

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Sciences Biologiques de l'Environnement**  
**Filière: Sciences Biologiques**  
**Option: Microbiologie alimentaire et santé**



**Réf :**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

**Réf :**

### *Thème*

**Essai de la mise en place d'un produit  
laitier traditionnel en utilisant des  
bactéries lactiques isolées localement**

Présenté par:

**Melle. Boulkaria Amina. & Melle. Bousla Siham.**

Soutenu le : **19 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

	<b>Grade</b>	
M <sup>me</sup> Chibane .N	MAA	Présidente
M <sup>me</sup> Benachour K.	MAA	Encadreur
M <sup>me</sup> Idres née Keramane B.	MAA	Examinatrice

**Année universitaire: 2016/2017**

## Dédicace

*Je dédie ce travail à :*

*Mon cher et tendre papa aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer mon amour pour toi, tu a été et tu sera toujours la personne la plus importante de ma vie, le pilier de mon existence, je te remercie infiniment pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de faire pour mon éducation et mon bonheur depuis ma naissance, jusqu'à mon âge adulte. Je t'aime mon papa chéri.*

*Ma chère et tendre maman aucune phrase ne saurait montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ton soutien, ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. Je t'aime maman chérie.*

*Mes chères sœurs qui ont toujours été présentes pour moi et qui me comblent d'amour : Nadia, Zakia, Nabila, Radia et Souad ma préféré.*

*Mes deux frères que j'adore : dadouni et lamine que je remercie pour leur aide et dévouement, que Dieu nous garde toujours unis.*

*Mes belles sœurs chéries : Nounou et fatma qui sont pour moi comme mes sœurs et que j'adore. Et mes beaux frères tellement serviabls*

*Mes neveux et nièces que j'aime plus que tout : mon dadou rayane, ninoucha, sami, baby, rahim, imane, alicia, béalou, imad, mayssa, maya, mes petits chéris racim et ramzy « petit flip ».*

*Mes amis de toujours qui ont une place particulière dans mon cœur que j'aime : Ahlem, Mimi, Faya, Rouney, Assia.*

*Ma binôme « Siham » qui est pour moi ma sœur de cœur et que j'aime profondément puisse dieu nous gardé ainsi uni et proche pour toute la vie.*

*Mes tendres copines Mounia et Khamsa avec lesquels on a partagé des moments inoubliables.*

## Dédicace

*Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis  
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri*

*Je dédie ce travail à :*

*La plus belle créature que Dieu a créée sur terre à cette source de tendresse, de patience et de générosité à celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi chère maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance que Dieu te garde pour moi mamoyno je t'aime.*

*Mon cher père, pour tous ces sacrifices, son amour, son soutien et ces prières tout au long de mes études, Mon père trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et soit fière de moi. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation, l'aide et le soutien permanent venu de toi à fin d'avancer dans ma vie.*

*A ma chère et adorable sœur et son mari « Rima et Nassim » pour leurs encouragements et leur soutien moral sans oublié ma bien aimer « wiza »*

*A mon grand frère et ma belle sœur « Tarik et Lila » et leur petit koutkoute « abde eldjalile »*

*A mon petit frère présent par son soutien moral et ces belles surprises*

*A mes chères grands parents ainsi qu'à toute la famille « Bousla »*

*A mes chères amies « Mayssa ,Monia ,khamssa,kenza»*

*A ma binôme « Mina » la personne qui compte pour moi le plus cette année, merci ma poupée pour tout les bon moments et les souvenir inoubliable qu'on a passé ensemble, que dieu te garde pour moi je t'aime minoucha.*

*A une personne très chère à mon cœur qui me procure une présence sans égale malgré la distance. Que Dieu nous réunisse bientôt inshallah*

## *Remerciement*

*Nous exprimons nos remerciements très particuliers et notre gratitude à notre promotrice M<sup>me</sup> Benachour Karima ., pour nous avoir proposé ce thème et guidé dans la réalisation de ce travail et pour son aide précieuse et le temps consacré pour notre orientation tout du long de la période de réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier profondément M<sup>me</sup> Chibane N pour avoir bien voulu présider ce jury et nous faire bénéficier de son examination rigoureuse et pertinente.*

*Nos sincères remerciements sont adressés à M<sup>me</sup> Idres née Keramane Badria pour avoir bien voulu examiner notre travail et rehausser sa qualité à travers ses remarques et critiques judicieuses.*

*Nos remerciements à toute la promotion de MAS 2016 pour leur soutien, leur sens du partage et leur gentillesse .*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude à l'ensemble de l'équipe pédagogique particulièrement celle de laboratoire de Microbiologie.*

*Merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ainsi que ceux qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment.*

## Sommaire

**Dédicace**

**Remerciement**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

Introduction.....1

### Synthèse bibliographique

I. Le lait .....	3
1. Définition.....	3
2. Composition et variabilité de la composition.....	3
3. Caractéristiques organoleptiques du lait.....	4
4. Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	4
4.1. Le pH.....	4
4.2. La densité.....	4
4.3. Le point de congélation.....	5
4.4. Point d'ébullition.....	5
4.5. L'acidité de titration.....	5
4.6. L'extrait sec.....	5
II. Fromage Frais.....	5
1. Définition.....	5
2. Les différents types de fromage.....	6
3. Le processus de fabrication du fromage frais.....	7
3.1. Coagulation.....	7
3.2. Egouttage.....	7
4. La microflore du fromage frais.....	7
4.1. La flore bénéfique.....	7

4.2. La flore pathogène.....	8
III. Les bactéries lactiques.....	8
1. Généralité.....	8
2. Caractéristiques des bactéries lactiques.....	9
3. Les bactéries lactiques utilisées en Industrie.....	10

