UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Présenté par : MENASSEL Chahinez

Thème:

Contrôle de qualité du fromage frais « j'ben » à partir du lait cru de vache

Soutenu publiquement Devant le jury :

Le: 09/07/2019

Mlle HAMOUDI Roukia M.C.A Présidente UKM OUARGLA

M' BOURICHA M'hamed M.A.A Encadreur UKM OUARGLA

Melle DAOUADJI-JELOUL Soumia M.A.A Examinatrice UKM OUARGLA

Année universitaire: 2018/2019

Résumé

Parmi les préparations de lait traditionnelles algériennes, le «J'ben» est fabriqué dans différentes régions du pays par différentes méthodes. L'objectif de notre travail est d'étudier la qualité microbiologique et physico-chimique du lait et du J'ben avec l'influence de substances naturelles (sel, ail, romarin). L'étude est basée sur cinq échantillons de «J'ben», Sont préparés à partir de lait de vache cru provenant de la région de Ouargla. Les résultats obtenus après les analyses physico-chimiques ont montré que le lait avait un PH de 6,8 et (18D°), et un PH de 4,2 et (24 D°) du fromage, avec un extrait sec compris entre (38 et 41%).) alors que les résultats des analyses microbiologiques ont montré que le lait et «J'ben» étaient corrompus par: (FMAT> 10⁶), (champignons> 10⁵), (CT et CF> 10³), (entérobactéries> 10⁵) et nous avons noté une diminution de la flore précédente: (champignons> 10⁴), (CT et CF> 10²), (entérobactéries> 10⁵), et contient également des germes de contamination fécale tels que les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, ainsi que l'absence totale de germes pathogènes germes (s. aureus, salmonelles, bactéries sporulés). La présence de germes d'altération peut être le résultat d'un manque de respect des règles d'hygiène au niveau des exploitations agricoles (mamelles sales et mal nettoyées, animaux mal nourris, trayeuses polluées, etc.), qui restituent les pollués lait, ou grâce aux conditions de laboratoire. Les substances chimiques répertoriées ont une influence sur la qualité microbiologique et les germes recherchés (le romarin a un effet antibactérien, un ail contre les bactéries Gram + et Gram-). Nous avons également noté que l'ail était la substance la plus efficace.

Mots clé : J'ben, Analyse physicochimiques, microbiologiques, sel, ail, romarin, antibactérien.

summary

Among Algerian traditional milk preparations the «J'ben» is fabricated in several regions of the country by different methods. The objective of our work it is to study the microbiological and physicochemical quality of the milk and of the J'ben with the influence of natural substances (salt, garlic, rosemary). Study is made on Five samples of «J'ben». Are prepared from crude milk of cow comes from the region from Ouargla. The results obtained after the physico-chemical analyses showed that the milk has a PH of 6.8 and (18D°), and a PH of 4.2 and (24 D°) of the cheese, with a dry extract between (38 up to 41%) while the results of the microbiological analyses showed that the milk and «J'ben» are corrupted by: (FMAT>10⁶), (fungi >10⁵), (CT and CF >10³), (enterobactéria>10⁵) and we noted a decrease in the previous flora: (fungi>10⁴), (CT and CF >10²), (enterobacteria >10⁵), And also contain germs of faecal pollution such as the faecal coliformes, and faecal streptococci, and the total absence of pathogenic germs (s. aureus, salmonella, sporen bacteria). The presence of the germs of pollution can be the result of lack of the respect for the rules of hygiene at the level of farms (dirty ill udders, bad cleaning, animals, milking machine polluted, etc...), who return the polluted milk, or thanks to the conditions of laboratory. Chemical substances figured up have an influence on microbiological quality and germs searched (rosemary has an antibacterial effect, a garlic against bacteria Gram+ and Gram-), We also noted that the garlic was the substance the most efficient.

Key words: J'ben, physicochimiques analysis, microbiological, salt, garlic, rosemary, antibacterial

ملخص

من بين التحضيرات التقليدية للحليب في الجزائر, يتم تصنيع الجبن في عدة مناطق من البلاد بطرق مختلفة، يهدف هذا العمل إلى دراسة الجودة الميكروبيولوجية والفيزيائية الكيميائية للحليب والجبن مع تأثير بعض المواد الطبيعية (الملح، الثوم وإكليل الجبل). تم إجراء الدراسة على خمس عينات من الجبن يتم تحضيرها من حليب البقر الخام الذي يأتي من منطقة ورقلة أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد التحليلات الفيزيائية الكيميائية أن الحليب يحتوي على درجة حموضة قدرها 8.6 و (18 ° $^{\circ}$) وأن الجبن يحتوي على درجة حموضة قدرها 9.4 و ($^{\circ}$) مع استخراج جاف بين (38 حتى 41%)، بينما أظهرت التحليلات الميكروبيولوجية أن الحليب والجبن يتعفنان جراء ($^{\circ}$) البكتيريا المعوية والموارة) المناورة الميكروبيولوجية والجراثيم الملوثة قد يكون ناتج عن عدم احترام قواعد النظافة على مستوى المزارع (ضرع قذر ، التنظيف السيء، الحوانات، آلة الحلب الملوثة ...إلخ)، الذين يلوثون الحليب أو بسبب ظروف المختبر إن المواد الكيميائية لها تأثير مضاد للجراثيم والثوم له تأثير مضاد للجراثيم والثوم له تأثير مضاد للجراثيم والثوم له تأثير مضاد للكتيريا + $^{\circ}$ و $^{\circ}$) كما لاحظنا أيضا أن الثوم كان المادة الطبيعية الأكثر فعالية مقارنة مع المواد .

الكلمات المفتاحية :الجبن، التحليل الفيزيائي الكيميائي، الميكروبيولوجيا، الملح، الثوم, إكليل الجبل، مضاد للجراثيم.

Dédicace

Je <mark>dédie</mark> ce modeste travail à mes très chers à mon cœur :

A ma mère, leur amour, sacrifice, patiences, soutien moral et matériel depuis mon enfance

A mon cher père et frère, leur amour, sacrifice, il reste toujours dans mon cœur...

A mes 2 chères sœurs dans ma vie...khadidja et douaa

A la mémoire de ma chère tante « Nadia », et Ses enfants (Skander et sofia)

, encore une fois... Je n'oublierai pas de rester à mes côtés à chaque étape de ma note de fin d'études. Merci pour la taille du ciel sur votre stand, ceci mon frère Omar el Farouk, tout mon respect pour vous.

A qui m'a soutenu pendant mes études, m'encouragé et qui est près A toute mes chères cousines surtout :soulef, myria, imen, sourour bouthaina.

Et mes plus adorables amies pendant mon cursus universitaires
Aicha, Hanaa, Sara Hadjar , Rachda, Souhila, Rim, Karima, Asma ,
Sara Harbouche, Ghania, Karima la doctorante
Salma, Aziza, Rima, Romaissa, hafssa , Radia et Imen... Atoute ma
famille: Menassel et Amamra

A tous ce qui ont participé dans le succès de ce travail...

<u>chahinez</u>

Remerciement

Je dois remercier tout d'abord « ALLAH » le tout puissant, qui m'a donné la puissance, la volonté et la patience pour élaborer ce travail.

Mes remerciements les plus sincères à mon encadreur de mémoire Mr.m'hamed Bouricha pour sa disponibilité, ces contributions, ces orientations précieuses et sa compréhension tout le long de l'élaboration de ce mémoire. Je tiens également à remercier Dr. Hamoudi roukia et Mlle Daouadji djelloul soumia pour avoir accepté d'évaluer mon travail et de faire partie du jury de ma soutenance.

Je tiens aussi à remercier tous mes enseignants de graduation au département biologie de l'université de Kasdi Merbah -Ouargla- Un grand remerciement pour les gens de la bibliothèque de biologie kheira koutti, khaled sehli, sabah, fatima, ouahiba, asma, farid, souad, laila, yassine, Et la technicienne du

laboratoire fatima ben haoued vraiment

Et tous mes collègues du master et de licence. Aussi je remercie mes frères et mes sœurs du club

Et pour le person qui m'encourager qui mérite le grand remerciement Badri et sa famille

Merci beaucoup...

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale.

ISO: International Standard Organisation.

JORA: Journal Officiel République Algérienne.

NF: Norme Française.

NPP: Nombre le Plus Probable.

PCA: Plant Count Agar.

UFC: Unité Formant Colonie.

VF: Viande Foie.

EST: Extrait sec total.

Aw: Activity of water.

MRS: de Man Rogosa et Sharpe.

PH: Potentiel hydrogène.

S.: *Staphylococcus*.

CT: coliformes totaux

CF : coliformes fécaux

Liste des figures

Figure 1 : Echantillons du j'ben (ajout des additifs)	14
Figure 2: Variation de PH pour le lait de vache et de différents échantillons du fromage Analysés.	24
Figure 3 : Histogramme d'acidité Dornic (D°)	27
Figure 4 : Résultats d'extrait sec total et d'humidité	28
Figure 5 : Flore mésophile totale sur milieu PCA à 30°C	30
Figure 6 : Bactérie lactique sur milieu MRS	31
Figure 7: Résultat des coliformes sur milieu BCPL	32
Figure 8 : Streptocoques Sur milieu Roth et Litsky	34
Figure 9 : levures et moisissures sur milieu sabouraud	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : caractéristiques physico-chimiques d'un lait cru (Mathieu, 1998)	5
Tableau 02: Composition moyenne pour 100 g de fromage frais (Eck et Gillis, 2006)	7
Tableau 03: Estimation de la charge bactérienne par l'épreuve au bleu du méthylène	
(Hamama, 2002)	16
Tableau 04 : Résultat final du contrôle microbiologique.	29

Table Des Matières

Dédicace	
Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Sommaire	
Introduction	1
Chapitre I: synthèse bibliographiques	
I. Généralité sur le lait	4
I.1. Définition du lait	4
I.2.Composition du lait	4
I.3. Caractéristiques physico-chimiques	4
I.4. Caractéristiques microbiologique du lait cru	5
I.4.1. Flore originale	5
I.4.2. Flore de contamination	5
I.4.3. Flore d'altération	6
I.4.4. Flore pathogène	6
II. Généralité sur le fromage	7
II.1. Définition de fromage	7
II.3. Composition du fromage	7
II.4. Grandes familles des fromages	8
II.1.3.1. Fromages à pâte fraiche	8
II.1.3.2. Fromages à pâte Ferme	8
II.1.3.3. Fromages à pâte Molle	8
II.1.3.4. Fromages à pâte Persillée	8
II.1.3.5. Fromages fondus	9
II.4. Flore microbien du fromage	9
II.4.1. Flore originelle	9
II.4.1. Flore apportée	11
II.4.2. Flore de contamination	11

