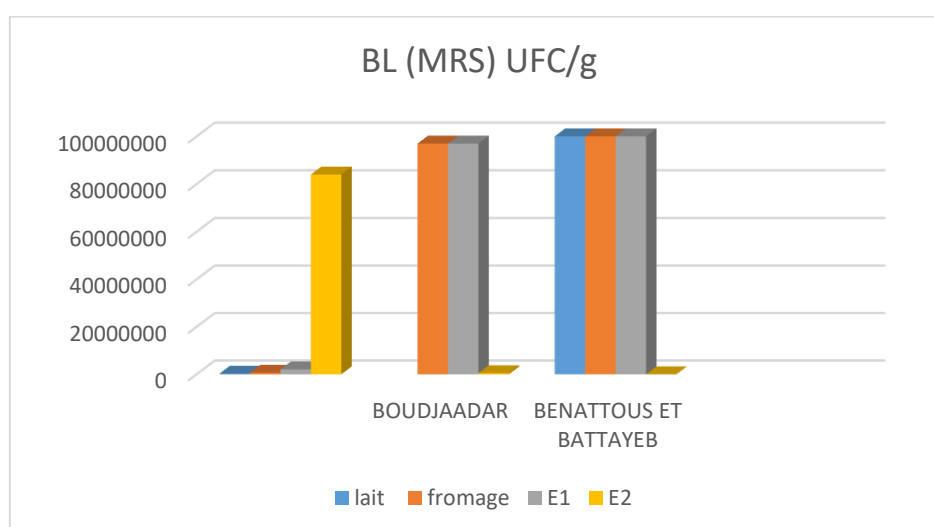


Figure 11: Graphe représente les résultats de dénombrement des BL

VI.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

La recherche et le dénombrement des coliformes sont réalisés sur le milieu BCPL, suivant la méthode du NPP en utilisant la table de Mac Crady (Annexe 11).

Considérant comme positif, les tubes représentant un changement de couleur ce qui indique que la transformation de couleur de milieu basique ou neutre au jaune en milieu acide, et dégagement du gaz observé dans la cloche de Durham, c'est le résultat de CO₂ lors de la fermentation de lactose par bactéries, et la présence d'un trouble

La recherche de coliformes fécaux est un indicateur de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles. Les coliformes témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (**Benhedane, 2012**). Leur présence est souvent associée à des entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, les *Shigella*, *Yersinia* et certains biotypes d'*E.coli* (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux a montré leur absence dans le lait utilisé pour la fabrication du fromage (j'ben). Leur absence dans le lait indique sa bonne qualité hygiénique. Contrairement aux résultats de **Boujaadar(2015)** où la charge des coliformes totaux est (11.10^7 UFC/ml) et les coliformes fécaux de ($6,4.10^6$ UFC/ml) et celles de **Benattous et Bettayeb(2019)**, les CT ($<10^3$ UFC/ml) et CF ($<10^2$ UFC/ml).

Selon le (**JORA,1998**). Le taux de coliformes fécaux toléré est de 10^3 UFC/ml.

L'analyse de l'ensemble des échantillons de j'ben ont marqué une absence totale des coliformes totaux et fécaux, Ces résultats sont similaire au résultat de **Rhiat et al ., (2011)**, dans un échantillon de j'ben contrôlé.

La norme internationale pour les coliformes totaux des échantillons de j'ben est ($m=10/g$) et ($m=1/g$) pour les coliformes fécaux. L'absence peut être expliquée par les bonnes mesures d'hygiène lors de la préparation de différents échantillons. Alors que les échantillons de **Boujaadar (2015)** et ceux de **Benattous et Bettayeb(2019)**, indiquent une présence des coliformes.

Selon **Larpent, (1990)**, la présence des coliformes n'est pas obligatoirement indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

VI.5. La recherche des Staphylocoques

Les Staphylocoques recherchés sont dénombrées sur gélose Chapman.

Selon **Dodd et Booth, (2000)**, le *S.aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait et de « j'ben » (**Rainard et Poutrel, 1993**).

La recherche des Staphylocoques dans le lait et les échantillons du j'ben étudié a révélé leur absence totale dans tous les échantillons analysés. Cette absence est aussi trouvée dans les échantillons de j'ben analysé par **Benattous et Bettayeb(2019)**, **Boudjaadar(2015)** pour le j'ben additionné sel, de région de Ouargla, par **Fedala et al., (2020)** et **Rhiat et al., (2011)** pour le j'ben marocain.

Les normes Algériennes (**JORA, 1998**), exigent l'absence de *S. aureus* dans le lait. Alors nos résultats conforment aux normes et montre la bonne conduite d'hygiène au moment du prélèvement ainsi que la bonne santé de l'animale (la mamelle).

Selon **Guiraud (1998)** le fromage frais ou J'ben doit répondre aux critères suivant ; *Staphylococcus aureus* $<10^3$ /g (plan à 3 classes : n=5 ; c=2 ; m=104 ; M=105). Le dénombrement de *S. aureus* devrait être systématiquement accompagné de la recherche d'enterotoxines en cas de dépassement de $M=10^5$ UFC/g

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production (**Thieulon, 2005**).

VI.6. Les Clostridium sulfito-réducteurs

Les résultats du dénombrement des Clostridiiums sulfito-réducteurs ont révélé leur absence dans le lait et les échantillons de j'ben à base de ce lait. Ces résultats sont similaires à ceux de **Tir et al., (2015)** pour les laits crus de vaches de Tissemsilt (Algérie) et ceux de **Benattous et Bettayeb (2019)** pour le j'ben à partir lait de chèvre, de **Boudjaadar (2015)** pour le j'ben à partir lait de vache mais aussi à ceux de **Mennane et al., (2007)** pour le j'ben marocain.

Ce résultat est confirmé suite au traitement thermique du lait de 10 min à 90°C, réalisé afin d'activer les spores thermorésistantes, capables de persister sous forme latente dans le lait, germer dès que les conditions sont favorables et de sécréter des substances toxiques. Les tubes sont incubés 48 h à 37°C. Seules les colonies noires sont observés (**Rhiat et al, 2011**). Ceci indique qu'elles sont conformes à la norme Algériennes fixées dans le Journal Officiel (**1998**).

Clostridium sulfito-réducteur est responsable de gastro-entérites, se retrouve dans le sol, les eaux et dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Les clostridiiums seront donc capables de survivre dans l'environnement et de contaminer n'importe quel type d'aliment ou matériel si les conditions d'hygiène et de stérilisation ne sont pas respectées (**Lebres, 2002**).

VI.7. Dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement de la flore fongique (levures et moisissures) est effectué sur le milieu gélosé au (milieu Sabouraud)

Le dénombrement de la flore fongique dont le lait est inférieur à 10^3 (**Selon la norme Algérienne 1998**) donc le lait est de bonne qualité hygiénique.

L'ensemble des résultats de dénombrement des levures et des moisissures sur les échantillons de j'ben traditionnel analysés montrent une absence totale de colonies des levures

et/ou moisissures. Sauf le j'ben obtenu après 24h a donné une valeur de $(1,3.10^2 \text{ UFC/g})$ qui est proche aux résultats cités par **Mennane et al., (2007)** où la charge de j'ben marocain est de $(4,5.10^2 \text{ UFC/g})$. Par contre, les résultats sont inférieurs par rapport aux résultats de **Boujaadar(2015)**, où les échantillons de j'ben sont de $(4.10^7 \text{ et } 6,2.10^8 \text{ UFC/g})$ et aussi les résultats de **Benattous et Bettayeb(2019)**, dans un échantillon de j'ben contrôlé (entre $9,3.10^3 \text{ et } 4,5.10^4 \text{ UFC/g}$).