## **Partie pratique**

### **I. Matériel et Méthode**

1.1 Souches utilisées.....	12
1.2. Origine des souches.....	12
1.3. Purification et revivification des souches bactériennes.....	12
1.4. Standardisation des souches bactérienne dans le lait UHT.....	13
2. Lait de chèvre .....	14
2.1. Origine du lait .....	14
2.2. Analyses physico-chimiques du lait :.....	14
2.2.1. La mesure du pH.....	14
2.2.2. Acidité dornic :.....	14
2.2.3. Test d'ébullition : .....	15
2.2.4. Test de la réductase :.....	15
2.3. Analyses microbiologiques du lait :.....	15
2.3.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile.....	15
2.3.2. Dénombrement de la flore lactique .....	15
2.3.3. Recherche des coliformes fécaux et totaux.....	16
2.3.4. Recherche des salmonelles .....	16
2.3.5. Dénombrement des staphylocoques.....	16
3. Etape de mise au point d'un fromage frais .....	16
3.1. Analyse microbiologique du fromage .....	18
3.2. Mesure du pH .....	19

## **II. Résultats et discussion**

1. Vérification de la pureté des souches .....	20
1.1. Aspect macroscopique des souches.....	20
1.2. Aspect microscopique des souches :.....	21
1.3. Production de la catalase :.....	22
2. Standardisation des souches lactiques :.....	22
3. Origine du lait de chèvre :.....	22
4. Evaluation des propriétés physico-chimique.....	22
4.1. La mesure du pH.....	22
4.2. Test de la Réductase.....	23
4.3. Test d'ébullition .....	24
4.4. L'acidité dornic .....	24
5. Les analyses microbiologiques du lait cru .....	25
6. La mise au point d'un fromage frais .....	26
6.1. Evaluation de la qualité microbiologique du Fromage au lait cru .....	28
6.2. Mesure du pH du fromage frai au lait cru :.....	30
Conclusion.....	31

### **Références Bibliographiques**

### **Annexes**

## *Liste des Tableaux*

---

### **Liste des Tableaux**

<b>Tableau I</b> : Tableau comparatif de la composition chimique du lait de vache et du lait de chèvre .....	3
<b>Tableau II</b> : Classification des différents types de fromages .....	6
<b>Tableau III</b> : Principaux caractères des genres les plus importants des bactéries lactiques.....	9
<b>Tableau VI</b> : Résultat du test de réductase .....	15
<b>Tableau V</b> : Analyse microbiologique du fromage issue du lait cru.....	18
<b>Tableau VI</b> : Résultat des valeurs du pH du lait de chèvre.....	23
<b>Tableau VII</b> : Résultats des analyses microbiologique du lait de chèvre d'origine de Baccaro et Tizi.....	25
<b>Tableau VIII</b> : Evaluation de la qualité hygiénique des trois échantillons de lait de chèvre .....	26
<b>Tableau IX</b> : Evaluation de la qualité hygiénique du fromage frais au lait cru.....	28

## *Liste des Abréviations*

---

### Liste des Abréviations

- BP:** Baird Parker
- CO<sub>2</sub>:** Dioxyde de Carbone
- EMB :** Eosine, Méthylène, Bleue
- FAO :** Food Agriculture Organisation of the United Nation
- GN :** Gélose Nutritive
- H :** Heure
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Péroxydase d'Oxygène
- Lb :** Lactobacille
- MG :** Matière Grasse
- MRS:** Man, Rogasa, Sharp
- MY:** Mayeux
- N :** Normalité
- Na Cl :** Chlorure de Sodium
- PCA:** Plant Cont Agar
- pH :** Potentiel d'Hydrogène
- S :** Souche
- SS:** Salmonelle- Shigella
- ssp :** Sous Espèce
- T° :** Température
- Tpm:** Tours par minute
- UFC:** Unité Formant colonie
- UHT :** Ultra Haute Température
- V :** Volume
- VF :** Viande Foie
- VRBL:** Milieu Lactose Biliée au crystal Violet et au Rouge neutre

## *Liste des Abréviations*

---

**Liste des Figures**

<b>Figure 01</b> : Revivification des souches lactiques.....	13
<b>Figure 02</b> : Dénombrement des ferments lactiques avant la fabrication.....	14
<b>Figure 03</b> : Répartition du lait dans des bocaux.....	17
<b>Figure 04</b> : Ajout des ferments lactiques dans le lait.....	17
<b>Figure 05</b> : Séparation des deux phases du lait.....	18
<b>Figure 06</b> : Egouttage et moulage du fromage.....	18
<b>Figure 07</b> : Aspect macroscopique des souches sur milieux MRS.....	20
<b>Figure 08</b> : Aspect d'une culture de bactérie lactique sur milieu liquide.....	21
<b>Figure 9</b> : Observation microscopique des bactéries lactiques avec un grossissement (G :X100).....	21
<b>Figure 10</b> : Aspect du lait avant et après le test de réductase.....	23
<b>Figure 11</b> : Aspect du lait après le test d'ébullition.....	24
<b>Figure 12</b> : Aspect du fromage frais aux lait cru (A) et lait stérile (B).....	27
<b>Figure 13</b> : Rendement du fromage.....	27
<b>Figure 14</b> : Cinétique du pH lors de la fabrication du fromage frais au lait cru.....	29

## Introduction

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale (**Ghaoues,2011**).

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 en font un milieu idéal de croissance pour de nombreux microorganismes tels que les moisissures, les levures et les bactéries. Bien que ces microorganismes soient le principal facteur de dégradation du lait, ils sont historiquement utilisés dans sa transformation et sa conservation par l'industrie agroalimentaire pour fabriquer des produits différents ayant des fonctionnalités nouvelles répondant au mieux aux exigences des consommateurs (**Hansal, 2015**).

La fermentation des produits alimentaires comme le lait est employée depuis l'antiquité en Afrique, Asie et en Europe. Les premiers laits fermentés étant apparus au Moyen Orient aux alentours du XI et XV ème millénaire (**Maurizio ,1932**).