II.1. Principe d'étude	13
II.1.1. Prélèvement	13
II.1.2. Échantillonnage	13
II.2. Contrôle de qualité du lait et de j'ben	14
II.2.1. Analyses physico-chimiques du lait	14
II.2.1.1. Détermination de PH (lait)	14
II.2.1.2. Détermination de l'acidité	14
II.2.1.3. Détermination de la matière sèche	15
II.2.1.4. Détermination du taux d'humidité	15
II. 3.Méthodes d'analyses microbiologiques	15
II. 3.1.Analyses microbiologiques du lait	15
II.3.1.1. Test de réductase	15
II.3.1.2. Préparation des dilutions décimales	16
II.3.1.3. Recherche de la flore contaminant	16
II.4. Méthodes d'analyse du fromage	18
II.4 .1.Analyses physico- chimique du fromage	19
II.4.1.1. Détermination de PH et d'acidité du (j'ben)	19
II.4.1.2. Détermination de l'extrait sec	19
II.4.2.Analyses microbiologiques	20
II.4.2.2.Préparation des dilutions	20
Chapitre III: Résultats et discussion	
III.1. Résultats et discussion	24
III.1.1. Analyses physico-chimiques	24
III.1.1.1 Mesure de PH	24
III.1.1.2. Mesure d'acidité	26
III.1.1.3. Extrait sec	27
III.2. Analyses microbiologiques	28
III.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries mésophiles	30
III.2.1.1. flore mésophile totale	30
III.2.1.2. Dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS	
III.2.1.3. Coliformes	31
III 2.1.4 streptocogues	33

III.2.1.5. Levures et moisissures	34
III.2.1.6. Entérobacteries	35
III .2.1.7.Staphylocoques	35
III.2.1.8.Salmonelles	35
III.3. Discussion générale	37
Conclusion	42
Références bibliographiques	45
Annexes	53

Introduction

Introduction

La consommation des produits laitiers relève d'une longue histoire traditionnellement liée à l'activité d'élevage, dans notre pays qui a un aspect important de la culture algérienne d'une génération à une autre à travers des siècles. dont le but est la bio-préservation du lait (Benkerroum et al.,2004).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an (**Kirat, 2007**), il existe une variété de produits laitiers artisanaux (du terroir), fabriqué par des anciens processus d'une région à l'autre, diffèrent par leur goût et leur consistance, selon la source du lait (vache, chèvre, brebis et chamelle).

Le lait est la matière première de nombreux produits alimentaires qui a une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme. C'est un aliment de choix, il est utilisé sous de nombreuses formes (Guiraud, 2003).

Le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son PH voisin de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (**Huyghebaert., 2006**).

Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants: *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostocs et Lactobacillus* (**Bekhouche**, **2006**).

Seule la production laitière de quelque espèce de mammifères présent un intérêt Immédiat en nutrition humaine, même si le lait d'autre espèce animales possède des qualités nutritives supérieures. La vache assure de loin la plus grande part de la production mondial (90%) même en pays tropicaux (70%). Ce lait est de loin le plus connu et les données qui le caractérisent sont sans doute les plus exactes (FAO, 1998; Peacock, 2005).

La conservation des principaux constituants du lait est l'intérêt majeur de sa transformation en fromage. Aujourd'hui, il s'agit plutôt d'un aliment, possédant des qualités nutritionnelles indéniables (Cholet, 2006). Différents fromages traditionnels existent depuis l'antiquité, ils sont fabriqués à partir de lait cru de vache, de chèvre ou de brebis, caractérisés par un savoir-faire ancestral transmis d'une génération à l'autre jusqu'à nos jours (Marino et al., 2012).

Le fromage constitue un élément important dans l'alimentation humaine. Ses taux élevés en lactose, lipides et en protéines en font de lui un aliment nourrissant, riche en énergie (Walther et al., 2008).

Les fromages traditionnels sont peu nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés pays (Aissaoui Zitoun et al., 2011).

L'objectif du présent travail est d'étudié tests physico-chimiques ,qualité hygiénique et microbiologique du fromage a partir du lait cru de vache, et l'influence des substances naturelles sur la qualité microbiologique du fromage frais Pour atteindre cet objectif nous avons procédé comme suit:

Notre manuscrit est structuré en 3 parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour d'un chapitre divisé en deux parties (Lait et fromage frais).

La seconde partie de notre manuscrit présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, un ensemble des analyses physicochimiques et microbiologiques sur le lait et le fromage, et aussi l'essai de fabrication de fromages frais.

Les résultats obtenus et leurs discussions au cours de cette étude sont ensuite exposés dans la troisième partie, ainsi que d'une conclusion générale énumérant les principaux résultats obtenus et les perspectives projetées dans l'avenir.

Chapitre I Synthèse bibliographiques

I. Généralité sur le lait

I.1. Définition du lait

Le Codex Alimentarius de 1999, définit le lait comme étant la sécrétion mammaire de femelles mammifères obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou après un traitement.

« Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Alais, 1975), c'est la définition du lait au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève en 1908.

lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction Il est destinée à la consommation ou à un traitement ultérieur et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (FAO, 1998). Le lait est un aliment de couleur généralement blanchâtre produit par les mammifères femelles (kechaoui, 2013).

I.2. Composition du lait

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en béta carotène (**Bourgeois et al.,1996**). Définit comme étant un système complexe constitué d'une solution colloïdale.

Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : la race animale, alimentation, état de santé de l'animal, période de lactation et la saison (Mahaut, 2000 ; Roudaut et Lefranc, 2005), Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefranc, 2005).

I.3. Caractéristiques physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : caractéristiques physico-chimiques d'un lait cru (Mathieu, 1998).

Caractéristiques	Valeurs
Densité	1,028-1,034
Point de congélation	-0,5- 0,55
-Acidité titrable en degré Dornic (°D)	1 5 – 18
Point d'ébullition	100,5 °C
PH (20°C)	6,5-6,7

I.4. Caractéristiques microbiologique du lait cru

I.5.1.Flore originale:

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml), les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**).

Il s'agit de microcoques, mais aussi *streptocoques lactiques et lactobacilles*. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (**Guiraud, 1998**) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Sutherland et Varnam, 2001**).

I.5.2.Flore de contamination

C'est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse (Vignola, 2002).

Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves) (FAO, 1995).

I.5.3. Flore d'altération

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacter, Pseudomonas et Flavobacterium* qui se développent à une température entre 3 à 7°C (**Leveau et Bouix, 1993**). et *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier aussi à des températures basses (**Rosset, 2001**).

I.5.4. Flore pathogène:

Des microorganismes 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'infections du pis : comme

Streptococcus pyogenes, Corynebactériumpyogenes, Staphylocoques, etc... Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale comme : Brucella, Listeria monocytogenes, Salmonella sp, Escherichia coli, Clostridiumperfringens, Campylobactersp, Mycobacteriumbovis et M.tuberculosis, Bacillusanthraci, Coxiellaburnetii, ou de germes de contamination du lait (Prescott et al., 2003).

II. Généralité sur le fromage

II.1. Définition de fromage

Le fromage est le produit affiné ou non, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dont le ratio protéines sériques/caséines n'est pas supérieur à celui du lait, selon la norme (Codex STAN 283 -1978). On l'obtient par coagulation complète ou partielle des matières premières suivantes : lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème, crème de lactosérum ou babeurre grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; ou alors par emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques correspondant à la définition précédente (Eck, 1997).

II.2. Composition du fromage

Le fromage est très riche de part sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (Walther et al., 2008).

La composition du fromage frais dépend de la composition du lait d'origine et de la technologie mise en œuvre (**Mahaut et al., 2000**). La composition et la valeur calorique moyennes des fromages frais sont présentées dans le tableau n°4

Tableau 2: Composition moyenne pour 100 g de fromage frais (Eck et Gillis, 2006).

Constituants	38	Teneur
Eau	(g)	79,00
Energie	(kcal)	118,0
Glucides	(g)	4,00
Lipides	(g)	7,50
Protéines	(g)	8,50
Calcium	(mg)	100,0
Phosphore	(mg)	140,0
Magnésium	(mg)	10,00
Potassium	(mg)	130,0
Sodium	(mg)	40,00
Zinc	(mg)	0,50
Vitamine A	(UI)	170,0

UI: Unité Internationale

II.3. Grandes familles des fromages

Les différents types de fromages présentent des caractères spécifiques liés à la fois au mode de coagulation et d'égouttage et à la flore microbienne, qui libère des enzymes responsables de la saveur, de la texture et de l'aspect de la pâte.

II.3.1. Fromages à pâte fraiche

Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidification), les micro-organismes utilisés: Lactococcus lactis, Lactococcus lactis cremoris, Lactococcus lactis diacetylactis (Chamba J. F., 2008).

II.3.2. Fromages à pâte Ferme

Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue :

- Les fromages à pâte ferme non cuite (Edam, Saint Paulin, etc.)
- Les fromages à pâte ferme cuite (Gruyère, Conti, etc.). Les micro-organismes utilisé: Lactococcus lactis cremoris, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus casei, levures, moisissures diverses (Parente et Cogan, 2004; Yìldìz, 2010).

II.3.3. Fromages à pâte Molle

Fromages ayant subi un affinage relativement prolongé (protéolyse et lipolyse intenses par la flore de surface) après une fermentation lactique (ex. Camembert). Les microorganismes utilisés: *Lactococcus lactis, Lactococcus lactis cremoris, Streptococcus thermophilus, Brevibacterium linens, Geotrichum candidum, Penicillium camemberti, levures* (Branger, 2012; Yildiz, 2010).

II.3.4. Fromages à pâte Persillée

Fromages affinés, à moisissures interne (ex. Roquefort). Il y'a développement internede *Penicillium roqueforti* grâce à l'action de *leuconostoc* et des levures qui produisent

une ouverture et une petite quantité d'éthanol. Les micro-organismes utilisés: *Lactococcus* lactis, *Lactococcus* lactis cremoris, *Streptococcus* thermophilus, *Leuconostoc*, *Penicillium* roqueforti, levures (Settanni et Moschetti, 2010).