Cette charge en levures et moisissures retrouvée dans l'échantillon de j'ben analysé après 24 heures peut être liée à l'exposition de j'ben à l'air ou au cours de manipulation, ce qui favorise la contamination par cette flore fongique, qui se développera.

La flore fongique peut avoir un rôle important dans la protéolyse, la lipolyse et la désacidification de la masse fromagère (**Saoudi, 2012**).

Les levures et moisissures sont des contaminants courants des aliments. Ils peuvent être véhiculés par l'environnement et se retrouvent dans le lait et les produits laitiers. Bien que les levures ne posent aucun problème d'aspect sanitaire dans l'alimentation, à l'exception de *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*, mais peuvent provoquer une altération organoleptique de l'aliment par formation de trouble, d'odeurs ou de goût annexes anormaux et par la formation de CO_2 . Par contre, pour les moisissures en retrouvant des agents pathogènes pour la plupart toxigènes, c'est à dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire (**Saoudi, 2012 ; El Marnissi et al, 2013**).

VI.8. La recherche des Streptocoques

La recherche des streptocoques fécaux est effectuée sur le milieu Roth et litsky

L'absence de trouble dans le milieu litsky confirme l'absence des streptocoques fécaux, la norme exige leur absence.

La recherche des streptocoques fécaux dans le lait et les échantillons de j'ben ont montrés une absence totale dans tous les échantillons analysés. Ces résultats sont similaires à celles rencontrés dans les résultats de **Fedala et al., (2020)**, de **Benattous et Bettayeb (2019)** pour le j'ben à partir de lait de chèvre et ceux de **Boudjaadar (2015)** pour le j'ben obtenu après 24h et le j'ben salé.

La norme algérienne pour les streptocoques fécaux indique l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru (**JORA, 1998**).

Selon (**Waes, 1973**), ils sont des indicateurs de contaminations fécales, et de manipulations non hygiéniques, leur présence en nombre relativement élevé, témoigne d'une prolifération bactérienne indésirable dans le lait cru destiné à la fabrication du fromage et présume une qualité douteuse.

La contamination du fromage frais par ces germes peut aussi avoir lieu au cours de sa préparation particulièrement à partir des manipulateurs ou la vaisselle laitière préalablement contaminée. Ceci prouve le manque d'hygiène pendant sa préparation (**Hamama, 1989**).

Conclusion

Les consommateurs utilisent le lait de chèvre car il présente une grande valeur nutritive à l'état frais, Néanmoins il doit être sévèrement contrôlé à l'état cru en raison des risques éventuels qu'ils peuvent présenter pour la santé humaine. Le fromage de chèvre pourrait répondre aux besoins et à l'exigence des consommateurs en vue de ses qualités nutritionnelles. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui avait pour but de consiste à mettre au point un fromage frais à base de lait de chèvre fermenté et avec une bonne qualité hygiénique.

Dans ce cadre, nous avons procédé à évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique du « lait de chèvre » issu de la wilaya d'Ouargla. Ainsi, notre travail a porté sur l'étude d'un produit laitier (J'ben) fabriqué au niveau de laboratoire universitaire à base du lait de chèvre.

La qualité microbiologique d'échantillon du lait de chèvre est généralement acceptable, l'échantillon de lait contient un nombre élevé de FTAM ($1,3 \cdot 10^6$ UFC/ml). Mais aucun agent pathogène pour l'homme n'a été trouvé (absence totale des staphylococcus aureus, coliformes et clostridium sulfito-réducteur). Pour l'analyse physicochimique qui a révélé une bonne qualité avec un pH de 6,47. Il ressort que le lait de chèvre produit à Ouargla est de qualité microbiologique acceptable et conformes aux normes du journal officiel algérien.

L'analyse microbiologique du fromage fabriqué par une coagulation spontanée montre une absence totale des germes pathogènes et germe d'altération avec un taux de $6,5 \cdot 10^5$ UFC/g des bactéries lactiques qui sont supérieur aux taux de cette flore du lait. L'effet de salage est démontré lors de dénombrement de FMAT avec un taux de $1,04 \cdot 10^8$ UFC qui est inférieur au taux de cette flore le jour de fabrication, en outre l'analyse physico-chimique du fromage frais avec le sel montre un pH acide de 4.47 qui sont inférieur au taux le jour de fabrication qui est de 4.66.

Il est nécessaire de compléter ce travail par réalisation d'une étude sur la qualité microbiologique et physico-chimique du fromage fermenté par *Leuconostoc* issu d'un lait de chèvre cru de la wilaya d'Ouargla on compare avec le fromage issu par une fermentation spontanée. Comme il est important de comparer l'effet conservateur de cette bactérie avec la conservation par utilisation d'additifs.

Proposant les perspectives suivantes :

- L'utilisation d'autres substances comme ail, romarin, pour améliorer la qualité organoleptique du fromage de chèvre
- Une Essai de préparation du fromage à partir différentes sources comme brebis.
- Utilisation d'autre souche de genre *Leuconostoc* pour la préparation du fromage.
- Préparation du fromage à partir d'un mélange de souche *Lactocoque* et *Leuconostoc*.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- **Abbas K., (2012).** Effet de traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles de fromages traditionnels : le cas des pâtes persillées .Pp: 5. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, Français.246p
- **Aboutayeb R., (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers. *Consulté à l'adresse <http://www.azaquar.com>, le, 15(05), 2016*
- **Abdessalam A.D. (1995).** Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières périurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét., Dakar, *IQ95*, n021, 126p.
- **Achemchem F., (2014).** Bactériocines de bactéries lactiques de lait et de fromage de chèvre. Presses Académiques Francophones. Paris. p 346.
- **AFNOR (1980).** Recueil des normes françaises. Lait et produits laitiers.
- **AFNOR (1985).** Contrôle de la qualité des produits laitiers -Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} édition.
- **AFNOR (1986).** Association française de normalisation recueil des normes français, contrôle de la qualité des produits laitiers.3^{ème} édition.647-651 PP
- **Aggad H, Mahouz F, Ahmed AY et Kihal H. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique dulait dans l'ouest algérien. *Méd. Vét.* 160, 12, 590-595
- **Aissaoui zitoun O. (2003).** Fabrication et caractéristique d'un fromage traditionnel algérien bouhezza .Thèse de magisters. INATAA. Constantine. Algérie, p138.
- **Aissaoui Zitoun O. (2014).** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel Algérien « Bouhezza ». Thèse de doctorat en Sciences alimentaires, INATAA Constantine. Université de Constantine 1.174p.
- **Aissaoui Zitoun O. Et Zidoune M.N., (2006).** Le fromage traditionnel algérien Bouhezza. Séminaire d'Animation Régional Technologies douces et procédés de séparation. AUF-GP3A-INSAT, Tunis, Tunisie, 118-124.
- **Alais C. (1984).** Science de lait : principes des techniques laitières. 4^{ème} édition, SEPAIC, Paris, 814 p
- **Amhour, F., Saidi, B., Hamama, A., &Zahar, M. (1998).** Qualité microbiologique du lait cru : Cas de la région d'Errachidia. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(1), 31-35.