La production locale en fromage est relativement basse, Il y a peu de fromages typiquement Algériens. Cette production consiste essentiellement en fromage fondu (80-90 000 t/an), en fromage à pâte molle de type Camembert-Brie (7-8 000 t/an) et en fromages type petits suisses naturels ou aromatisés (6-7 000 t/an). La production de pâtes pressées est faible (2000 t/an) et se développe lentement (manque de lait et de tradition). (**Cherif E ,2015**)

Le but de l'industrie fromagère est de transformer le lait en un produit d'utilisation prolongée et de goût différents grâce à diverses actions microbiennes et enzymatiques (**Leroy et de Vuyst,2004**) et parmi ces produits le fromage frais qui est un excellent milieu de culture pour la prolifération des bactéries par sa richesse en nutriments de là une certaine vigilance s'impose lors de la fabrication par la réalisation des analyses microbiologiques afin d'assurer des produits conformes et non dangereux pour la santé (**Eck,2006**).

Si dans les pays industrialisés il existe de véritables industries de fabrication du fromage, dans les pays en développement comme le notre , la fabrication du fromage garde encore un caractère traditionnel et cette présente étude a pour but d'illustrer ce processus en

proposant un essai de mise au point d'un fromage artisanal avec ou sans ajout de ferments lactiques.

Ce travail est scindé en deux parties, une synthèse bibliographique qui s'intéresse au lait, au fromage de chèvre ainsi qu'aux bactéries lactiques, une partie pratique qui regroupe en détails les différentes méthodes appliquées, les différents résultats obtenus avec leurs interprétations et discussions.

Enfin, une conclusion générale résumera l'essentiel des résultats obtenus et des perspectives à apporter au travail sont proposés.

## **I. Le lait**

### **1. Définition**

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « 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).

Selon le journal officiel de la république démocratique Algérienne, la dénomination « LAIT » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (Anonyme, 1993).

### **2. Composition du lait**

La composition chimique du lait varie d'une espèce animale à une autre (tableau I).

**Tableau I :** Tableau comparatif de la composition chimique du lait de vache et du lait de chèvre (Allais, 1984 ; Amiot *et al.* , 2002).

<b>Eléments (g /l)</b>	<b>Vache</b>	<b>Chèvre</b>
<b>Eau</b>	900-910	900
<b>Extrait sec total</b>	125-135	140
<b>Matière grasse</b>	30-35	45
<b>Matière protéique</b>	30-35	35- 40
<b>Caséines</b>	27-30	30 35
<b>Protéines solubles</b>	4-5	6- 8
<b>Matière minérale</b>	7,5-8,2	8 -10
<b>Lactose</b>	40- 50	40- 45

Cependant, de manière générale, le lait comprend quatre types de constituants importants qui sont : les lipides, constitués essentiellement de graisses ordinaires (triglycérides) et d'acides gras à courte chaîne, les protéines (caséine, albumine et globuline), les glucides. Essentiellement le lactose, les sels et les vitamines sans oublier l'eau qui est le composant majeur. (Vignola, 2002).

La composition du lait varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux. Les principaux sont : l'individualité, la race, les périodes de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (**Vignola, 2002**).

L'aptitude d'un lait à la transformation fromagère est étroitement liée à la nature de ses constituants. Il faut noter que plus la matière sèche totale du lait est élevée, plus ce lait est riche et meilleur est son rendement fromager (**Vignola, 2002**).

### 3. Caractéristiques organoleptiques du lait

Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques particulières qui concernent la couleur blanc mat du lait qui est due aux pigments de carotènes et à la matière grasse selon (**Fredot, 2005**), l'odeur qui vient également du taux de matière grasse contenue dans le lait, celui-ci est liée directement à l'alimentation de la femelle productrice et à la conservation du lait (**Vierling, 2003**), la saveur plaisante et savoureuse, varie selon le degré de chauffage du lait (frais, pasteurisé, bouilli ou stérilisé) et de l'alimentation de l'animal (**Amiot et al., 2002**) et la viscosité qui est une caractéristique importante qui permet au consommateur d'évaluer la qualité du lait, dépend de la teneur en graisse, de la caséine et des paramètres technologiques (**Rheotest, 2010**).

### 4. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont l'acidité (pH), point de congélation, point d'ébullition, la densité et la masse volumique (**Bourgeois et al., 1990**).

#### 4.1. Le pH

Le pH du lait change d'une espèce à une autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate et aussi selon les conditions environnementales (**Alais, 1984**). Le pH du lait de vache est compris entre 6,5 et 6,7 et celui du lait de chèvre entre 6,4 et 6,6 (**Goursaud, 1985**).

#### 4.2. La densité

La densité est une valeur inconstante qui varie selon des facteurs précis qui sont la teneur en matière grasse, la température et la richesse du lait en éléments dissous et en suspension.

La densité du lait à 15°C est en moyenne 1.032 (**Vignola, 2002**).

### 4.3. Le point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaissent le point de congélation. Il peut varier de  $-0,530\text{C}^{\circ}$  à  $-0,575\text{C}^{\circ}$ . Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait.

On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'une cryoscopie (**Vignola, 2002**).

### 4.4. Point d'ébullition

Le point d'ébullition du lait est de  $100,5\text{C}^{\circ}$ , soit légèrement supérieur à celui de l'eau, il est indiqué par le moment où la pression de la substance ou la solution est égale à la pression appliquée (**Vignola, 2002**).

### 4.5. L'acidité de titration

L'acidité Dornic est la résultante de l'acidité développée (grâce à l'action des ferments lactiques qui transforment le lactose du lait en acide lactique), en d'autre terme l'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose (**Mathieu, 1998**).

### 4.6. L'extrait sec

L'extrait sec est la masse des résidus présent dans le lait après chauffage (toutes substances à l'exclusion de l'eau). La teneur en matière grasse est la principale cause de la différence d'extrait sec chez les espèces (**Alais, 1984**).

## II. Fromage Frais

### 1. Définition

Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, il est obtenu par égouttage après coagulation du lait partiellement ou totalement écrémé ou de leur mélange (**FAO, 2010**).

Les fromages frais sont caractérisés par une pâte fortement humide (plus de 70% d'eau) à faible cohésion de consistance molle, avec une saveur fraîche acidulée. Ils sont issues d'une fermentation lactiques obtenue avec des laits ou des crèmes propre à la consommation et d'un égouttage lent (**Pointurier et al., 2003**).