II.3.5. Fromages fondus

Constitués d'un mélange de fromage, de beurre, de crème et de lait, pasteurisé (95°C) ou stérilisé (125°C). Appelés aussi fromages remaniés, ils sont de nombreux types dont certains sont obtenus après récupération des fragments de fromages à pâte ferme tel que le Gruyère et qui présentent certains défauts.

En réalité, il s'agit plus d'une dissolution suivie d'une dispersion de protéines dans l'eau que d'une fonte qui, correspond au sens physico-chimique du terme, à la désintégration d'une structure solide cristalline par l'apport d'énergie thermique ou l'exercice d'une pression, il n'ya pas d'ajout de ferments Lactiques (**Boutonnier**, **2012**).

II.4. Flore microbien du fromage

II.4.1. Flore originelle

> Streptocoques lactiques

Bactéries homo- fermentaires strictes et se rencontrant chez l'Homme et les animaux. La plupart sont saprophytes toutefois certaines d'entre elles possèdent des caractères pathogènes . Ils regroupe une bactérie d'intérêt industriel et nutritionnel utilisée dans la fabrication du fromage (Luquet, 1986; Jamet, 2009).

> Lactocoques

Ont un métabolisme homo-fermentaire facultatif et certains caractères biochimiques distinguent ces sous espèces et bivariants, telle que la production de diacétyle à partir du citrate, la désamination de l'arginine, la capacité à croitre en présence de 4% de sel, à PH 9,2 et à une température de 40°C (Badis et al., 2004 ;Badis et al., 2005; Jamet, 2009).

Lactobacilles

Contiennent de nombreuses espèces qui interviennent dans de nombreuses industries laitières. Ils ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en glucides et en minéraux (Badis et al.,2005); (Luquet, 1986; Jamet, 2009).

> Pédiocoques

Sont des homo-fermentaires, sous forme sphérique ne formant pas de chainettes mais jamais isolés, avec une croissance à une température optimale de 25-40°C selon les espèces et ne possède pas la capacité de métaboliser le lactose, toutefois un grand nombre de ces bactéries est retrouvé dans le fromage affiné, spécialement *Pd. acidilactici* et *Pd. pentacaseus*, avec une aptitude à acidifier le lait et des activités protéolytiques (protéasiques et peptidasiques) importantes (supérieures aux NSLAB) (Jamet, 2009).

Entérocoques

Sont des bactéries lactiques présentes dans l'intestin humain et des animaux et dans la flore naturelle du lait cru et du fromage (> 10⁶ UFC/g) avec un métabolisme homofermentaire stricte. Elles se différencient des autres coques par leur capacité à croitre à de faibles températures (10°C) et à résister aux sels (6,5% NaCl; 40% sels biliaires), et aux facteurs de l'environnement spécialement le traitement thermique (30 min à 60°C). Ce sont des opportunistes, avec la capacité de produire des bactériocines et de présenter une activité antagoniste vis-à-vis de certains agents pathogènes et parfois utilisés comme indice de contamination fécale. (Pillet et al., 2005; Jamet, 2009).

> Leuconostocs

Sont généralement rencontrés dans le lait cru et les fromages fermiers et sont même utilisés dans la fabrication de fromage (Roquefort) en raison de leur production de composés aromatiques (diacétyle, acétoine...) et de CO(2 hétéro-fermentaires) qui participe à l'ouverture du fromage permettant le bon développement de *P. roquefortis*. Certaines espèces possèdent également la particularité de métaboliser l'acide citrique du lait en diacétyle avec l'association d'autres bactéries lactiques permettant ainsi l'obtention de l'arôme de beurre dans les fromages frais (Jamet, 2009).

II.4.2. Flore apportée

Les ferments lactiques utilisés sont des souches commercialisées telles que les bactéries mésophiles lactiques employées dans les fabrications au lait de vache, se sont des flores d'acidification (*Lactococcus lactis et Lc. cremoris*) et d'aromatisation (*Lactococcus ssp. lactis biovar diacetylactis*), mais aussi des bactéries thermophiles (*Streptococcus thermophilus*) utilisées dans les fromages à prise rapide (camembert) pour leur pouvoir protéolytique, permettant d'avoir un gout plus développé (**Jaouen et Mouillot, 1985**).

II.4.3. Flore de contamination

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 sont: L'activité de l'eau (Aw) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95 ainsi le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne, le troisième c'est le PH qui se varie 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 (Eck et Gillis, 2006).

II.1. Objectif d'étude

Afin de contrôler la qualité du fromage frais (j'ben) à partir de lait cru de vache préparé à l'artisanal et l'influence de quelques substances naturels sur la qualité microbiologique de produit analysé, un ensemble d'analyses physicochimiques et microbiologiques a été mettre en pratique au niveau de laboratoire microbiologie appliqué et biochimie de Faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Kasdi Merbah Ouargla). Cette étude a été menée durant la période de 29 Avril à 10 mai 2019, au niveau d'une ferme situe dans la région de Ouargla.

II.1.1. Prélèvement

Les prélèvements se fait dans la ferme du Mr :Saleh de route Hassi Messaoud de la matière première (lait de vache) est effectuée dans des conditions d'asepsie normale afin d'éviter toute contamination et l'échantillon du lait de vache transporté rapidement au laboratoire après 1heures de la traite (5h du matin) à 4°C.

II.1.2. Échantillonnage

Cinq échantillons d'un produit laitier traditionnel « j'ben » sont prépare à partir du lait cru de vache après l'étape de l'égouttage de lait, l'échantillon du « j'ben » à été conservée dans une température ambiante jusqu'au début des manipulations.

Echantillon1 : j'ben de lait de vache naturel sans substances naturels

L'ajout des substances naturels (sel, l'ail, romarin) après une semaine

Echantillon 2: j'ben de lait de vache additionne au sel.

Echantillon 3: j'ben de lait de vache additionne a l'ail.

Echantillon 4 : j'ben de lait de vache additionne au romarin.

Echantillon 5 : j'ben de lait de vache naturel sans substances naturels après une semaine.

> Essai de fabrication du fromage

Le fromage est le resultat d'un produit de trois étapes de fabrication :

La coagulation du lait de vache, va sert 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).

Ensuite, on divise le fromage en cinq échantillons pour différentes analyses. à l'aide d'un spatule stérile on apprendre l'échantillon 1 du (j'ben), puis l'ajoute des substances naturels (sel, ail, romarin) aux échantillons et on conserves dans un réfrigérateur de 4°C pour le deuxième analyse après sept jours.



Figure 1 : Echantillons du j'ben (ajout des substances naturels)

II.2. Contrôle de qualité du lait :

Pour la vérification de la qualité du lait cru de vache utilisé et du produit fini (j'ben), plusieurs tests physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisés.

II.2.1. Analyses physico-chimiques:

II.2.1.1. Détermination de PH:

A l'aide d'un PH-mètre, Le PH de l'échantillon est obtenu par lecture directe du chiffre affiché sur l'appareil après sa stabilisation (**Vignola**, **2002**).

II.2.1.2. Détermination de l'acidité

Elle est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude ((NaOH) 1/9N) en présence de phénophtaléine à 1 % comme indicateur coloré virant au changement de couleur rose pale (**Haggad et al, 2009**). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 ° D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (**Mathieu, 1998**).

L'acidité est donnée par la formule suivante :

V : volume en ml de solution d'hydroxyde de sodium (soude Dornic).

II.2.1.3. Détermination de la matière sèche:

La méthode consisté à mettre 5 ml du lait de vache dans une capsule d'étuvage qui est placée dans une étuve à une température comprise entre 103°C et 105 °C pendant 3 heures.

Les capsules sont ensuite transférées dans un dessiccateur pendant quelques minutes le temps qu'elles refroidissent et atteignent la température ambiante, puis elles sont pesées. Le résultat est calculé selon la formule:

P1:le poids de la capsule vide

P2:le poids de la capsule + poids du fromage avant étuvage

P3:le poids de la capsule plus celui du fromage après étuvage et dessiccation.

II.2.1.4. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est ensuite calculé selon la formule suivante (Quseam et al, 2009).

II. 3. Méthodes d'analyses microbiologiques :

II. 3.1. Analyses microbiologiques:

II.3.1.1. Test de réductase:

Ce test donne une idée de la quantité de germes présents dans le lait, d'identifier de différent niveau de contamination du lait (**Hamama**, 2002). Son principe est basé sur la décoloration du bleu de méthylène à 0,3%.

La rapidité de cette décoloration est directement proportionnelle au nombre de germes présents (**Larpent, 1997 ; Guiraud, 1998**). Le résultat à estimer par la décoloration de bleu de méthylène dans le lait à partir de 3heures.

Tableau 03: Estimation de la charge bactérienne par l'épreuve au bleu du méthylène (Hamama, 2002).

	Nombre de bactéries /ml	Qualité du lait
t>3h	100 000 à 200 000	bonne
1h 30 <t<3h< th=""><th>200 000 à 2millions</th><th>Bonne à passable</th></t<3h<>	200 000 à 2millions	Bonne à passable
T>1h30	2 à 10 millions	insuffisante

II.3.1.2. Préparation des dilutions décimales

On réalisé des dilutions décimales jusqu'à la dilution $10^{-6, a}$ partir de 1ml du lait dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique (6 fois).

II.3.1.3. Recherche de la flore contaminant

II.3.1.3.1. Recherche de Staphylococcus aureus sur milieu Chapman

Une quantité de 0,1 ml de chaque dilution (10-1,10-2) a été inoculée à la surface de deux boîtes de gélose Chapman et étalée. Les boîtes ont été incubées à 37° C pendant 48 h. le résultat positif se manifeste par la présence des colonies dorés ou bien blanche avec un changement de couleur du milieu. Deux boites pétries à chaque dilution.

II.3.1.3.2. Recherche des coliformes fécaux et totaux sur milieu BCPL

Le bouillon de culture utilisé était le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL). Deux dilutions successives ont été inoculées dans deux séries de deux tubes contenant le BCPL et une cloche de durham à des dilutions de (10-1_10-6) .Les tubes ont été placés dans un incubateur à 37° C pour les coliformes totaux et à 44° C pendant 48 h pour les coliformes fécaux.

La présence de coliformes totaux dans les tubes positifs se traduit par la présence d'un trouble, changement de couleur du milieu au jaune et la présence du gaz dans la cloche.