- **Atlan, D., Beal, C., Vergès, M.C.C., Chartier, M.P.C., Chouayekh, H., Bousquet, M.C., Deghorain, M., Gaudu, P., Gilbert, C., Goffin, P., Guédon, E., Guillouard, I., Guzzo, J., Hols, P., Juillard, V., Ladero, V., Lindley, N., Lortal, S., Loubière, P., Maguin, E., Monnet, C., Monnet, V., Rul, F., Maréchal, R.T., Yvon, M. (2008).** Métabolisme et ingénierie métabolique. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p 272-448
- **Axelsson L.. 2004.** Classification and physiology. In : Lactic acid bacteria : Microbiological and functional aspects (Salminen S., wright A.V. et Ouwehand A.). 3^e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 1-6

B

- **Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., Kihal, M. (2004).** Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, 21 : p 600.
- **Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F., Obert, J.P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p 661-766
- **Bekhouche Farida., (2006)** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie .Université de Mentouri Constantine.149P
- **Bekhouche, F., Boulahrouf, A. (2005).** Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Science & technologie*. Vol. 23, pp. 38-45.
- **Benattous.D, Bettayeb.I. (2019).** Effet des bactéries lactiques productrices des substances antimicrobiennes sur la qualité de fromage. Mémoire de master en contrôle de qualité. Université de Kasdi Merbah Ouargla.70p
- **Benhedane N. (2012).** Qualité microbiologique du lait cru destinée à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien. Mémoire de magister en sciences alimentaire. Université Mentouri Constantine. Pp 13-1
- **Benkerroum N. et Tammime A. Y. (2004).** «Technology transfer of some traditional dairy products (Iben, jben and smen to small industrial scale ». *Food Microbiolgy* (21) 399-413.

- **Bennett R-J and Johnston K-A (2004)** .General aspects of cheese technology. In cheese : Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition - Volume 2 : Major cheese groups, pp 23-50.
- **Bigret, M., (1994)**. Lactic acid bacteria and organoleptic properties of food: Novel G et Le Querler J-F. Les bactéries lactiques. Actes du colloque Lactic 94 Caen 7-9 septembre. Presses universitaires de Caen. France. pp 25-27
- **Boudjaadar. D (2015)**. Influence des agents additifs sur la qualité microbiologique du fromage traditionnel. Mémoire de master en microbiologie fondamentale et appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. 68p
- **Boumendjel M, Feknous N, Mekideche F, Dalichaouche N, Feknous I, Touafchia, Metlaoui N et Zenki (2017)**. Caractérisation du lait de chèvre produit dans la région du Nord-Est Algérien. Essai de fabrication du fromage frais. *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 492-506.
- **Bouricha M. (2011)**. La sélection des souches de *Leuconostoc mesenteroides* productrice des substances antimicrobiennes. Mémoire de magister en microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Oran Es senia. p 06
- **Braegger, C. (2002)**. Le rôle des probiotiques dans la prévention et le traitement de la gastroentérite aiguë chez l'enfant. *Die deutsche Fassung dieses Artikels ist in der Paediatrica erschienen* Paediatrica. 13(5) 29-33
- **Brulé G, Lenoir J et Remeuf F, (1997)**. Partie 1, les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. Chapitre 1: la micelle de caséine et la coagulation du lait. Pp : 7 à 26. Dans le fromage coord: Eck A., et Gillis J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris.

C

- **Chamba, F.J. (2008)**. Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In Corrieu, G. et Luquet, F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p 787-815.
- **Carnicella E, Dario M, Ayres MCC, Laudadio V et Dario C. (2008)**. The effect of diet, parity year and number of kids on milk yield and milk composition in Maltese goat. *Small Ruminant Research*. 77, 71-74
- **Carr, F.J., Chill, D., et Maida, N. (2002)**. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol*, 28 : (4) 281-370

- **Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. Pp :1-4.
- **Chye, F. Y., Aminah, A., Ayob, M. A. (2004).** Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology* 535-54.

D

- **Dahou A. E., 2017.** Etude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques, spécialité Production et Biotechnologie animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abdelhamid Ben Badis – M0ostaganem. P 99-100.
-
- **Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben» : connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique Science, 11(6)*, 1-13
- **Desmazeaud M.J ; (1983) :** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le Lait*, 249-280.
- **Desmazeaud M., Spinnler E. (1997).** Lait et produits laitiers in LARRETA- GARDE V. *Enzymes en agroalimentaires*. Ed. Tech & Doc, Lavoisier
- **Devoyod J.J, Poullain F. (1988).** Les Leuconostocs Propriétés : leur rôle en technologie laitière. INRA. Laboratoire de Microbiologie laitière, Jouy-en-Josas, France .*Le Lait*, 68 (3), 249-280
- **Diao M. (2000).** la qualité du lait et produits laitiers. Institut Sénégalais de recherches agricoles. Edition: GRET/ ENDA-ERAF Dakar. pp. 1-7.
- **Dodd F.H., Booth J. (2000).** Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairycattle. Edition Andrews A.H, London, pp. 21 3-255.
- **Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour labioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. , 13*: 143-154.
- **Doyon, A., Tremblay, G., Cinq-Mars, D., & Chouinard, Y. (2005).** Influence de l'alimentation sur la composition du lait de chèvre : revue des travaux récents. In *Colloque sur la chèvre. CRAAQ* (pp. 1-23).

- **Dridier et Prevost, (2009).** Bactéries Lactiques Physiologie, Métabolisme, Génomique et applications industrielles.

E

- **Eck Andre. (1987) :** Le fromage. Lavoisier, 2eme édition, Paris. P. 529
- **Eck A. et Gillis J.C. (1997).** Le Fromage, De la science à l'assurance-qualité ; 3e éd-Paris, 891p.
- **Eck.A et GillisJC. (2006).** Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier.Paris. 891p.
- **El Galiou, O., Zantar, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Centeno, J. A., & Carballo, J. (2015).** Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco. *Small Ruminant Research*, 129, 108-113
- **El Marrakchi.A, Hamama.A. (1996).**Aspects hygiéniques du fromage frais de chèvre : Perspectives d'amélioration de la qualité. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II. Département d'hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale.Une réflexion collective appliquée au cas marocain. (Étude FAO production et santé animales - 131).
- **El Marnissi. B, Belkhou. R, ElOualil .A, Bennani.L (2013).**caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben) : Microbiological and physicochemical characterization of raw milk and some Moroccan traditional dairy derivatives (Lben and Jben). LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE, Volume 8, N°33
- **Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I. and Villani, F. (2009).** Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiol*, 26: 228–231
- **Essalhi M.,(2002).** Relation entre la pratique d'élevage et la quantité de lait. Mémoire d'ingénieur,Institut Agronomique et Vétérinaire HASSEN II, 227p.

F

- **FALL C, (1997).** Etude des fraudes du lait cru: Mouillage et écrémage. Thèse de Doctorat en Midecine Vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop-Dakar, 8
- **F.A.O, (1998).**Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.Rome(Italie): Alimentation et nutrition. ISBN, (28), 92-5-20534-6.
- **Farris M. (2009).** Connaissance des aliments : base alimentaires et nutritionnelles de la diététique, 2ème édition Lavoisier Tec & Doc, pp. 18-22.

- **Fedala, N., Mokhtari, M., & Mekimene, L.(2020).** Contribution à la valorisation des dattes (deghlet nour dans la fabrication du fromage de chevre. *Revue Agrobiologia* .**10**(1) : 1918-28.
- **Fotou. K, Tzora. A, Voidarou. CH, Alexopoulos. A, Plessas. S, Avgeris.I ,Bezirtzoglou.E , Akrida-Demertzi.K ,Demertzis P.G (2011):** Isolation of microbial pathogens of subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene.
- **Fox P.F. Guinee T.P .Cogan T.M. et Mcsweeney P.L.H. (2000).** Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.
- **Fredot E, (2009).** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris, Lavoisier, 530p.