Il existe deux types de fromages blanc : de type faisselle (de campagne) qui est issue d'un égouttage lent dans un moule percé, et de type lissés (battus) qui est obtenue par centrifugation et lissage lors de l'égouttage avant le conditionnement pour donner un fromage avec une texture lisse et homogène (**Cesbron-Lavau et al. 2016**).

2. Les différents types de fromages

Tableau II : Classification des différents types de fromages.

Type de fromage	Description du fromage	Références bibliographiques
<b>Fromages à pâtes fraîches</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- fromage non affiné.</li><li>- fermentation principalement lactique.</li><li>- flore vivante au moment de la vente au consommateur.</li></ul>	<b>Chamba et Irlinger, 2004</b>
<b>Fromages à pâtes pressées cuites</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- caillé « cuit » à une température de plus de 50 °C.</li><li>- fromage affiné dans des endroits chauds</li></ul>	<b>Parente et Cogan, 2004 Yıldız, 2010</b>
<b>fromages à pâtes pressées non cuites</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- model de fabrication rustique, très ancien.</li><li>- caillé coupé en morceaux, brassé, puis pressé pour en extraire le petit-lait.</li></ul>	<b>Parente et Cogan, 2004 Yıldız, 2010</b>
<b>fromages à pâtes molles</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Fromages à affinage prolongés (protéolyse et lipolyse intenses par la flore de surface)</li></ul>	<b>Branger, 2012 Yıldız, 2010</b>
<b>fromages à pâtes persillées (bleu)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Fromages affinés, à moisissures interne.</li><li>- La couleur de bleu à vert qui zèbre la pâte lui confère le qualificatif de persillées.</li></ul>	<b>Settanni et Moschetti, 2010</b>
<b>Fromages fondus</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Fromage obtenu par fonte et émulsifiassion, à l'aide de la chaleur, d'un fromage ou d'un mélange de fromage.</li></ul>	<b>Boutonnier, 2012</b>
<b>Fromages de lactosérums</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- fromages élaborés à partir de lactosérum ou « petit lait », avec ou non une adjonction de lait.</li><li>- La coagulation est obtenue par un chauffage à la température d'ébullition ou par évaporation.</li></ul>	<b>Chamba et Irlinger, 2004</b>

### **3. Le processus de fabrication du fromage frais**

Habituellement, la fabrication du fromage comprend deux étapes : La formation d'un gel de caséines, c'est la coagulation du lait ; la déshydratation partielle du gel, c'est l'égouttage qui aboutit à un caillé. Ces étapes concernent les fromages frais ( **Abakar, 2012**).

#### **3.1. Coagulation**

La coagulation est définie par le passage de l'état liquide à l'état solide du lait par formation d'un gel. Elle se caractérise par la déstabilisation de la forme micellaire originelle des caséines (**Gouedranche et al ., 2001**).

En fromagerie, la déstabilisation est réalisée soit par voie fermentaire à l'aide de bactéries lactiques, soit par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure ou encore par voie mixte (ferments additionnée de présure).

#### **3.2. Egouttage**

L'égouttage se traduit macroscopiquement par une élimination du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel, il est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme et il résulte de deux phénomènes physiques différents :

- un phénomène actif, la synérèse, qui est due à la contraction du gel.
- un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum occlus.

Le salage est une étape facultative de la production du fromage qui succède à l'égouttage, elle est réalisée selon le goût du fromage pour inhiber le développement microbien et accentuer la saveur (**Benkerroum et Tamime 2004**).

### **4. La microflore du fromage frais**

#### **4.1. La flore bénéfique**

Dans l'industrie fromagère de multiples microorganismes bénéfiques sont mis en jeu pour valoriser le processus de fabrication, ces derniers possèdent trois origines possibles :

La préexistence dans la matière brute, l'apport accidentelle lors de la manipulation, l'ajout volontaire (**Ait abdelouahab, 2001**).

Parmi ces microorganismes bénéfiques se trouvent les bactéries lactiques qui sont des Gram+ productrices d'acide lactique qui ont pour rôle essentiel dans l'acidification du lait et du caillé (**Drider et Prevost, 2009**).

Ce groupe bactérien est constitué de : *Lactobacillus*, *Lactocoque*, *Streptococcus* , *Leuconostoc*, *Pediococcus* , *Enterococcus* , *Aeoroccus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus*, *Weissela*, *tetrageonococcus* et *Oenococcus* (**Lahtinen et al ., 2012**).

### 4.2. La flore pathogène

Les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes en fonction de la nature du produit et de son mode de production, ces derniers se multiplient dans le milieu et provoquent des transformations nuisibles à la qualité du produit par dégradation de ses constituants (protéines, lipides ...). Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries telles que les coliformes, les staphylocoques, *E-coli*, les entérocoques, les salmonelles et levures moisissures.

## III. Les bactéries lactiques

### 1. Généralité

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'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 (**Duwat et al ., 2001**).

Ces dernières occupent une place importante dans l'alimentation, elles sont responsables de la fermentation des produits d'origines laitières végétales, ou carnés, c'est pourquoi elles sont nommées « ferments lactiques », « levains », ou encore « starters » (**Garry et le Guern, 1999**).

Différentes actions enzymatiques (protéolyse, réduction des nitrites, activité peroxydasique, lipolyse) exercées par ses bactéries, favorisent l'apparition de flaveur, texture et couleur intéressante pour le consommateur, en outre leur pouvoir fermentaire, les bactéries lactiques possèdent selon les études de (**Makras et al ., 2006**). Une activité

antagoniste contre les bactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E coli* ce qui permet une meilleur conservation des aliments (**Garry et Le Guern, 1999**).

Ces dernières sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut **GRAS** ( Generally Regarded As Safe) (**Ait Belghanaoui, 2006**).

## 2. Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des Gram positives, immobiles, asporulées, et ne possèdent pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase (**Hogg, 2005; Badis et al .,2005**). Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles qui occupe un large éventail de niche écologique : des surfaces de plantes aux viscères d'animaux, ce qui explique leur nature ubiquiste (**Makhloufi, 2011**). Leur température de croissance est comprise entre 10C° et 50C° ( **Zhang et Cai, 2014**) ( **Tableau III**).