Recherche des bactéries sporulées sur milieu VF

Les clostridiums sulfitoréducteurs sont dénombrés sur le milieu de culture VF Agar en tubes de deux dilutions (10-1 ,10-2) pour favoriser les conditions d'anaérobiose, avec un traitement thermique 10 min à 80°C afin d'activer les spores des clostridies. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 48 h. (Rhiatm et al. 2011).

II.3.1.3.3. Recherche des champignons sur milieu sabouraud

La gélose sabouraud est utilisée pour le dénombrement des levures et moisissures ; 0,1 ml de deux dilutions (10-2, 10-3) est inoculé en surface et sont incubées à 28C° pendant 24 heures.

II.3.1.3.4. Recherche de la flore mésophile aérobie totale

La recherche de la flore mésophile aérobie totale est effectuée sur gélose PCA, une prise d'essai de 100µl des dilutions décimales (de 10⁻⁴ à 10⁻⁶) à été ensemencé par étalement (**Lebres et** *al.* **2002**).

Le dénombrement des germes totaux à 30°C reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel (Bonnyfoy et al, 2002).

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

$$\mathbf{N}(\mathbf{CFU/ml}) = \frac{\sum \mathbf{c}}{(n1 + 0.1n2)\mathbf{d}}$$

 $\sum c$ = Nombre totale des colonies comptées dans les boites dont le nombre de colonies est compris entre 20 et 300.

V_{mL}: Volume de solution déposée.

n1 : nombre de boites de Pétri comptées de la 1ère dilution

n 2 : nombre de boites de Pétri comptées dans la seconde dilution.

d : facteur de dilution à partir duquel les 1er comptages ont été fait.

II.3.1.3.5. Recherche des Entérobactéries Sur milieu Mac Conkey :

Pour le dénombrement des entérobactéries 1 ml des dilutions décimales de (103_104) sont inoculé en profondeur sur milieu Mac Conkey solide .Incubation 24 à 37 °C.

II.3.1.3.6. Recherches et le dénombrement des Streptocoques fécaux sur milieu Roth :

Les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés en milieu liquide ; la technique fait appel à deux tests à savoir :

> Le test de présomption :

Réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe à des dilutions décimales de (10-1,10-3) Après 24h d'incubation à 28°C.

Le test de confirmation :

Les tubes trouvés positifs sur milieu Rothe (présence d'un trouble) sont repiqué sur milieu Eva Litsky, Après 24h d'incubation à 28°C, la présence d'un trouble dans les tubes nous confirme la présence des Streptocoques fécaux (**Lebres et al. 2002**).

II.3.1.3.7. Recherches et le dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS:

La gélose MRS est utilisée pour le dénombrement et l'isolement des bactéries lactiques 1ml de la dilution est inoculé en profondeur puis les boites sont incubées à 30°C.

II.3.1.3.8. Recherche de Salmonelle

Un pré-enrichissement par ensemencement de 1ml du lait dans 9ml du milieu eau peptone alcaline a été réalisé. Après incubation à 37°C pendant 24h, la présence probable de salmonelle se traduit par un trouble d u milieu.

III.1. Analyses physico- chimique

III.1.1. Détermination de PH et d'acidité

Un PH-mètre numérique été utilisé où l'électrode est insérée directement dans un échantillon d'1g de J'ben homogénéisé avec 9 ml d'eau distillée, La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil (Owusu-Kwarteng et al. 2012).

De l'acidité 100ml du produit était prélevé, 10g du j'ben ajouter de 90ml d'eau physiologie stérile à 5 gouttes de phénolphtaléine puis titrer avec du NaOH N/9 jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle persistante (**Amariglio, 1986**).

III.1.2. Détermination de l'extrait sec :

Pour déterminer la teneur en matière sèche des fromages, les laboratoires ont recours à la méthode de séchage dans une creusé à l'étuve à 103°C avec pesée du 5g de fromage avant et après dessiccation. Cette méthode qui sert de référence a un temps de réponse de plusieurs heures. Les résultats sont exprimés en gramme d'extrait sec pour 100 g de fromage (% extrait sec).

19

III.2. Analyses microbiologiques

L'étude du contrôle microbiologique des échantillons du fromage est réalisée par les mêmes techniques déjà décrite en analyses du lait.

III.2.2. Préparation des dilutions

III.2.2.1. Préparation de la solution mère

Homogénéisation de 5g de j'ben avec 45 ml d'eau physiologique à l'aide d'un vortex, Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond à la dilution 10^{-1} .

III.2.2.2. Préparation des dilutions décimales

01ml de dilution (10⁻¹) est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile et Introduit dans un tube à essai contenant 09 ml d'eau physiologique. On obtient ainsi la dilution 10⁻² et ainsi jusqu'à la dilution 10⁻⁶ (Arrêté 11 septembre 2004, JORA n° 70 du 7 novembre 2004; Guiraud., 2003).

III.2.2.3. Dénombrement des bactéries mésophiles

> Germes totaux :

Sont dénombrés sur milieu PCA .1ml de la dilution est inoculé en surface, Les boites sont incubée à 30°C pendant 48h. Tous les ensemencements se font en double de (10⁻⁴ jusqu'à10⁻⁶).

Levures et moisissures :

Sont dénombrés sur le milieu Sabouraud et incubé à 28°C. A partir des dilutions décimales, 10-2 à 10-3, 0 ,1ml sont portées aseptiquement dans une boite de Pétri les gouttes sont étalées à l'aide d'un râteau stérile, puis incubées. Dans le souci de ne pas se trouver en face de boites envahies soit par les levures soit par les moisissures.

> Entérobactéries :

Pour le dénombrement des entérobactéries 0,1 ml de la dilution est inoculé en surface sur milieu Mac Conkey solide .Incubation 24 h à 37 °C.

Coliformes:

La recherche des coliformes dans nos échantillons est réalisée en milieu liquide qui est le (BCPL) en appliquant la technique du Nombre le Plus Probable (NPP). 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, et incubation37C° à 48h pour les coliformes totaux et 44C°pour les coliformes fécaux à 48h, la lecture des résultats se fait en utilisant la table de Mac Credy .

> Streptocoques fécaux :

Les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés en milieu liquide. La technique fait appel à deux tests à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe ;
- Le test de confirmation Les tubes trouvés positifs sur milieu Rothe (présence d'un trouble sont repiqué sur milieu Eva Litsky), Après 24h d'incubation à 37°C, la présence d'un trouble dans les tubes nous confirme la présence des Streptocoques fécaux

> Staphylocoque:

Staphylococcus aureus est recherché sur milieu Chapman ensemencé à la surface avec 0.1 ml de la dilution, puis incubé à 37 °C pendant 24 h à48h.

Clostridium:

Les spores de Clostridies sont recherchés sur gélose viande foie (VF) additionnée d'alun de fer, après avoir tué la forme végétative ,1ml de la dilution 10^{-1} et 10^{-2} sont mis dans des tubes stériles et subissent un traitement thermique à 80° C pendant 10 min. Les tubes sont ensuite refroidit à température ambiante puis 9ml de gélose VF sont rajoutées, mélangé puis incubés pendant 24h ou 48h à 37° C, Les grosses colonies noir produisant des sulfures à partir du sulfite sont des clostridies.

> Dénombrement des bactéries lactiques :

La gélose MRS est utilisée pour le dénombrement et l'isolement des lactobacilles, 1 ml de la dilution est inoculé en profondeur puis les boites sont incubées à 30°C pendant 24h.

Chapitre III Résultats et discussion

III.1. Résultats et discussion

III.1.1Analyses physico-chimiques

III.1.2.1.Mesure de PH

Les résultats de la Variation de PH pour le lait de vache et les différents échantillons du fromage analysés sont représentés dans la figure (n^2):

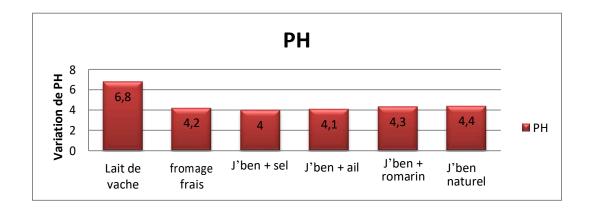


Figure 2: Variation de PH pour le lait de vache et de différents échantillons du fromage Analysés.

La valeur obtenue du PH est 6,8 pour le lait de vache collecté au niveau d'Ouargla, Ce qui correspond à un lait frais. On pouvant constater que les résultats de PH obtenus sont conformes aux normes.

D'après (**Alais** ,1984), les microorganismes peuvent prolifère dans cette intervalle de 6 ,6 à 6,8 d'un PH normale.

Selon (**Doyle et al. 2001**) le PH du lait est l'égerment acide (compris entre 6 ,4 et 6 ,8 pour le lait de vache).

Le PH inférieur à la normale peut être expliqué par le fait qu'il y aurait un début de fermentation du lait, puisque les analyses ont été faites au moins 3 à 4 h après la traite.

Le PH des cinq échantillons est compris entre 4,1et 4,4 .Ces valeurs sont proches de celles de **Belyagoubi et Abdelouahid** (2013) pour des j'ben fabriqué dans la région de Mecheria, alors qu'elles sont supérieure à des PH trouvés par **Rhiat**, et al (2011) pour le « j'ben » marocain. Les valeurs de PH diffèrent d'un produit à l'autre, même si parfois, ils sont de la même région, ceci pour plusieurs causes comme : la méthode et la période de préparation du j'ben, le type de lait utilisé, ou alors le type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri.**, 2009). Le temps d'égouttage est très court ce qui ne permet pas aux micro-organismes endogènes de se développer considérablement (voir annex06).

III.1.1.2. Mesure d'acidité

L'acidité indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Elle est exprimée en degré Dornic. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18 (°D). Il s'acidifie spontanément et progressivement conservé à la température ambiante (**Mathieu**, 1998).

Le résultat du après le changement de couleur à rose pâle est égale

$$V = 1$$
, 8 ml et (°D) = 18

D'après **Vingola**, (2002) l'acidité du lait doit être comprise entre 14 et 18°D; un lait frais a une acidité de 18°D, et selon **Doyle et al**, (2001) l'acidité est augmenté avec le temps, en effet sous l'action des microorganismes du lait, le lactose va être dégradé en acide lactique, ce qui permettra d'avoir un indicateur du degré de conservation du lait.

Alors on conclut que notre résultat conforment aux normes, et notre lait est frais.

La mesure de l'acidité de j'ben a donné des valeurs variables et comprise entre 24° et 33D°, l'échantillon E1 a une acidité plus élevée que les autres échantillons.