G

- **GARVIE, E.I. (1986).** Genus *Leuconostoc* van tiegen 1978,198 al emended mut. Char Hucker and Pederson 1930, 66al. In: *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 2, pp: 1071-1075
- **Gelais-St. D., Tirard-C.P. Belonger G., Couture R. et Drapeau R.,(2002).**Chapitre 6 : Fromage. Pp 349 à 412. *Science et Technologie du lait, transformation du lait*.Coord. Vignola. Edition école polytechnique. 600 p.
- **Ghazi, K., Guessas.B, Niar, A., Louacini.K.I (2010).**Hygienic quality of cow milk in various bovine breeds of tiaret area (Algeria).*Asian journal of animal and veterinary advances*.5(8) :592-596.
- **Goetsch AL, Zeng SS et Gipson TA. (2011).** Factors effecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research*. Doi : 10.1016/j.smallrumres.2011.09.025.
- **Gosta. (1995).** Lait long conservation. In *manuel de transformation du lait*. Edition: Tétrapacks Processing Systems A.B, Sweden. 442p.
- **Guiraud J.P (1998) :** *Microbiologie Alimentaire Techniques d'analyses microbiologiques*. ED. Dunod, paris, 651p.
- **Guiraud J.P. (2003).** *Microbiologie alimentaire*. Edition: Dunod. Paris. 651p.
- **Guiraud J.P., (2012).***Microbiologie des principaux produit alimentaire ; in : " microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire "* Dunod, Paris.

- **Guiraud J.P et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : Usine nouvelle .Paris. 239p.
- **Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. p 95
- **Gret . (2002).** Transformation les produits laitiers frais à la ferme. 1ère Ed 2002,Educa grieditions. 232p.

H

- **Hamama,A.(1989).** Qualité bactériologique des fromages frais marocains. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*, (6), 223-227
- **Hamama , A (1995).** - The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. – Trends Food Sci. Technol., 6(5), 171-172.
- **Hansal N. (2015)** Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *leuconostoc mesenteroides* isolé à partir du lait cru de chèvre et de chamelle. Mémoire de magister en Microbiologie Fondamentale et Appliqué, Université d'Oran 1, 154p.
- **Hemme, D., & Foucaud-Scheunemann, C. (2004).** Leuconostoc, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. *International Dairy Journal*, 14(6), 467-494.
- **Hugenholtz. (1993)** Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev.12. P: 165 -178.

I

- **Irlinger F and Mounier J. (2009).**Microbial interactions in cheese: implications for cheesequality and safety. Current Opinion in Biotechnology. 20 : 142-148

J

- **Jeantet R., Croguennec T., Madrant., Schuck P et Brule G., (2008).** Les produits laitiers, 2ème édition *TEC et DOC Lavoisier*, 185p
- **Journal officielle de la république algérienne (1998).** Arrêté interministériel du 24 janvier 1998. Aouel Safar 1419 correspondant au 27 mai 1998. Critères microbiologique relatifs à certaines denrées alimentaires spécifications et à la présentation des creters microbiologiques des laits et des produits laitiers de certains laits de consommation, N° JORA : 035 du 27-05-1998.

K

- **Kaantekinsen K., Elmali m et Ulukanli Z. (2007).** Microbiological Quality of UHT Milk Consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*, Vol.7, p. 45-48.laiterie, P15, P 3-4. P164, 171, 174.
- **Kabir A. (2015).** Contrainte de la production laitière en Algérie et Evaluation de la qualité des laits dans l'industrie laitière (Constats et perspective). Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bella. Oran.p29
- **Kacimi .S et Hassani S. (2013).** La dépendance alimentaire en Algérie : importation de lait en poudre versus production locale, quelle évolution ? *Mediterranean Journal Of Social Sciences* Vol 4, N°11, 152-158.
- **Khemis.I Bachi.S (2019).**Contrôle de la qualité microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (j'ben). Memoire en master en contrôle de qualité du produit alimentaire. Université de Kasdi Merbah Ouargla.112p
- **Kihal, M., Prevost, H., Henni, D. E., Benmechernene, Z., & Diviegrave, C. (2009).** Carbon dioxide production by *Leuconostoc mesenterodes* grown in single and mixed culture with *Lactococcus lactis* in skim milk. *Scientific Research and Essays*, 4(11), 1348-1353.

L

- **Labioui, H., El Moualdi, L.,El Yachioui,,M.,Ouhssine,M.(2005).** Selections de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux*. 144 : 237-250.
- **Labioui, H., El Moualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., Berny, E., & Ouhssine, M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148, 7-16
- **Lahsaoui S. (2009)** Étude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel Algérien "Klila". Mémoire d'ingénieur d'état, Université El Hadj Lakhdar-Batna, 72p
- **Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S. and Wright A.V., 2012 :** *Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects* Fourth edition Taylor&Francis Group. Boca Raton London New York.
- **Larpent J.P. (1990).** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans *Microbiologie alimentaire*. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc, Lavoisier, pp. 201-215

- **Larpen J.P., (1997).**Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P.
- **Lavaua. E.C, Lubrano-Lavadera A.S, Braescob.V, Deschamps (2016).**Fromages blancs, petits suisses et laits fermentés riches en protéines. Science direct 1-8
- **Le Jaouen J.C (1993).** Guide national des bonnes pratiques en production fromagère fermière. Paris, 1^è éd. Institut de l'élevage.145-154
- **Lebres E., Azizi D., Hamza A., Taleb, F., et Taouchichet B. (2002).** Manuel des travaux pratiques. Institut Pasteur d'Algérie, 20p.
- **Leksir C. et Chemmam M. (2015)** Contribution à la caractérisation du *Klila*, un fromage traditionnel de l'Est de l'Algérie. *Livestock Research for Rural Development. Volume 27*, N°5.
- **Leksir C. (2018).** Contribution à la caractérisation du *Klila*, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Thèse de doctorat. Université 8 Mai 1945. Guelma.
- **Lemouchi, L. (2008).** Le fromage traditionnel bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 65 p.
- **Luquet F.M., Corrieu G. (2008).** Bactéries lactique de la génétique aux ferments. Edition tec adoc Lavoisier, paris, pp. 153-271.