**Tableau III** : Principaux caractères des genres les plus importants des bactéries lactiques (**Kihal ,1998 ; Novel, 1993**).

Genre	Lactobacille	Lactocoque	Streptocoque	Leuconostoc	Pediocoque
<b>Habitat</b>	Lait, produits fermentés végétaux microbiote intestinal	Lait, produits laitiers et végétaux	Lait et produits laitiers, levains artisanaux	produits laitiers, fruits et légumes	Boissons, saucissons, viandes et poissons
<b>T°de croissance</b>	15°-50°	10°- 40°	40°- 45°	10°- 30°	25° -50°
<b>Morphologie (forme et arrangement)</b>	Bacille en chaîne	Coque en paire ou en chaîne	Coque en chaîne	Coque en chaîne	Coque en Tétrade
<b>Type fermentaire</b>	Hétéro ou homo	Homo	Homo	Hétéro	Homo
<b>G-C%</b>	32- 53	34-43	34-46	36 -43	34- 42

Homo : Homofermentaire Hétéro : Hétérofermentaire
--

Les bactéries lactiques fermentent les glucides simples tels le glucose pour produire de l'acide lactique (Dridier et Prevost, 2009), elles peuvent être subdivisées en trois groupes selon leurs caractéristiques fermentaires : homofermentaire obligatoire (l'acide lactique est le produit principal 90%), hétérofermentaire facultative (Production d'acide lactique mais aussi d'acide acétique, ) , Hétérofermentaire obligatoire (production d'acide lactique , acétique , éthanol et CO<sub>2</sub>) (Claesson et al., 2007).

Considérées comme des bactéries exigeantes, les bactéries lactiques ont besoin de plusieurs facteurs de croissance tels les acides aminés, les vitamines, les acides gras et les sels... pour pouvoir proliférer et croître (Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005).

### 3. Les bactéries lactiques utilisées en Industrie

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation de différents aliments ainsi les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem et al., 2008).

Elles forment la flore dominante et tirent leur origine principale de la culture ajoutée en début de fabrication. Les bactéries lactiques assurent deux fonctions essentielles : Abaissées le pH par la production d'acide lactique aux dépens, du lactose du lait et contribuent aux caractères organoleptiques des fromages au cours de la maturation. Des streptocoques lactiques mésophiles (comme *Lactococcus lactis*) sont les premiers à se développer. Leur fonction principale est d'acidifier le lait, créant ainsi un milieu défavorable au développement des germes indésirables. Les lactobacilles sont relativement peu nombreux au début, mais se multiplient activement durant l'affinage; ils participent au développement de l'arôme et à l'hydrolyse des protéines du caillé.

L'utilisation de ces dernières a pour but l'augmentation de la durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent : acides organiques, peroxyde d'hydrogène, dioxyde de carbone, diacétyl et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

Etant parmi les probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et al., 2008). Différentes études ont démontrées le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchan et al., 2010). D'autres ont citées leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El

**.Ghaish et al. ,2011). Uehara et al. , (2006)**, ont démontrés la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires à empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes souffrant d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

## **II- Partie expérimentale**

Cette étude s'est déroulée au sein du laboratoire de microbiologie (FSNV) de l'université Abderrahmane Mira (Bejaia), son objectif était la mise en place de deux types de fromages frais l'un issu d'une coagulation lactique en utilisant un lait de chèvre cru et l'autre un lait de chèvre stérile en lui ajoutant des ferment lactiques. Ce travail s'est effectué dans un délai de 3 mois.