(voir annex07).

Il nous semble que cette différence n'est pas très importante du point de vue propriétés Organoleptiques. En même temps, elle peut être expliquée par l'acidité produite lors de la Fermentation qui est conduite par les bactéries lactiques (Gelais et al., 2002).

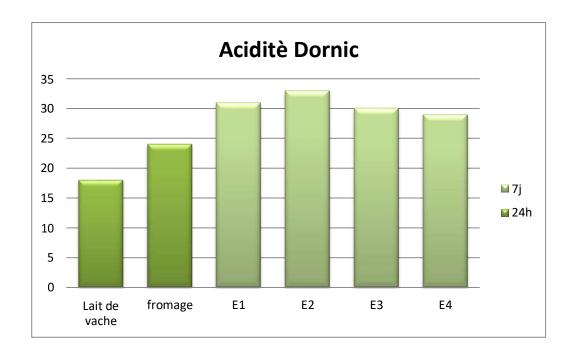


Figure 3 : Résultat d'acidité Dornic (D°).

III.1.1.3. Extrait sec

- ➤ La teneur en extrait sec total (E.S.T.) dans l'échantillon du lait est (38%) C'est-à-dire une humidité de (62%).
- ➤ La teneur en extrait sec total (E.S.T.) des échantillons de « j'ben» varient entre 32% et 51% C'est-à-dire une humidité de (49%).

Les valeurs en EST de j'ben analysé des E1.E2.E3.E4 sont inférieurs, avec l'échantillon du fromage frais analysé aux 24h est inférieur (51%) a la valeur rapporté par celle du rapportée par **Aissaoui (2011)** dont la valeur de l'EST est de 35,86%.

L'extrait sec est le complément de la teneur en eau à 100%. Il est en fonction de la teneur en matière sèche du lait et de l'importance de l'égouttage, car l'élimination du

lactosérum entraine une forte augmentation de la teneur en matière sèche du fromage (**Fredot, 2009**). En effet, la quantité d'eau évacuée permet la préservation de la qualité microbiologique du fromage par la diminution d'activité de l'eau, permettant de prévenir un développement de bactéries indésirables (voir annex08).

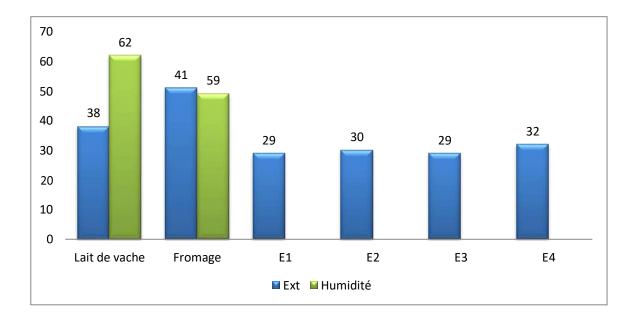


Figure 4 : Résultats d'extrait sec total.

III.1.2. Analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques du lait analysé et des échantillons du j'ben exprimés en UFC/ml sont présentés dans le tableau sous dessous qui représente la charge bactérienne en différentes microflores recherchées dans les tous les échantillons analysés.

Chapitre III

Tableau 04: Résultat final du contrôle microbiologique.

	Contrôle	Normes	1er contrôle (24H) (j'ben)		2 ^{éme} co (7jours	après)		Normes
	du lait				(j'b	en)		
Echantillon Flore	Lait		Fromage	E(1)	E(2)	(E3)	E(4)	
Staph	_	Abs	-	_	_	_	-	Abs
Flore mésophile aérobie totale (UFC)	>106		ind	ind	ind	ind	ind	10 ⁵
Champignons (UFC)	10 ⁵	10^{3}	4,4 .104	1,3 .10 ⁴	1,2 .104	2,4.10	4,5.10 ⁴	10 ³
Coliformes totaux (UFC)	11. 10 ³		2,5. 10 ²	0	0	0	$0,9.\ 10^2$	
Coliformes fécaux (UFC)	11.10 ³		2,1. 10 ²	$0,5.\ 10^2$	0	0,5. 10 ²	0	
Bactéries sporulées	I	Abs	1	_	-	1	-	Abs
Bactéries lactiques (UFC)	<104		$1,1.10^6$	1,04 .10 ⁶	6,4 .10 ⁵	2,2.10	$3,5.10^6$	
Streptocoques	+	+	+	+	+	+	+	Abs
Entérobactéries	5,1. 10 ⁵		4 ,6 . 10 ⁵	4,8.104	4,4.10 ⁴	4,2.10	4,1 .10 ⁵	

Ind: indénombrable /Abs: absence

<u>Chapitre III</u> <u>Résultats et discussion</u>

III.1.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries mésophiles :

III.1.2.1.1 Flore mésophile totale

C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. Les valeurs trouvées après dénombrement de la flore mésophile totale des échantillons analysées sont mentionné dans la figure suivante :





Figure 5 : Flore mésophile totale sur milieu PCA à 30°C.

La flore aérobie mésophile totale des échantillons analysés du lait et de « j'ben » cultivée sur le milieu PCA présentent une charge en microorganismes de la flore totale qui a révélé des valeurs indénombrables et supérieur à ≥10⁶ UFC/ml dans le lait et les échantillons du j'ben. Ces résultats sont importants et très variables. L'énumération de cette flore pour les échantillons collectés a montré qu'il y a une contamination importante du lait cru et du j'ben pendant toutes la durée de conservation. Ces échantillons analyses seraient qualifiés de mauvaise qualité si on se référait aux normes.

En effet, selon (**JORA**, **1998**), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10⁵UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de 5. 10⁵ UFC/ml et 3. 10⁵UFC/ml (**Alais**, **1984**).

Une flore totale d'un « j'ben » est élevé quand la charge microbienne du lait est élevé, ceci est dû à un manque de respect des règles d'hygiènes. En effet le matériel de la traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Amhouri et al, 2010).

III.1.2.1.2. Dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS :

L'observation direct des colonies sur milieu MRS solide permet de déterminer les caractères macroscopiques des colonies qui sont blanches, rond, bombé et de différentes taille, irrégulière. Ce sont des lactobacilles présente dans la flore naturel du lait (**Benhannah** et al.,2006).



Figure 6 : Bactérie lactique sur milieu MRS.

La présence des bactéries lactiques dans tous les échantillons du lait et du j'ben analysés à des dénombrements de 10^4 à 10^6 UFC /g dû a la flore indigène ou originelle du lait.

Cette résultat ne conforme pas a celle décrite par (**Hamama**, 1997) car la charge des lactobacilles de nos échantillons est inferieur de ce dernier.

III.1.2.1.3. Coliformes

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

Chapitre III Résultats et discussion

On considère 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.



Figure 7: Résultat des coliformes sur milieu BCPL.

Les coliformes sont présents dans tous les échantillons, mais le taux des coliformes totaux est plus important que fécaux si on compare nos résultats avec ceux des j'ben Marocain décrit par **Rhiat** (2011) nos valeurs sont inferieur.

Les coliformes étaient présents dans tous les échantillons de lait en nombre élevé; et dans quelques échantillons du j'ben, on sait qu'ils reflètent une hygiène défectueuse dans les conditions de production du lait. Selon (Magnusson et al, 2007), La présence des coliformes, témoigne le manque d'hygiène au niveau de l'environnement des animaux, pendant la traite et au cours du stockage et de la conservation du lait.

La présence des coliformes fécaux indique une forte contamination fécale d'origine animale ou humaine (Benkerroum et al, 2004). Car les premiers jets de lait sont les plus fortement contaminés en microorganismes présumés pathogènes, surtout en cas de mammites (Hamama, 2006).

Mocquot et Guittonneau (1939) ont démontré que les coliformes du genre Escherichia sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

L'absence des coliformes dans l'échantillon E2 (fromage avec l'ail) rend à les caractéristiques du l'ail, selon (Salama et al "1995), Les matières à base d'ail ont montré des activités antimicrobiennes dans un ordre tel que: l'ail frais> poudre d'ail> huile d'ail> et aussi D'après (Majewski, 2014), L'activité anti bactérienne de l'ail agit sur les bactéries à gram négative et à gram positive incluant certaines espèces comme (Escherichia Coli, Salmonella, Staphylococcus, Streptococcus, Klebsiella, Proteus, Bacillus, Clostridium, Helicobacter pylori et Mycobacterium tuberculosis).

L'absence des C .T dans l'échantillon (E3) du romarin avec le fromage ,dépend de propre caractère d'un effet antimicrobiens qu'inhibe E. coli, alors que les concentrations plus élevées en extraits sont efficaces contre toutes les autres bactéries, (**Zhang et al.,2008**) et une faible variété du 0.5×10^2 UFC /ml des C .F due peut être a la contamination fécale de matière première ou la concentration faible de la substance du romarin qui additionnant .

III.1.2.1.4. Streptocoques

Les streptocoques fécaux sont fréquents dans les échantillons analysées du lait et de « j'ben » avec un taux élevé et identiques. Le j'ben marocain analysé par **Hamama(1989)** contient aussi des germes de contamination fécale .La présence de ces bactéries dans le fromage frais a une signification hygiénique très importante.

La norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru. Tous les échantillons présentent une charge supérieure à la norme (**JORA**, **1998**). Ces germes sont des indicateurs de contaminations fécales.

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

Selon Waes (1973), la présence des streptocoques en nombre relativement élevé, témoigne d'une prolifération bactérienne indésirable dans le lait et fait présumer une qualité douteuse.

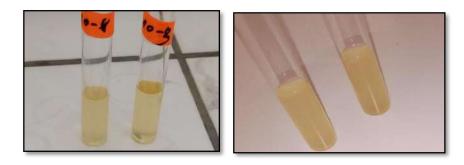


Figure 8: Streptocoques Sur milieu Roth et Litsky.

III.1.2.1.5. Levures et moisissures

Les valeurs trouvées des levures et moisissures à la surface de la gélose Sabouraud, sont représentées dans la figure suivante :



Figure 10: Levures et moisissures sur milieu sabouraud.

Ces résultats montrent que les échantillons du lait contiennent une charge fongique plus élevée que celle du j'ben ayant une charge 105 UFC/g, et celle du j'ben contenant une charge 1,2 jusqu'à 4,5.104 UFC/g. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par Bonfoh et al., (2006) au Mali (moyenne de 6,1.104 UFC/g pour les levures et 1,2.104 UFC/g pour les moisissures).