M

- **Mahamedi, A. E. (2015).** Etude des qualités : hygiénique, physicochimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie. Benlahcen K. Université d'Oran. Algérie.111p
- **Mahaut. M, Korolczuk.J, Pannetier .R, Maubois .J.L (1986).** Élément de fabrication de fromage de type pâte molle de lait de chèvre à caractère lactique par ultrafiltration de lait acidifié et coagulé. Technique laitière et marketing N° 1011 24-26
- **Mahaut M, Jeantet R, Brule G. (2000) :** Initiation à la technologie fromagère. Lavoisier .Pp 26-78
- **Mahaut M, Jeantet M, Brule G, Schuck P. (2003) :** Les produits industriels laitiers. Lavoisier .Pp .107-180
- **Maiwore, J., Baane, M. P., Ngoune, L. T., Fadila, J. A., Yero, M. Y., & Montet, D. (2018).** Qualité microbiologique et physico-chimique des laits fermentés consommés à

Maroua (Cameroun). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(3), 1234-1246

- **Makhloufi M K., (2011)** : Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat.
- **Mami A. (2013)** Recherches des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Microbiologie Appliqué, p7
- **Mannu.I, Comunian.R, Scintu.M.F (2000)**. Mesophilic lactobacilli in Fiore Sardo cheese : PCR-identification and evolution during cheese ripening. *International Dairy Journal* 10 : 383-389.
- **Marchal, N., Bourdon, J.L.et Richard, CL. (1991)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed. , Doin éditeurs, Paris.
- **MathieuJ. (1998)** : Initiation à la Physico-Chimie du Lait. Tec. Doc, Ed 01, Lavoisier, paris
- **Mekentichi, Z., (2003)**. Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).Mémoire d'ingénieur. Dept Agronomie. Université de Batna
- **Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004)**. Contamination bactérienne d'une laitière de stabulation libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In : Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. Institut de l'Elevage – INRA, Paris, 11 : 333–336.
- **Menassel C. (2019)**. Contrôle de qualité du fromage frais « j'ben » à partir du lait cru de vache. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah Ouargla.75p.
- **Mennane. Z., K. Khedid, A. Zinedine, M. Lagzouli, M. Ouhssine et M. Elyachioui, (2007)**. Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 2 (1): 23-27
- **Mchiouer, K., Bennani, S., El-Gendy, N. S Meziane, M (2017)**. Evaluation of the hygienic quality of raw cow's milk in Oujda city Morocco. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(2), 587-591
- **Morand-Fehr P., Le Jaoun J.C., Buogler J., Delahey G. et DemontignyG.,(1987)**. *Caprins*, 3 : 12-19.

N

- **Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S., Bellal, M.M. et Dadie, A (2009)** : Characterization of the purified Coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynarascolymus*) and from fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *Journal of Food Technology* 7: 20-29.

O

- **O'mahony F., et Peters K.J., (1987)**. Techniques de traitement du lait adaptées aux petites exploitations de l'Afrique subsaharienne. Bulletin Du CIPEA (B.P. 5689). Addis-Abeba (Ethiopie): CIPEA
- **Ouadghiri, M., (2009)**. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine
- **Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D. S., Tano-Debrah, K., Glover, R. L., & Jespersen, L., (2012)**. Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food microbiology*, 32(1), 72-78

P

- **Paired J-C et Desmazeaud M. (1991)**. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1 Oxygen metabolites and catabolism and products. *Lait*. 71, 525-541pp
- **Pradal M, (2012)**. la transformation fromagère caprine fermière, 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris .293p
- **Prescott, L.M., Harley, J.P. and Donald, A. (2003)**. Microbiologie, De boeck université, 2eme édition française. 128 : 28-29

Q

- **Quasem, J.M., A.S. Mazahreh and K. Abu-Alruz, (2009)**. Development de végétal basé sur le lait (*Sesamum Indicum*). *Am. J. Applied Sci.*, 6: 888-896. DOI: 10.3844/ajassp.2009.888.896
- **Quiberoni, A., Rezaiki, L., El Karoui, M., Biswas, I., Tailliez, P., and Gruss, A. (2001)** Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. *Res Microbiol*. 152: 131-139.

R

- **Rainard P et Poutrel B. (1993)**. Protection de la glande mammaire. Dans : biologie de la lactation. Edition INSERM-INRA. Pp : 415-429.

- **Ramet J.P., (1997).** Partie 1, Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. Chapitre 2 : l'égouttage du coagulum. Pp. 42 à 44. Dans le fromage coord : Eck A., et Gillis J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris.875 p.
- **Randazzo, C.L., Caggia, C. and Neviani, C.L.E. (2009).** Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78: 1–9
- **Remeuf F., Le Noir J. et Duby C. (1989).** Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, 69,499, 518.
- **Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Mennane, Z., &Ouhssine, M., (2011).** Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 7(3).

S

- **Säde E., 2011 :** leuconostoc Spoilage of refrigerated, packaged foods. Doctoral thesis. University of Helsinki Finland.
- **Saidi, N., Guessas, B., Bensalah F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D. E., Prevost, H. et Kihal, M. (2002).** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Aleg. Reg. Arides*. 1: 1-11
- **Sandine, W.E. (1988).** New nomenclature of the non-rod-shaped lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70, pp: 519-522.
- **Saoudi Z. 2012.** Caractérisation microbiologique et de la protéolyse du fromage traditionnel algérien « *Bouhezza* » de ferme. Mémoire de magister. Université Mentouri. Constantine. Pp 49-52.
- **St-Gelais, D. D., Ould-Baba, A. M., &Turcot, S. M. (1999).** Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation. *Agriculture et Agro-alimentaire*, Canada, PP1-33.
- **Stiles, M.E. (1996).** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 70:331-345.
- **Suskovic J, Kos B, Beganovic J, Lebos Pavunc A, Habjanic K et Matosic S. (2010).** Antimicrobial Activity – The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technology and Biotechnology*. 48 (3) 296–307.

T

- **Tabak. S et Bensoltane. A (2012)** .L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. *Nature & Technology*, (6), 71.
- **Tahlaiti H., (2019)** : Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté. Thèse de doctorat. Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.
- **Taybi, N. O., Arfaoui, A., & Fadli, M. (2014)**. Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb, Maroc [Evaluation of microbiological quality of raw milk in the region of Gharb, Morocco]. *International Journal of Innovation and Scientific Research*. pp. 487-493
- **Tchamba C.N. (2007)**. Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal : cas de la zone des Niayes. Thèse de doctorat. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar. Pp16
- **Thieulon M. (2005)**. Lait pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal*, pp. 21-28
- **Tir E, Bounoua S., Heddar M, Bouklila N. (2015)**. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 8(2), 26-33.
- **Tormo H, (2010)**.Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de variabilité. Thèse de doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition, Université Toulouse III - Paul Sabatier.258p
- **Tolle A. 1980**. The microflora of the udder. *Bull, Int, Dairy Fed*, 120 p.
- **Touati K., (1990)**.Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal Algérien "la *klila*". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.

V

- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K. and Swwing J.. 1996**. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60 : 407
- **Vignola, C. L. (2002)**. Science et technologie du lait. *Québec : Fondation de technologie laitière de Québec*.-587 p.

- **Vignola, C. L., Michel, J., & Paquin, P., (2002).** Science et technologie du lait. Canada. p600.

W

- **Waes G. (1973).** Les streptocoques D dans le lait cru réfrigérer. Le lait international dairy journal 528.pp520-528.
- **Walther.B, Schmid.A, Sieber.R et Wehrmuller. K. (2008).** Cheese innutrition and health. *DairySci. Technol.* 88, 389–405.
- **Welman, A.D., Maddox I, S (2003)** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in biotechnology.* 21. 269-274.

Y

- **Yateem A., Balba M.T., Al-Surrayai T., Al-Mutairi B., and Al-Daher R., (2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Science*, 1–6.

Z

- **Zarour, K., Benmechernene, Z., Hadadji, M., Moussa-Boudjema, B., Henni, J. E., & Kihal, M. (2013).** Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. *Nature & Technology*, (8), 39A.
- **Zhang H. et Cai Y., (2014) :** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New Yor London P : 535.