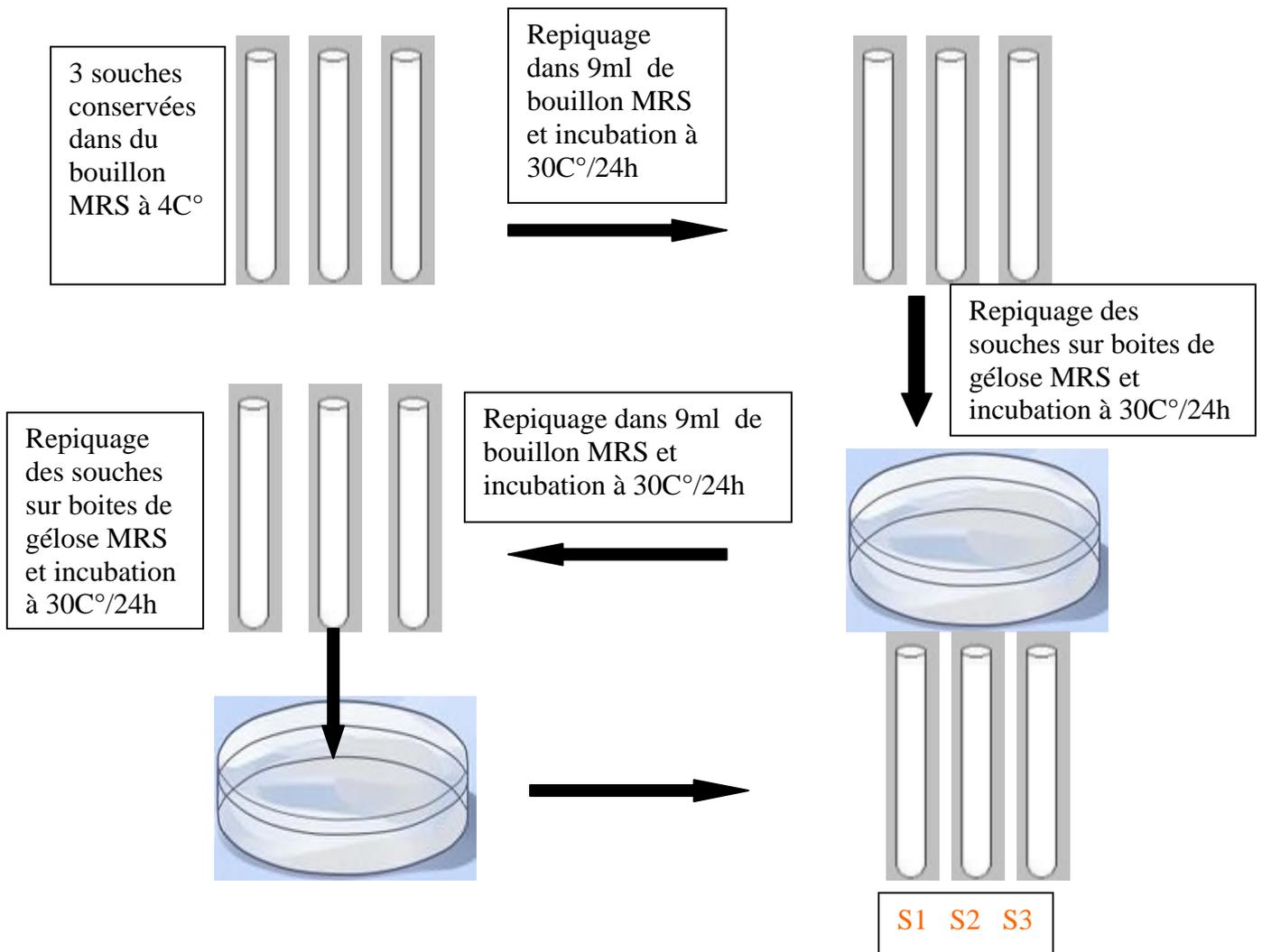
### **1. Souches utilisées**

#### **1.1 .Origine des souches**

Trois souches de bactéries lactiques ont été utilisées dans cette étude .Deux souches de lactobacilles nommé 8Lb et 16Lb ont été prise de la collection des souches du laboratoire microbiologie alimentaire et ont été isolées à partir du beurre. Ces souches ont été utilisées pour leur pouvoir acidifiant et les qualités organoleptiques qu'elles confèrent qui ont été prouvées dans les recherches précédentes. Et une troisième souche qui est un *Leuconostoc* nommé Lc isolée dans cette présente étude à partir du lait de chèvre. Ces souches ont été conservées dans un bouillon MRS (Biokar Diagnostics,France) à 4C°.

#### **1.2 .Purification et revivification des souches bactériennes**

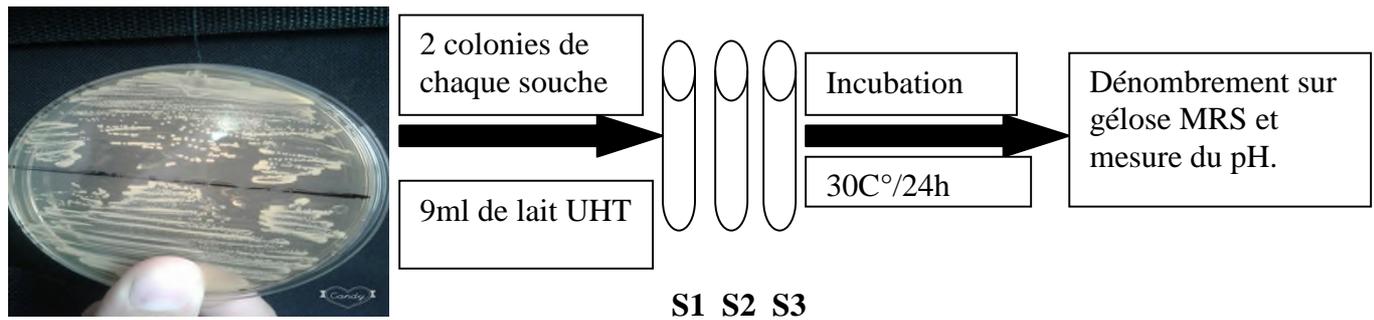
La pureté des souches bactériennes est vérifiées grâce aux observations macroscopiques (couleur, forme et taille des colonies) et microscopiques (coloration de Gram) des colonies issues des repiquages successives sur bouillon et gélose MRS (**figure1**).



**Figure 1:** Revivification des souches lactiques.

### 1.3. Standardisation des souches bactériennes dans le lait UHT

Pour réaliser la standardisation deux colonies de chaque souche sont inoculées dans 9ml de lait UHT (Candia) et incubées à 30C°/24h. Au terme de la période d'incubation, le pH est mesuré et une série de dilutions décimales des cultures bactériennes est effectuée afin de procéder au dénombrement des cellules dans de la gélose MRS ensemencées en masse.



**Figure 02 :** Standardisation des souches bactérienne dans le lait UHT

## 2. Lait de chèvre

### 2.1. Origine du lait

Le travail réalisé a pris en considération deux types de laits de chèvre : un lait cru et un lait stérilisé au bain marie à 100C°/30min.

Dans le but de choisir un lait de bonne qualité microbiologique et nutritionnelle trois laits cru de différentes régions ont subits des analyses, ces régions sont : une ferme dans un village sur les hauteurs de Baccaro, une ferme à Akbou et un éleveur à Bejaia (Tizi), afin de réaliser un fromage de haute qualité. Les précautions d'hygiènes nécessaires ont été prises en compte lors de la réception du lait (le lait a été transporté au laboratoire dans des glacières directement après la traite).

### 2.2. Analyses physico-chimiques du lait de chèvre

#### 2.2.1 La mesure du pH

Le pH indique la teneur d'une solution en ion  $H_3O^+$ , il est mesuré avec une électrode d'un pH mètre de marque Bante qu'on plonge dans le lait pour lire sa valeur sur l'écran.

#### 2.2.2 Acidité dornic

La détermination de l'acidité dornic du lait est réalisé en ajoutant deux à trois gouttes d'indicateur coloré (phénophtaléine 1%) à 10ml de lait et en titrant avec une solution de NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pale persistante au moins 10sec. 1°D correspond à 0,1ml de la soude N/9 nécessaire pour assurer le virage de couleur (Guiraud , 1998) .

$$^{\circ}D = V10$$

### 2.2.3 Test d'ébullition

Un tube à essai contenant 5 ml de lait est placé dans le bain marie chauffé à 100C° pendant une durée de 5 à 10 min.