Cette charge en levures et moisissures retrouvée dans l'échantillon de lait et j'ben analysé pourrait être due à des contaminations externes telles que l'environnement de l'étable ou du laboratoire (murs, sol, air).

Les moisissures ont un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages comme les fromages à pâtes molles (**Fredot, 2009**). La charge élevée en moisissures, dans les échantillons de fromages, est probablement due à leur tolérance au PH acide et/ou une faible activité de l'eau.

III.1.2.1.6. Entérobactéries

Le groupe des Entérocoques représente un bon indicateur de contamination fécale .on a dénombrés sur le milieu Mac Conkey.

Les Entérobactéries sont présentes dans le lait est et les échantillons du j'ben, avec taux très important varie entre 4.2×10^5 UFC /g et 5.1×10^5 UFC /g.

Une maîtrise insuffisante de l'opération de traite (mamelles non lavées du début de la traite, les premiers jets de lait non éliminés) (Bacic et al., 1968), favorise l'augmentation des niveaux des entérobactéries dans le lait cru. Certaines entérobactéries peuvent également être hébergées à la surface des mamelles (Desmasures, et al., 1997) ou plus généralement, sur le corps des vaches (Salama et al., 1995).

III .1.2.1.7. Staphylocoques

Les Staphylocoques recherchés et dénombrées sur gélose Chapman.

La recherche des Staphylocoques dans le lait et les échantillons du j'ben étudié a révélé leur absence totale dans tous les échantillons analysés.

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).

Selon (**JORA.1998**). La norme concernant le *S.aureus* est l'absence du germe. Alors nos résultat conforment aux normes.

III.1.2.1.8.Salmonelles

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination dans le lait de vache, ce qui est conforme à la réglementation algérienne. En général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (Affif et al., 2008).

Clostridiums sulfito-réducteurs

L'absence des Clostridium sulfito-réducteurs ce qui est en corrélation avec les exigences des normes algériennes (**JORA**, **2017**). Dans le lait cru de vache et les échantillons du fromage testés, qui a une qualité microbiologique acceptables du point de vue hygiénique qui est dû à une bonne santé des vaches des étables et une bonne hygiène de la traite ce qui est

conforme à (Benzakour et al.,2009).

Discussion générale

Les résultats de cette étude montrent la variabilité de la qualité du lait cru et le fromage frais d'un échantillon à un autre et même entre la période de conservation après l'joute des substances additifs (sel, ail, romarin).

Les analyses physico-chimiques ont montré qu'il ya un accord avec les normes, et convenable a l'état fraiche du lait cru selon (Alais,1984). Le résultat du pH à égale 6,8 et l'acidité Dornic qu'elle est égale 18 (D°) qui est d'accord a celle du (FAO,2010). C'est aussi pour le fromage frais à un PH de 4,2 qui conforme avec certaines normes françaises qu'ils imposent généralement un PH acide inférieur à 4,5 pour le lait fermenté (Luquet et al.,1998). la différenciation des autres valeurs de PH des substances additifs revient peut être au type de lait, la méthode de préparation du j'ben, ou peuvent être liées au type de l'alimentation donnée aux animaux (Ouadghiri,2009). et une acidité de 24 (D°), Qui dépendent de la relation inverse entre eux et le PH

Le PH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions (Alais, 1984), Et d'après Mathieu (1998), le pH évolue avec la composition du lait, une teneur élevée en substances acides : protéines, anions phosphates, citrate ou acides lactique s'accompagne d'un PH faible.

Les bactéries se multipliant dans le lait ont la capacité d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction (Redox) grâce à l'action de leurs réductases. La rapidité de la décoloration due au métabolisme bactérien est directement proportionnelle au nombre de bactéries présentes (**Guiraud**, 1998). La décoloration du lait analysé ne s'est produite qu'au bout de 3 h 30 min, ce qui Témoigne de la quantité moyenne de bactéries présentes dans ce lait et de sa qualité microbiologique passable .

De très nombreuses variétés de micro-organismes peuvent contaminer le lait : bactéries, moisissures, levures. L'importance et la nature des contaminants dépendent de l'état sanitaire de l'animal, mais également des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte et de la température du lait. Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml.

Dans cette microflore contaminant, les bactéries sont dominantes et conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première. Les conditions d'affinage et de stockage, qui vont orienter le développement microbien. La recherche des microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (Labioui et al, 2009).

La production d'acide lactique par les bactéries lactiques permet d'acide libration par les bactéries lactiques permet d'acide substrat par l'inhibition de la prolifération de germes pathogènes, et les agents indésirable provoquant des modifications organoleptique.

Les fromages fabriqués dans notre étude ont une charge bactérienne assez élevée. Ceci pourrait être la conséquence de la qualité microbiologique du lait cru utilisé. Ce taux élevé revient à la contamination du lait durant les différentes étapes de fabrications souvent non hygiéniques, au manipulateur et au matériel utilisé (Hamama, 1989). Comme ça peut être causé par la rétention physique des microorganismes dans le caillé et à la multiplication des bactéries au cours de la coagulation et du drainage du lactosérum (Mikulec et Jovanovic, 2005).

La flore totale est considérée comme indicateur général de la qualité globale du produit. Elle révèle les conditions de production, plus particulièrement les pratiques hygiéniques lors de l'accueil du lait et de sa transformation. Les valeurs obtenues montrent une charge très importante. Malgré que l'abaissement du pH dans ce type de produit, permettrait l'inhibition de plusieurs germes (Ouazzani Taybi et al., 2014). Ce qui dû à l'absence de l'hygiène lors de la transformation principalement, l'environnement global qui entoure cette pratique (propreté des sols, des récipients, des ustensiles et de la vaisselle utilisé...) (Ouadghiri et al., 2009).

Cependant, le taux de la flore totale diffère d'un fromage à un autre et ceci serait dû aux différentes conditions de fabrication, leur composition, et la qualité de la matière première utilisée.

Dans cette étude, le nombre de coliformes dénombrés dans le lait est élevée, et dans le j'ben varie d'un échantillon à un autre, nous avons constaté que 3/5 des échantillons analysés ont des charges en coliformes totaux et fécaux variant entre 11×10^3 et $0,5.10^2$ UFC/ml .D'après la figure 06, Le résultat le plus faible a été enregistré pour les deux échantillons de j'ben ajouté au romarin E3 et le j'ben ajouté au sel E1. Tandis que, une absence totale de ces bactéries est observée dans l'échantillon de l'ail E2 et le j'ben après une semaine E4.

La présence des streptocoques dans tous nos échantillons analysées qui dû a une contamination fécale.

Nos analyses microbiologiques confirme la présence des coliformes fécaux dans la plus part des échantillons analysés, avec un niveau très élevé dans le lait de vache.

Tous les échantillons analysés a révèle l'absence d'un *S.aureus*, nos résultats est d'accord avec **Hamama** (1992) qui a un résultat négative quand fait la recherche du cette bactérie pathogène.

Le dénombrement des champignons sur milieu sabouraud dans le lait et les échantillons du j'ben révélé a la présence des levures et moisissures rapportent des valeurs estimé de cette résultat peut être due à une contamination extérieure et une mauvaise hygiène des ustensiles. Nos résultats Convergé à **FAO**, qui a la norme de (10⁸) pour les levures et (10⁶) pour les moisissures.

Chapitre III Résultats et discussion

Après l'ajoute de quelques substances naturels (sel,ail,romarin), nous avons eu une réduction dans les nombres des germes altérés nos échantillons du j'ben même si avec un taux diminue mais ils ont des effets antimicrobiennes et contre les bactéries pathogène.

L'Ail réduit le nombre de micro-organismes, selon (Qing Liu et al, 2017) en termes de nombre total de bactéries mésophiles aérobies, de levures et de moisissures. L'ail a pénétré dans les membranes cellulaires et même les membranes des organites comme les mitochondries, des organites endommagés et la mort de C. albicans. De plus, l'ail induit l'expression différentielle de plusieurs gènes critiques, y compris ceux impliqués dans les processus d'oxydation-réduction et la réponse cellulaire aux médicaments.

C'est aussi un expectorant, larvicide, insecticide, hypoglycémiant, antiviral, et prévient de certains cancers, dont plusieurs études sur le cancer de l'estomac ; Ses propriétés antiseptiques ont été mises à profit depuis des siècles contre des maladies telles que la peste ou le choléra cité par (Dafer et Messaadia, 2013).

L'ail est riche en substances anti oxydants ; il a une activité antioxydant (Santhosha et al., 2013).

On conclue que l'ail était un agent actif contre les pathogènes, aussi l'ail présentait de bonnes activités antifongiques contre les champignons (moisissure et levures) car il réduit leur nombre par rapport aux autres substances ajouté.

Conclusion

Conclusion

La qualité physico-chimique et bactériologique du lait de vache reste toujours irrégulière à cause de plusieurs facteurs, tels que l'alimentation des bovins, le manque d'hygiène, la race et la saison qui constituent des facteurs prépondérants de la mauvaise qualité du lait. La préparation du j'ben à l'artisanal ou bien traditionnellement à partir de lait cru de vache, de chèvre ou bien de brebis, parfois utilisé à l'état frais, parfois on ajoute du sel, du romarin.....etc. soit pour améliorer le gout soit pour une bonne conservation.

Ce travail était pour but d'analyser un fromage frais préparé traditionnellement à base du lait de vache, et de faire une comparaison entre l'effet de quelque substances d'affinage (sel, ail, romarin) sur la qualité microbiologique du fromage.

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait et du fromage (non affiné et affinés avec les différentes substances), indiquent que ces produits sont conformes aux normes.

Une semaine après la préparation du fromage, la rèpitition des tests physico- chimiques et microbiologique pour : la recherche des différentes microflores d'altération (Flore totale, Flore lactique , Coliformes totaux, Coliformes fécaux, Staphylocoques ,salmonelle, bactéries sporulés, streptocoques, entérobactéries, levures et moisissures) ,et pour savoir le rôle protecteur des substances naturels et connaître qu'est le produit le plus efficace.

Après sept jours d'affinage et de conservation à 4°C, une chute de nombre des micro-organismes dans le fromage qui contient de l'ail plus que les autres substances où la diminution est faible, mais il Ya une augmentation des bactéries lactiques par rapport au fromage du 1er jour de préparations.