Annexes

Annexe 01 : Tableau des espèces des bactéries lactiques utilisées comme des souches tests.

source	Les souches	Souches identifié
	C1	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	C2	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	C10	<i>Leuconostoc ln. gelidum</i>
	C12	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	C13	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	C15	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	C16	<i>Leuconostoc ln. carnosum</i>
	C18	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	C21	<i>Leuconostoc ln. Mesentaroide</i> <i>subsp cremosis</i>
	C23	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	C34	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp dextransicum</i>
	C39	<i>Leuconostoc ln. Mesentaroide</i> <i>subsp cremosis</i>
	C41	<i>Leuconostoc ln. carnosum</i>
	C43	<i>Leuconostoc ln. citreum</i>
	F49	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp dextransicum</i>
	F55	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	F64	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	F63	<i>Leuconostoc ln. fallax</i>
	F65	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	F69	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp dextransicum</i>

	F70	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp mesenteroide</i>
	V69	<i>Leuconostoc ln. mesenteroide</i> <i>subsp dextranicum</i>
	D36	<i>Leuconostoc</i>
	31	<i>Leuconostoc mesenteroide</i> <i>subsp cremosis</i>
	86	<i>Leuconostoc cremosis</i>

Annexe 02 : Coloration de Gram

- 1- Déposer une goutte d'eau distillé stérile sur une lame bien propre ;
- 2- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène ;
- 3- Couvrir le frottis par le Violet de gentiane pendant 1 minute ;
- 4- Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée ;
- 5- Couvrir de lugol pendant 60 secondes ;
- 6- Laver à l'eau distillée ;
- 7- Couvrir de l'alcool pendant 30 secondes ;
- 8- Laver à l'eau distillée rapidement ;
- 9- Couvrir avec de la fuschine pendant 1 minute ;
- 10- Rincer à l'eau distillée ;
- 11- Secher le lame au bec benzène
- 12- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement X 100.

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du violet de gentiane et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres. (Prescott *et al.*, 2003).

Annexe 03 : Revivification et purification des souches lactiques

Sur milieu liquide



Figure 1 : Aspect des souches pures des *Leuconostoc* sur bouillon MRS.

Sur milieu solide



Figure 2 : Aspect macroscopique des souches pures des *Leuconostoc* sur gélose MRS

Annexe 04 : Pré-identification des souches

Coloration de Gram

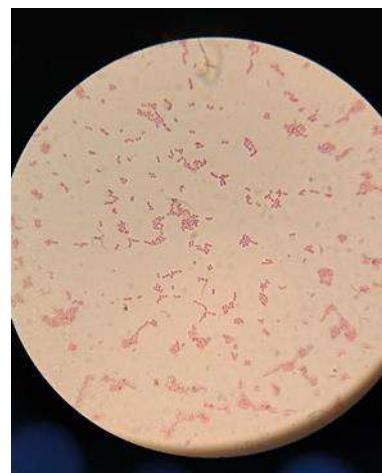


Figure 3 : Observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram à grossissement x100.

Test catalase



Figure 4 : Résultat de test catalase

Recherche de type fermentaire



Figure 5 : Type fermentaire des souches isolées (*Leuconostoc*) sur bouillon MRS.

Annexe 05 : Choix des souches

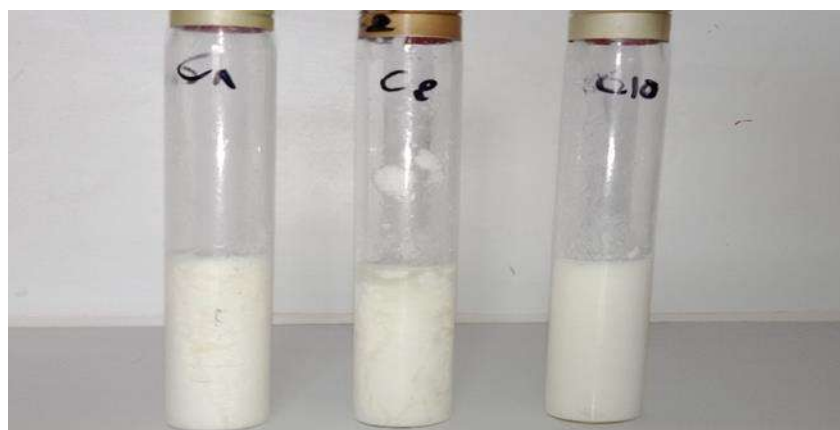
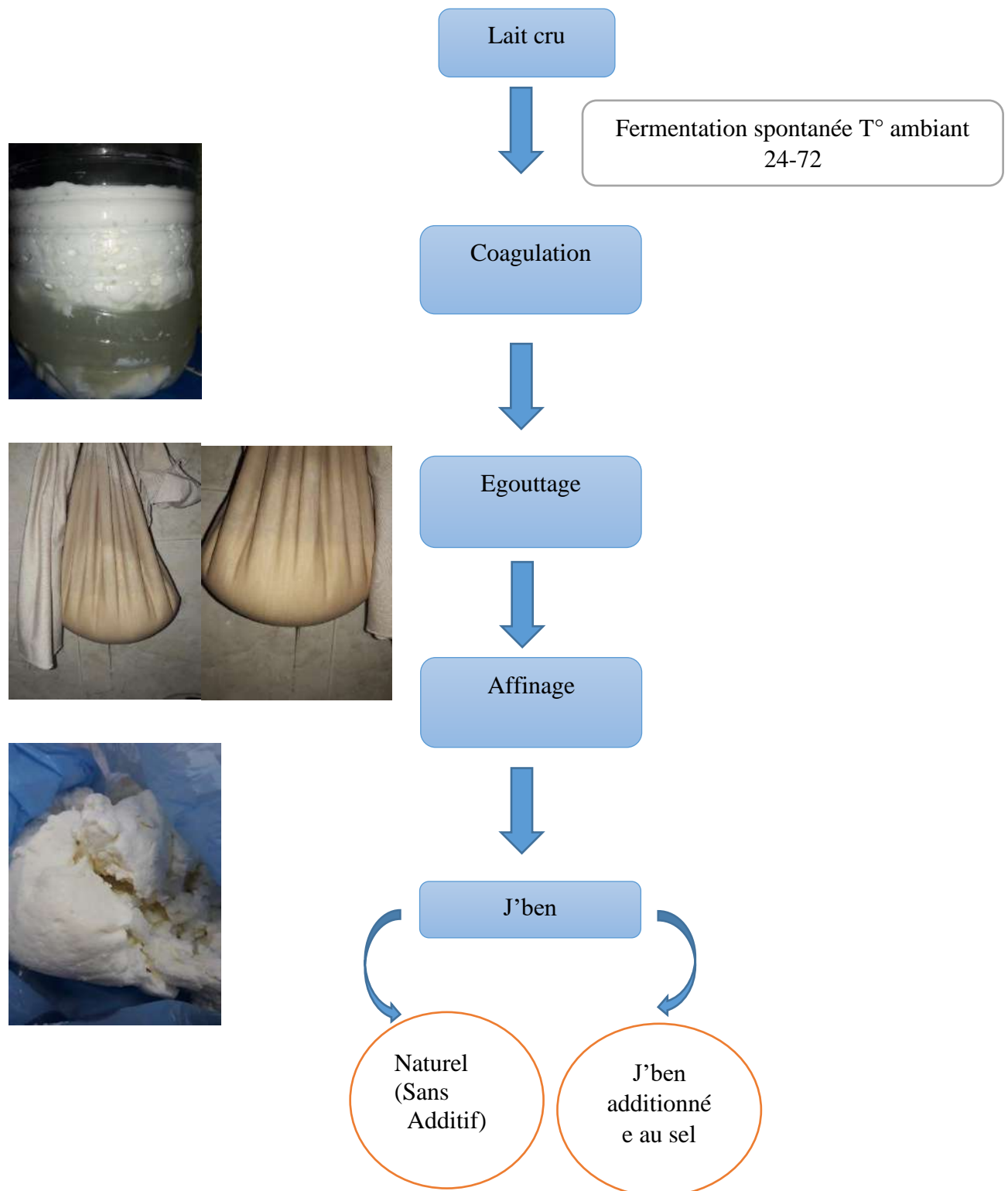
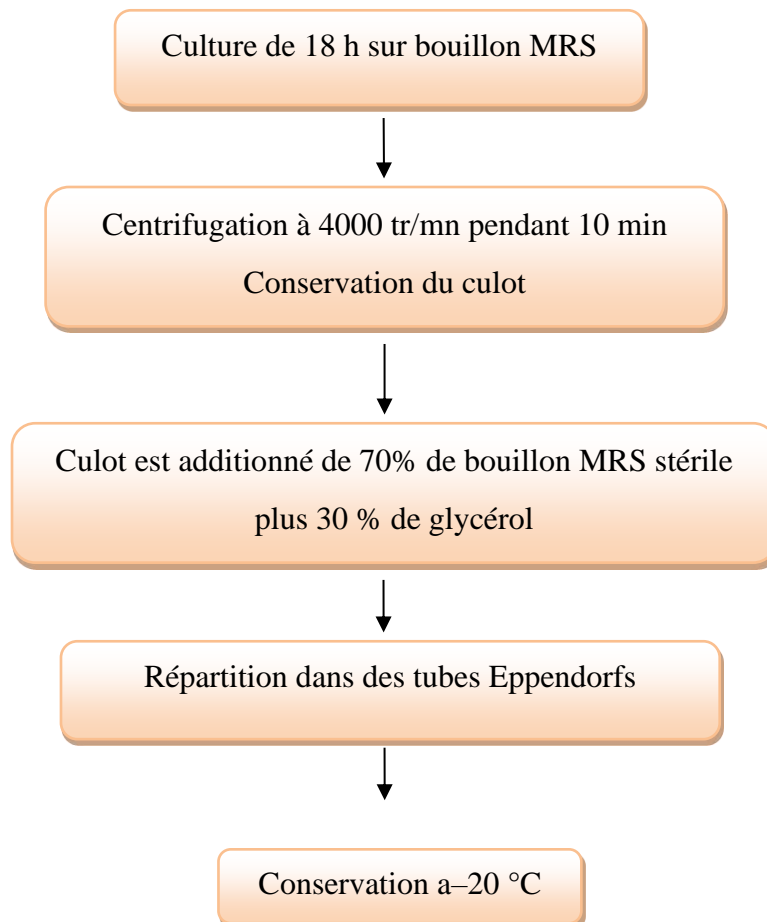