### 2.2.4 Test de la réductase

C'est un test qui permet d'estimer la qualité de fraîcheur du lait, il s'effectue en versant 20 ml de lait dans un tube additionné de 1 ml de bleu de méthylène qui est incubé à 37C°. Le **tableau IV** montre l'estimation des résultats du test de la réductase.

**Tableau IV** : résultat du test de réductase.

Temps de décoloration	Contamination	Qualité du lait
20min	Très forte	Très sale
20min-2h	Forte	Sale
2h-5h	Légère	Moyenne
5h et plus	Nulle	Bon lait

## 2.3. Analyses microbiologiques du lait

Les laits des trois régions ont subis la même série d'analyses microbiologiques pour déterminer celui qui présente la meilleure qualité hygiénique. Ces analyses portent sur la recherche et le dénombrement des microorganismes capables d'altérer ce dernier et se réfère aux normes Algérien .

### 2.3.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile

Des dilutions décimale allant jusqu'à  $10^{-8}$  ont été réalisées dans l'eau physiologique ,1 ml des dilutions  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  a étéensemencé en masse dans 20ml de gélose nutritif (GN) (2 boîtes de Pétri pour chaque dilution), et incubée à 30C° pendant 72h.

### 2.3.2. Dénombrement de la flore lactique

Des dilutions décimale allant jusqu'à  $10^{-8}$  ont été réalisées dans l'eau physiologique ,1ml des dilutions de  $10^{-7}$  et  $10^{-8}$  a étéensemencé en masse dans 20ml de gélose MRS (2 boîtes de Pétri pour chaque dilution), et incubée à 30C° pendant 48h.

### **2.3.3. Recherche des coliformes fécaux et totaux**

#### **Coliforme Fécaux**

Un ensemencement en masse sur gélose (EMB) a été réalisé avec 1 ml de lait et de la dilution  $10^{-1}$  puis incubé à  $44^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

#### **Coliforme Totaux**

Un ensemencement en masse sur gélose (VRBL) a été réalisé avec 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  puis incubé à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.

### **2.3.4. Recherche des salmonelles**

Pour réaliser le dénombrement des salmonelles 1ml de lait et de dilution  $10^{-1}$  a été ensemencé en masse dans 20 ml de gélose SS et incubé à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.

### **2.3.5. Recherche et dénombrement des staphylocoques**

Le dénombrement des staphylocoques a été réalisés en deux étapes : un enrichissement en additionnant 1ml du lait de chèvre dans 9ml du bouillon Giolitti Contoni avec tellurite de potassium puis un dénombrement sur milieu Chapman en ensemencant en masse 1ml de lait et de la dilution  $10^{-1}$  et en incubant les boîtes à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.

## **3. Etape de mise au point d'un fromage frais**

Deux types de laits on été utilisés dans le processus de fabrication du fromage frais :

- Lait cru de chèvre d'akbou qui après avoir été sélectionné à subi trois séries d'analyses pour assurées le respect des normes.
- Lait de chèvre stérilise au bain marie bien fermé à  $100^{\circ}\text{C}$  pendant 30min.

### **Cas du lait cru**

- **Coagulation**

Un volume d' 1L de lait de chèvre a été reparti dans des bocaux de différents volumes (300ml et 400ml) qui ont été placés dans une étuve de  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24h. La coagulation se fait de manière naturelle sans ajout d'enzyme et donne deux phases distinctes : un caillé et un lactosérum

- **Egouttage et Moulage**

À l'aide d'un tissu adéquat la séparation des deux phases a été réalisée afin de récupérer le caillé et de se débarrasser du lactosérum, par la suite le caillé a été disposé dans des petits moules en aluminium troués pour éliminer le reste du lactosérum (égouttage lent) et obtenir la forme du fromage. Chaque bocal a subi un égouttage individuel et a donné un échantillon de fromage qui a subi des analyses.

### **Cas du lait stérilisé**

Un volume de 210 ml de lait de chèvre stérilisé a été réparti dans deux bocaux stériles (**figure 3**), on leur ajoutant des ferments lactiques.

Pour préparer les ferments deux colonies de chaque souche ont été inoculées dans un tube à essai contenant 10ml de lait UHT et incubé à 30°C/24h, au terme de cette période une coagulation a été remarquée, par la suite le lait coagulé a été introduit dans 90ml de lait UHT et incubé à 30°C/24h. Une mesure du pH et un dénombrement a été réalisé pour chaque ferment afin de déterminer la charge microbienne.

La répartition des ferments a été faite comme suite : Premier bocal : 50 ml du ferment 8Lb additionné de 40 ml du ferment isolé du lait cru de chèvre (Lc). Deuxième bocal : 50ml du ferment 16Lb additionné de 40 ml du ferment (Lc) (**figure4**).



**Figure 3** : Répartition du lait



**Figure 4** : Ajout des ferments

Le laitensemencé a été incubé à 30°C pendant 24h pour assurer la coagulation et obtenir deux phases : lactosérum et caillé (**figure5**) puis l'égouttage et le moulage a été réalisé à l'aide de petits moules en aluminium troués (**figure6**).



Figure 5. Séparation des deux phases



Figure 6. Egouttage et moulage.

### 3.1. Analyse microbiologique du fromage

L'analyse microbiologique du fromage a été effectuée en préparant une solution mère (10g de fromage dans 90 ml d'eau physiologique) et une série de dilutions allant jusqu'à  $10^{-8}$ , cette analyse a été effectuée pour les trois différents échantillons de fromages, pendant trois semaines (une analyse par semaine). Le **tableau V** résume les principales microflores recherchées dans ces fromages.