L'absence de la flore pathogène (Salmonelle, Clostridium sulfitoréducteurs, Staphylococcus) est un résultat intéressant pour la qualité hygiénique du fromage utilisé pour notre étude.

En perspectives, afin d'améliorer la qualité de ce fromage, on propose :

- L'utilisation d'autres substances pour améliorer la qualité organoleptique du fromage, ceci dans le but de pouvoir mettre un fromage frais à base de lait de vache typique à notre région sur le marché avec une pratique de bonne hygiène.
- ➤ Des Répétition d'ensemble des analyses physico-chimiques et microbiologique mais a longue durée de conservation pour comparé l'efficacité des substances naturel.
- ➤ Une Essai de préparation du fromage a partir différentes source (chèvre, brebis..).
- Des Analyses statistiques pour voir le pourcentage d'erreur in vitro.

References bibliographiques

Références bibliographiques

Aissou Zina et Abbas Salima (2016). Etude du procès de fabrication et de la qualité microbiologique de différents types de fromages industriels et fabrication d'un fromage frais artisanal. Microbiologie Alimentaire et Santé. Sciences biologiques Département de Microbiologie .Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université A. MIRA – Bejaia. P: 9-11.

Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris. 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.

Bacic B, Jackson H and Clegg L F L 1968. Distribution of bacteria in milk drawn directly from the cow's udder. Journal of Dairy Science 51: 47-49.

Badis A, Guetrani D, Moussa-Boudjema B, Henni DE et Kihal M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiol. 21, 579-588.

Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et kabyle". Sci et Technol. 23, 30-37.

Bouix m. et Leveau J.Y., 1980 Les microflores responsables des transformations : les levures. Intechniques d'analyses et de contrôle dans les industries Agroalimentaires : le contrôle microbiologique.- Vol III.-Paris : Tec & Doc. P :331

Bourgeois, C, Mescle, J et Zucca, J. (1996) . Microbiologie alimentaire, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments .tome1.Edition : Toc, Lavoisier. Paris. p: 272-293.

Boutonnier J-L., (2012). Fabrication du fromage fondu, Techniques de l'Ingénieur, f6310, Paris-France, p : 14.

Branger A. (2012), Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p : 17.

Chamba J. F., (2008). Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris, p: 787-815.

Chilliard Y. et Lamberet G. (1984). La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variations, signification pratique. Le lait 64.p : 544-578.

CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011 -02.

Crapelet C. et Thibier M. (1973). La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. p: 114-116.

Cyrille N.T. (2007). Caracterisation de la flore lactique des laits fermentes artisanaux au Senegal : cas de la zone des Niayes. Universite cheikh Anta Diop de Dakar ,ecole inter-etats des sciences et medecine veterinaires (E.I.S.M.V.), p : 14.22

Dafer .O ,Messadi.I (2013). l'effet antibacterien de l'ail (*Allilum Sativum*). Memoire de master ,p :8-20 .

Desmasures N, Opportune W and Guéguen M., 1997. Lactococcus spp. yeasts and Pseudomonas spp. on teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. International Dairy Journal, 7, 643–646

Dieng M. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

Dillon, J.C., (2008). Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech). (Antoine Cogitore). d'animation régional. "Technologies douces et procédés de séparation au service de la takammerite » de la région de Ghardaïa. Mémoire d'ingénieur d'état en industrie.

Doyel TC.,Hansen JE and Reisleve (2001). Tryptophan fluorescence of yeast action resvolned via conserved mutations .Biophys J.80(1):427-34.

Eck A et Gillis JC. (2006). Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. p :891.

Eck A., Gillis J.C., (1997). Le Fromage, De la science à l'assurance-qualité; 3e éd-Paris, p: 891.

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.

FAO, (2010).le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine-laits de consommation.

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

Fredot E, (2009). Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris, Lavoisier, 530p.

G. Mocquot, G. Guittonneau; 1939, LE ·le lait revue 114-139;

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. p :119.

Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. p : 136-139.

Hamama, A (1995). - The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. - Trends Food Sci. Technol., 6(5), 171-172.

Hamama,A.(1989). Qualité bactériologique des fromages frais marocains. *Options Méditerraneennes-Série Séminaires*, (6), 223-227.

Heuchel V., Chatelin Y.M., Breau S., Sobolewski F., Blancard N., Baraton Y., Ayerbe A. (2003). Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant n°10. p : 223-226

Heuchel V., Chatelin Y.M., Breau S., Sobolewski F., Blancard N., Baraton Y., Ayerbe A. (2003). Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant n°10.pp: 223-226

Huppertz T, Upadhyay V.K, Kelly A.L. et TamimE A.Y. (2006). Constituents and Properties of Milk from Different Species. Brined Cheeses. Edited by Dr Adnan Tamime. Copyright © 2006 by Blackwell Publishing Ltd. pp : 1-34.

J.O.R.A : n°39 du 02 juillet (2017). Arrêté 04 octobre 2016 fixant les critères microbiologies des denrées alimentaire .p. 13-14.

Jamet E. (2009). Les bactéries lactiques : une composante de l'écosystème microbien des fromages. In : Drider DJ et Prévost H. (Eds.), Bactéries lactiques. Economica, Paris, p : 319-343.

Jaouen CL et Mouillot M. (1985). Fromage a partir de lait de chèvre. In : Luquet FM. (Eds.), Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p: 295-336.

JORA : n° 32 du 23 mai (2004). Arrêté du 27 mars mars 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrent des organismes microbiens pour le lait fermenté.

JORA: n° 70 du 7 novembre (2004). Arrêté 11 septembre 2004 rendant obligatoire méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen micrbiologique

JORA. (1993). Arrêté interministériel 18 aout 1993 relation spécifications et à la présentation de certain lait de consommation. p :16-20.

Kim H., Hardy J., Novak G., Ramet J.P. et Weber W. (1982). Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition (n°35).

Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P.

Larpent-gourgaut M., Michaux o., Larpent J.P., DESMASURES N., Desmazeaud M., MANGIN I., MASSON f., MONTEL M.C et TAILLIEZ P.(1997). Les ferments lactiques et bactéries apparentées in : Microbiologie alimentaire Edition: Lavoisier, Tec.Doc. Lavoisier, Paris.p:1073.

Leveau, J. Y., &Bouix, M., (1993). Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'interet industriel.

Leyral G. et Vierling É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. P : 87

Luquet. F(1997). la lactofermentation. Rev. n°6.p. 25-32.

Mahaut M, Jeantet R, Brule G. (2000). Initiation à la technologie fromagère : Technique et documentation. EN6636.

Majewski, M., Allium sativum ,(2014): facts and myths regarding human health. Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny Journal Impact Factor, vol 65, p: 1–8.

Mathieu H. (1985). Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

Nafti Y. (2011). Lait et produits laitiers. Biochimie alimentaire. Université de Djelfa . p: 19

Ouazzani Taybi. N , **Arfaoui.A et Fadli** . **M**, **2014.** «Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb, Maroc ».international journal of innovation and scientific research. Vol.9 n°2, pp.487-493

Parente E. et Cogan T. M., (2004). Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M. et Guinee, T. P. (Eds.), Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. I. Chapman and Hall, London,p.123-148.

Pillet MR, Magras C et Federighi M. (2005). Bactéries lactiques. In : Federighi M. (Eds.), Bactériologie alimentaire. Economica, Paris, p: 219-239.

Prescott, L. M., Harley, J. P. & Klein, D. A., (2003). Microbiologie, de Boeck 2e édition française, p: 41-73.

Rosset, R., (2001). Croissance microbienne et froid. Etude du cas particulier de Listeria monocytogenes. Bulletin de l'Académie nationale de médecine, 185(2), 287-300.

Roudaut .H et Lefrancq E. (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

Salama M.S., Masafija-Jeknic T., Sandine W. E., Giovannoni S.J., 1995. An ecological study of lactic acid bacteria isolation of new strains of Lactococcus including Lactococcus lactis subsp. cremoris. Journal of Dairy Science, 78, 1004–1017

Santhosha SG, Jamuna P, Prabhavathi SN (2013) . Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. Food Biosci. 3:59 - 74.

Settanni L. et Moschetti G., (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits, Food Microbiology, 27:691 -697

Srairi, M.T., Hasni Alaoui, I., Hamama, A. et Faye, B. 2005. Relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Revue Méd. Vét. 156 (3): 155-162.

Varnam A.H. et Sutherland P :(2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. p: 35-37.

Vierling E.(2008). Aliments et boissons filières et produits. 3éme édition Biosciences et techniques. Paris.pp:15-16.

Vignola, C. L., Michel, J., & Paquin, P., (2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. Ed Lvoisier, Paris.

Vilain, A. C., (2010). Qu'est-ce que le lait?. Revue française d'allergologie, 50(3), 124-127.

Walther B, Schmid A, Sieber R et Wehrmuller K. (2008). Cheese in nutrition and health. Dairy Sci. Technol. 88, 389–405.

Zhang X.Y., Zhao L., Jiang L., Dong M.L. Ren F.Z., (2008). The antimicrobial activity of donkey milk and its microflora changes during storage. Food Control, 9, 1191–1195.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales. (Vignola et al.,2002).

Animaux	Eau	Matière	Protéines	Glucides	Minéraux
	(%)	grasse (%)	(%)	(%)	(%)
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
Femme	87.1	4.5	3.6	7.1	0.2

Annexe 02 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus sp	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram négatif	<10

Annexes

Annexe 03 : Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g (Eck et Gillis, 2006).

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau (g)	80	50	48
Glucides (g)	4	4	2,5
Lipides (g)	7,5	24	22
Protéines (g)	8,5	20	18
Calcium (mg)	100	400	680
Sodium (mg)	40	700	1650
Vitamine A (UI)	170	1010	1200

Annexe 04: 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
Flore lactique	10-4 , 10-5 , 10-6	MRS	30°C.	En masse
Coliformes totaux	10-1 , 10-2 , 10-3 , 10- 4 , 10-5 , 10-6	BCPL	37°C.	En tube
Coliformes fécaux	10-1 , 10-2 , 10-3 , 10- 4 , 10-5 , 10-6	BCPL	44°C.	En tube
Entérocoques	10-3 , 10-4	MACKONKY	37°C.	En surface
champignons	10-2 , 10-3	SABOURAUD	28°C.	En surface
S .aureus	10-1 , 10-2	CHAPMAN	37°C.	En surface
streptocoques fécaux	10-1, 10-3	ROTH/LITSKY	28°C.	En tube
Clostridium Sulfito- réducteurs	10-1 , 10-2	VF	37°C.	En tube
Salmonella	10-1, 10-2(pré- enrichissement).	Eau peptone	37°C.	En tube

Annex 05 : Dénombrement des germes totaux

$$\mathbf{N}(\mathbf{CFU} / \mathbf{ml}) = \frac{\sum \mathbf{c}}{(n1 + 0.1n2)\mathbf{d}}$$

 $\sum c$ = Nombre totale des colonies comptées dans les boites dont le nombre de colonies est compris entre 20 et 300.