Figure 6 : Coagulation de laitensemencé.

Annexe 06 : Procédé de fabrication du J'ben par fermentation spontanée**Figure 7** : préparation de j'ben (Procédé de fabrication du J'ben).

Annexe 07 : Méthode de conservation de longue durée des bactéries lactiques purifiées (Saidi et al, 2002).



Annexe 08 : Résultat des Analyses Physico-chimique



Mesure de pH



Mesure de l'acidité dornic



Mesure de la matière sèche



Détermination de la matière grasse

Annexe 09 : Flores dénombrées et dilutions utilisées dans l'analyse microbiologique du fromage frais.

Flore	dilution	Milieu de culture	incubation	Ensemencement
Flore mésophile totale	$10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	PCA	30°C	En surface
S. aureus	$10^{-1}, 10^{-2}$	CHAPMAN	37°C	En surface
Levures et moisissures	$10^{-1}, 10^{-2}$	SABOURAUD	28°C	En surface
Coliformes totaux	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	BCPL	37°C	En tube
Coliforme fécaux	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	BCPL	44°C	En tube
Flore lactique	$10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	MRS	30°C	En masse
Streptocoque fécaux	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	ROTH/LITSKY	37°C	En tube

Annexe 10 : Résultat des analyses microbiologique

Test de réductase



Figure 8 : résultat de test réductase de lait

Dénombrement de flore totale aérobie mésophile FMAT



Résultat de recherche de FMAT du lait sur PCA

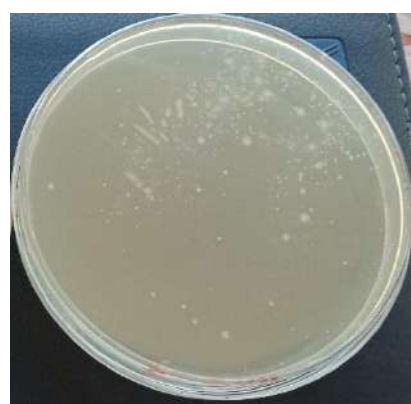


Résultat de recherche de FMAT de j'ben sur PCA

Dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS :



Résultat de recherche des BL dans le lait sur MRS



Résultat de recherche des BL dans fromage sur MRS

Dénombrement des coliformes totaux et fécaux



Résultat de recherche des coliformes dans le lait sur BCPL

Recherche des staphylocoques



Résultat de recherche de Staph du lait sur Chapman



Résultat de recherche de Staph du lait sur Chapman

Les Clostridium sulfito-réducteurs



Recherche des Clostridium dans le lait sur VF



Recherche des Clostridium dans le fromage sur VF

Dénombrement des levures et moisissures



Résultat de recherche des levures et moisissures dans le lait sur sabouraud



Résultat de recherche des levures et moisissure dans le lair sur Sabouraud

La recherche des Streptocoque



Résultat de recherche des streptocoques sur Roth

Annexe 11 : table de Mac GradyTables de Mac Grady**3 tubes par dilution**

Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

Annexe 12 : Composition des diluants (g/l)**Eau peptoné :**

Peptone	1g
Chlorure de sodium	8,5g
Eau distillée	1000 ml
- Eau physiologie 9 /ml NaCl	
NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

Annexe 13 : Composition des solutions de titrage**-Solution de NaOH 0,1N :**

Eau distillé	1l
NaOH	40g

Annexe 14 : Composition et préparation des milieux de cultures (g/l)**Milieu PCA (Gélose nutritive standard Plate Count Agar)**

Peptone de caséine... ..	5,00 g
Extrait de levure	2,50 g
Glucose	1,00 g
Agar... ..	15,00 g
Eau distillée	1000ml

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes, PH =7 ± 0,2à 25°C.

Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Peptone... ..	10 g
Acétate de sodium... ..	5g
Citrate de sodium... ..	2g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	0.05 g
Agar... ..	12g
Tween80... ..	1 ml
Eau distillée	1000 ml

PH=6.5±0.2 à 37°C. Autoclavage : 121°C /15min

MRS -Bouillon

Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
Citrate d'ammonium	2,0 g

Tween 80	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g
pH = 6.2	

Milieu B.C.P.L à simple concentration (S/C)

Extrait de viande	1g
Peptone de caseine	7g
Lactose	5g
Pourpre de bromocrésol ou red phénol	0.05g
Eau distillée	1000 ml
PH=6.9. Autoclavage : 121°C pendant 15min.	

Milieu Chapman

Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Tryptone	5g
Peptone bactériologique	10g
Chlorure se sodium... ..	70g
Mannitol... ..	10g
Rouge de phénol... ..	0,05g
Agar... ..	18g
Eau distillée	1000ml
Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min.	
PH=7.1±0.1 à 37 °C.	

Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium)

Tryptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate di potasique	2.7g
Phosphate monopotassique... ..	2,7g
Azohydrate de sodium... ..	0,2g
Eau distillée	1000 ml
PH 7,2 Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn	

Milieu de LISTSKY

Peptone...	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate dipotassique... 2,7g	
Phosphate monopotassique... ..	2,7g
Eau distillée	1000ml
PH... ..	6, 8 à 7

Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C

Milieu viande foie (VF) :

Peptone viande-foie.....	30,00g
Sulfite de sodium	2,50g
Glucose	2,00 g
Citrate ferrique ammoniacal	0,50g
Amidon soluble.....	2,00g
Agar	11,00g

PH final à 25°C : $7,6 \pm 0,2$

Dissoudre 48g dans 1 litre d'eau distillé. Autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.

Milieu Sabouraud :

Peptone de gélatine.....	10g
Glucose	20g
Agar.....	17g
Eau distillée.....	1000 ml

Ph $5.6 \pm 0,2$ à 25°C

Dissoudre 65g dans un litre d'eau distillée, autoclavage 15min à 121°C

Annexe 15 : Appareillage et verrerie

Vortex

Autoclave

Bain marie

Balance électrique de précision.

Butyromètre de GERBER

Bécher

Etuve réglables à différentes températures.

Four pasteur.

PH mètre.

Capsule

Flacon de 250ml en verre et stériles.

Pipette gradué de 10ml.

Pipette pasteur stériles

Plaque chauffante Agitateur

Tubes à essai.

Annexe 16 : Solution et Réactifs

Solution titré d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9)

Phénophtaléine.

Bleu de méthylène (bleu de méthylène 5mg / Eau distillée stérile 100mL)

Résumé

Le but de cette étude consiste à évaluer l'effet de type de fermentation sur la qualité et la conservation d'un fromage frais. Deux types de fermentation sont utilisés pour fabriquer un fromage frais à partir de lait de chèvre issu de la région de Mkhadema, Ouargla. Le premier par fermentation spontanée et l'autre fermenté par une souche autochtone *Leuconostoc sp.* La conservation est assurée par entreposage à 4°C soit par ou sans addition de sel. La qualité microbiologique est investiguée par le dénombrement de certains microorganismes pathogènes et d'altération. La qualité physicochimique correspond à la détermination du pH et de l'acidité ainsi que la détermination du taux de la matière grasse.

Les résultats du control microbiologique montre que le lait de chèvre et le fromage frais sont de qualité acceptable (charges microbiennes de la FMAT de $1,3 \cdot 10^6$ et $2,58 \cdot 10^5$ UFC/ml pour les bactéries lactique et l'absence totale des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur*), Sur le plan physicochimique, les résultats de la plupart des échantillons du lait et du fromage obtenus sont proches ou conformes aux normes, (un pH de 6,47 et une acidité de 17° avec 1,7% de matière grasse pour le lait et un pH de 4,66, une acidité de 23° avec 1.5% de matière grasse pour le fromage). Après conservation à 4°C pour les deux types de fromage avec sel et sans sel, les résultats montrent l'absence totale des (coliforme totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur* et levure et moisissure), mais il existe une certaine différence pour FMAT et les bactéries lactiques d'une charge de $1,04 \cdot 10^8$ UFC / g et $8,4 \cdot 10^7$ UFC / g pour le fromage avec sel par contre pour le fromage sans sel une charge indénombrable ce qui explique l'effet de sel.

L'utilisation d'une souche lactique conduit à l'amélioration de la qualité du fromage et son conservation.

Mots clés : Lait de chèvre, Fromage frais, Fermentation, *Leuconostoc*, Conservation, Additif.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of the type of fermentation on the quality and conservation of a fresh cheese. Two types of fermentation are used to produce a fresh cheese from goat's milk from the region of Mkhadema, Ouargla. The first by spontaneous fermentation and the other one fermented by an autochthonous strain *Leuconostoc* sp. Preservation is ensured by storage at 4°C either with or without the addition of salt. The microbiological quality is investigated by the enumeration of certain pathogenic and spoilage microorganisms. The physicochemical quality corresponds to the determination of pH and acidity as well as the determination of the fat content.

The results of the microbiological control show that goat's milk and fresh cheese are of acceptable quality (FMAT microbial loads of $1,3 \cdot 10^6$ and $2,58 \cdot 10^5$ UFC/ml for lactic acid bacteria) and the total absence of pathogenic germs (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducing*). On the physicochemical level, the results of most of the milk and cheese samples obtained are close to or conform to the standards, (a pH of 6.47 and an acidity of 17° with 1.7% fat for milk and a pH of 4.66, an acidity of 23° with 1.5% fat for cheese). After conservation at 4°C for both types of cheese with salt and without salt, the results show the total absence of (total and fecal coliform, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducing* and yeast and mould), but there is some difference for FMAT and lactic acid bacteria with a load of $1.04 \cdot 10^8$ UFC / g and $8.4 \cdot 10^7$ UFC / g for cheese with salt on the other hand for cheese without salt has an uncountable load which explains the salt effect.

The use of a lactic strain leads to an improvement in the quality of the cheese and its preservation.

Key words: Goat's milk, Fresh cheese, Fermentation, *Leuconostoc*, Preservation, Additive.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير نوع التخمير على جودة الجبن الطازج وحفظه. يتم استخدام نوعين من التخمير لإنتاج جبن طازج من حليب الماعز من منطقة مخادمة بورقلة. الأول عن طريق التخمير التلقائي والآخر يتخمّر بواسطة سلالة أصلية *Leuconostoc sp.* يتم ضمان الحفظ عن طريق التخزين عند 4 درجات مئوية مع أو بدون إضافة الملح. يتم التحقق من الجودة الميكروبيولوجية من خلال تعداد بعض الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض والتلف. تتوافق الجودة الفيزيائية والكيميائية مع تحديد درجة الحموضة والحموضة وكذلك تحديد محتوى الدهون.

أظهرت نتائج المكافحة الميكروبيولوجية أن لبن الماعز والجبن الطازج ذات جودة مقبولة (الأحمال الميكروبية من FMAT $1.3.10^6$ و $2.58.10^5$ UFC / ml لبكتيريا حمض اللاكتيك والغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض (*Staphylococcus aureus*)، من الناحية الفيزيائية ، نتائج معظم عينات الحليب والجبن التي تم الحصول عليها قريبة من المعايير أو تتوافق معها ، (درجة حموضة 6.47 وحموضة 17 درجة مع 1.7 % دسم للحليب ودرجة حموضة 4.66 ، حموضة 23 درجة مع 1.5% دهن للجبن) بعد التخزين عند 4 درجات مئوية لكلا النوعين من الجبن بالملح وبدون ملح ، أظهرت النتائج الغياب التام لـ (القولونيات الكلية والبرازية ، المكورات العنقودية الذهبية ، كلوستريديوم الكبريتو المختزل والخميرة والعفن) ، ولكن هناك بعض الاختلاف بين FMAT وبكتيريا حمض اللاكتيك بحمل $1.04.108$ UFC / g و $8.4.107$ CFU / g للجبن بالملح من ناحية أخرى للجبن بدون ملح حمولة غير معدودة مما يفسر تأثير الملح. يؤدي استخدام سلالة اللاكتيك إلى تحسين جودة الجبن وحفظه.

الكلمات المفتاحية: حليب الماعز، الجبن الطازج، التخمير، *Leuconostoc*، الحفظ، المادة المضافة