V_{mL} : Volume de solution déposée.

n₁: nombre de boites de Pétri comptées de la 1ère dilution

n 2: nombre de boites de Pétri comptées dans la seconde dilution.

d : facteur de dilution à partir duquel les 1er comptages ont été fait.

Annexe 06 : Les valeurs de PH mesurées des échantillons analysés.

Echantillons	Lait	Fromage	E1	E2	E3	E4
PH	6,8	4,2	4	4 ,1	4 ,3	4 ,4

Annexe 07: Résultat du test d'acidité

Echantillons	Lait cru	Fromage	E1	E2	E3	E4
Degré Dornic 24h	18	24	/	/	/	/
Degré Dornic 7j	/	/	31	33	30	29

Annexe 08 : Résultats des analyses physico-chimique du lait et du fromage.

Echantillons	PH	Acidité titrable	Extrait Sec	Humidité %
		° D	total %	
Lait de vache	6,8	18°D	38%	62%
fromage	4,2	24°D	41%	59%
E1	4	31°D	29%	71%
E2	4,1	33°D	30%	70%
E3	4 ,3	30°D	29%	71%
E4	4,4	29°D	32%	68%

Annex 09: table de Mac grady

Tables de Mac Grady

2 tubes par d	dilution		3 tubes par dilution				
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

Annexe 10: Composition des diluants (g/l) Eau peptone: Peptone1g Chlorure de sodium8,5g - Eau physiologie 9 /ml NaCl **Annexe 11:** 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 levure2,50 g Agar... 15,00 g Autoclavage 120°C pendant 20 minutes, PH = 7 ± 0.2 à 25°C. Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960) Acétate de sodium.....5g Citrate de sodium.....2g

KH2PO4......2g

Agar12g
Tween80
Eau distillée1000 ml
PH=6.5±0.2 à 37°C. Autoclavage : 121°C /15min
Milieu B.C.P.L à simple concentration (S/C)
Extrait de viande1g
Peptone de caseine7g
Lactose5g
Pourpre de bromocrésol ou red phènol 0.05g
Eau distillée
PH=6.9. Autoclavage: 121°C pendant 15min.
Milieu Chapman
Extrait de viande3g
Extrait de levure3g
Tryptone5g
Peptone bactériologique10g
Chlorure se sodium
Mannitol
Rouge de phénol0,05g
Agar
Eau distillée1000ml
Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min. PH=7.1±0.1à 37 °C.
Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium)
Tryptone20g
Glucose5g
Chlorure de sodium5g

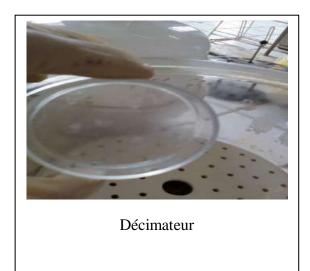
Phosphate di potasique
Phosphate monopotassique2,7g
Azothydrate de sodium
Eau distillée1000 ml
PH 7,2 Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn
Milieu de LISTSKY
Peptone20g
Glucose5g
Chlorure de sodium5g
Phosphate dipotassique2,7g
Phosphate monopotassique2,7g
Eau distillée
PH

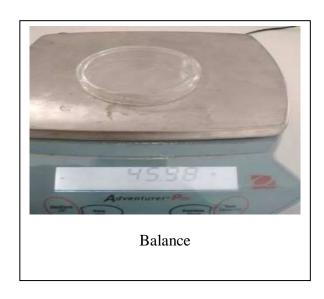
Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C

<u>Annexes</u> Annex12: Protocole générale Echantillonnage du lait cru de vache Test de bleu de méthylène Préparation du J'ben traditionnel/ 6jours Contrôle de qualité Analyses physicochimiques microbiologique Mesure de PH et Dénombrement des acidité titrable bactéries lactiques à 30°C Dénombrement de la Mesure de l'EST FMAT à 30°C. Dénombrement des coliformes totaux /fécaux à $(37^{\circ}\text{C}/44^{\circ}\text{C}).$ Dénombrement des entèrobactèries à 37°C. Dénombrement des champignons à 28°C (Levures /moisissures) Recherche des bactéries halophile à 37°C. Recherche des bactéries sporulée à 37°C. Recherche des streptocoques à 28°C. Recherche des

salmonella à 37°C.

Annex 13 : Materiels des Annalyses Physico-chimique









Résumé

Parmi les préparations de lait traditionnelles algériennes, le «J'ben» est fabriqué dans différentes régions du pays par différentes méthodes. L'objectif de notre travail est d'étudier la qualité microbiologique et physico-chimique du lait et du J'ben avec l'influence de substances naturelles (sel, ail, romarin). L'étude est basée sur cinq échantillons de «J'ben», Sont préparés à partir de lait de vache cru provenant de la région de Ouargla. Les résultats obtenus après les analyses physico-chimiques ont montré que le lait avait un PH de 6,8 et (18D°), et un PH de 4,2 et (24 D°) du fromage, avec un extrait sec compris entre (38 et 41%).) alors que les résultats des analyses microbiologiques ont montré que le lait et «J'ben» étaient corrompus par: (FMAT> 10⁶), (champignons> 10⁵), (CT et CF> 10³), (entérobactéries> 10⁵) et nous avons noté une diminution de la flore précédente: (champignons> 10⁴), (CT et CF> 10²), (entérobactéries> 10⁵), et contient également des germes de contamination fécale tels que les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, ainsi que l'absence totale de germes pathogènes germes (s. aureus, salmonelles, bactéries sporulés). La présence de germes d'altération peut être le résultat d'un manque de respect des règles d'hygiène au niveau des exploitations agricoles (mamelles sales et mal nettoyées, animaux mal nourris, trayeuses polluées, etc.), qui restituent les pollués lait, ou grâce aux conditions de laboratoire. Les substances chimiques répertoriées ont une influence sur la qualité microbiologique et les germes recherchés (le romarin a un effet antibactérien, un ail contre les bactéries Gram + et Gram-). Nous avons également noté que l'ail était la substance la plus efficace.

Mots clé: J'ben, Analyse physicochimiques, microbiologiques, sel, ail, romarin, antibactérien.

summary

Among Algerian traditional milk preparations the «J'ben» is fabricated in several regions of the country by different methods. The objective of our work it is to study the microbiological and physicochemical quality of the milk and of the J'ben with the influence of natural substances (salt, garlic, rosemary). Study is made on Five samples of «J'ben». Are prepared from crude milk of cow comes from the region from Ouargla. The results obtained after the physico-chemical analyses showed that the milk has a PH of 6.8 and (18D°), and a PH of 4.2 and (24 D°) of the cheese, with a dry extract between (38 up to 41%) while the results of the microbiological analyses showed that the milk and «J'ben» are corrupted by: (FMAT>10⁶), (fungi >10⁵), (CT and CF >10³), (enterobactéria>10⁵) and we noted a decrease in the previous flora: (fungi>10⁴), (CT and CF >10²), (enterobacteria >10⁵), And also contain germs of faecal pollution such as the faecal coliformes, and faecal streptococci, and the total absence of pathogenic germs (s. aureus, salmonella, sporen bacteria). The presence of the germs of pollution can be the result of lack of the respect for the rules of hygiene at the level of farms (dirty ill udders, bad cleaning, animals, milking machine polluted, etc...), who return the polluted milk, or thanks to the conditions of laboratory. Chemical substances figured up have an influence on microbiological quality and germs searched (rosemary has an antibacterial effect, a garlic against bacteria Gram+ and Gram-), We also noted that the garlic was the substance the most efficient.

Key words: J'ben, physicochimiques analysis, microbiological, salt, garlic, rosemary, antibacterial

ملخص

من بين التحضيرات التقليدية للحليب في الجزائر, يتم تصنيع الجبن في عدة مناطق من البلاد بطرق مختلفة، يهدف هذا العمل إلى دراسة الجودة الميكروبيولوجية والفيزيائية الكيميائية للحليب والجبن مع تأثير بعض المواد الطبيعية (الملح، الثوم وإكليل الجبل). تم إجراء الدراسة على خمس عينات من الجبن يتم تحضيرها من حليب البقر الخام الذي يأتي من منطقة ورقلة أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد التحليلات الفيزيائية الكيميائية أن الحليب يحتوي على درجة حموضة قدرها 6.8 و (18 °D) وأن الجبن يحتوي على درجة حموضة قدرها 4.2 و (20 °C) مع استخراج جاف بين (38 حتى 41%)، بينما أظهرت التحليلات الميكروبيولوجية أن الحليب والجبن يتعفنان جراء (10 ح10 ح10 و 10 ح10 و 10 ح10 ح10 و 10 ح10 ح10 و 10 حاك و (10 حكور) كما حتوت على جراثيم برازية مثل القولونيات والعقدية البرازية والغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض (المكورات العنقودية الذهبية والسالمونيلا والبكتيريا المغلورة) .إن وجود الجراثيم الملوثة قد يكون ناتج عن عدم احترام قواعد النظافة على مستوى المزارع (ضرع قذر، التنظيف السيء، الحوانات، آلة الحلب الملوثة ...إلخ)، الذين يلوثون الحليب أو بسبب ظروف المختبر .إن المواد الكيميائية لها تأثير على الجودة الميكروبيولوجية والجراثيم التي تم العثور عليها (إلمالودة ...إلخ)، الذين يلوثون الحليب أو بسبب ظروف المختبر .إن المواد الكيميائية لها تأثير على الجودة الميكروبيولوجية والجراثيم والثوم له تأثير مضاد للجراثيم والثوم له تأثير مضاد للكتيريا + Gram)كما لاحظنا أيضا أن الثوم كان المادة الطبيعية الأكثر فعالية مقارنة مع المواد .

الكلمات المفتاحية :الجبن، التحليل الفيزيائي الكيميائي، الميكروبيولوجيا، الملح، الثوم, إكليل الجبل، مضاد للجراثيم.