**Tableau V** : analyse microbiologique du fromage issue du lait cru (**annexe tableau 1**).

Genre	Milieu	Dilution décimale ensemencée	T° et t d'incubation
<b>Flore totale</b>	PCA et GN	$10^{-5} - 10^{-6}$	30C°/ 48-72h
<b>Flore lactique</b>	MRS et My	$10^{-5} - 10^{-6} - 10^{-7}$	30C°/ 48-72h
<b>Coliformes fécaux</b>	EMB	SM - $10^{-1}$	37C°/24h
<b>Coliformes totaux</b>	VRBL	$10^{-2} - 10^{-3}$	37C°/24h
<b>salmonelle</b>	SS	SM - $10^{-1}$	37C°/24h
<b>staphylocoque aureus</b>	Chapman et BP	SM - $10^{-1}$	37C°/24h
<b>Levure et Moisissure</b>	Sabouraud	SM - $10^{-1}$	28C°-30C°/24h à 5Jour

L'analyse microbiologique du fromage issue du lait stérilisé s'est étalée sur 3 semaines et n'a ciblé que la flore lactique car la flore pathogène a été éliminée par le traitement thermique subi préalablement par le lait.

### **3.2. Mesure du pH**

Le pH du fromage frais a été mesuré par un pH-mètre(Bant).

Après l'étalonnage du pH-mètre, l'électrode a été placée directement dans la masse de l'échantillon de fromage (**Saoudi, 2012**).

## **II. Résultats et Discussions**

### **1. Résultat des tests de vérification de la pureté des souches**

Les repiquages successifs sur gélose MRS, l'aspect des colonies et l'observation microscopique (coloration de Gram) sur des souches lactiques ont assurés que les cultures utilisées sont pures.

#### **1.1.Aspect macroscopique des bactéries**

##### **➤ Sur gélose**

L'observation à l'œil nu des colonies sur boîte de Pétri a montrés l'aspect de ces dernières, leurs formes, leurs couleurs et leurs tailles.

Les colonies obtenues sont de petites tailles arrondies ou lenticulaires de couleur blanchâtres (**Figure 7**).



**Figure 7** : Aspect macroscopique des souches sur gélose MRS.

##### **➤ Sur bouillon**

La croissance des bactéries sur bouillon MRS se manifeste sous forme de trouble accentué en profondeur du tube à la recherche des conditions anaérobiques (**Kihal 1996 ; Carr et al ., 2002**) (**Figure 8**).

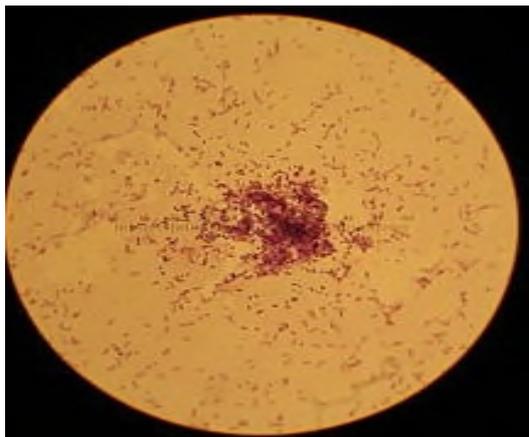


**Figure 8** : Aspect d'une culture de bactérie lactique sur bouillon

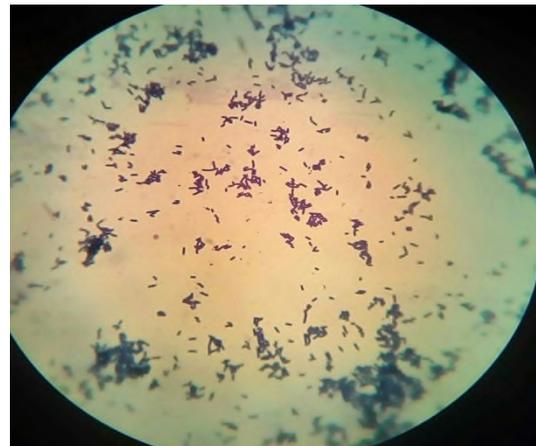
### 1.2. L'aspect microscopique des souches

L'étude microscopique est basée sur la coloration de Gram (**Figure 9**).

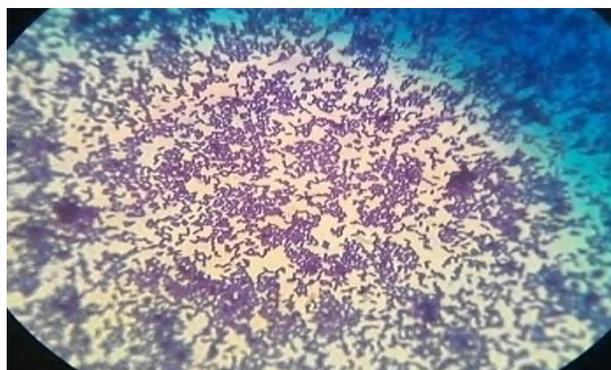
L'observation microscopique a révélée que les colonies sont des Gram positives de forme cocci en courtes chaînes pour le *Leuconostoc* (Lc) et de forme bacilles (8Lb) ou court bacilles (16Lb) pour les *Lactobacillus*.



Souche Lc



Souche 8 Lb



Souche 16 Lb

**Figure 9** : Observations microscopiques des bactéries lactiques avec un grossissement (G : X100)

### 1.3. Production de la catalase

L'activité catalytique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau, par la mise en contact des colonies avec quelques gouttes d'eau oxygénée (Guiraud, 2003).



Les bactéries lactiques étudiées sont à catalase négative car il y a absence de dégagement gazeux sous forme mousseux.

### 2. Standardisation des souches lactiques

L'objectif de la standardisation des souches est d'avoir le même nombre de cellules bactériennes vivantes dans 1 ml de culture durant toute l'expérimentation.

La standardisation des inocula a été réalisée par repiquage de deux colonies dans le lait UHT, les résultats obtenus sont comme suit :  $10^7$  UFC/ml pour la souche isolé du lait cru de chèvre (Lc),  $4 \times 10^8$  UFC/ml pour la souche 8Lb et  $2,3 \times 10^8$  UFC/ml pour la souche 16Lb. Les valeurs de pH des cultures ont été 4,37, 4,47 et 4,17 pour Lc, 8 Lb et 16 Lb respectivement.

### 3. Origine du lait de chèvre

Après de nombreuses analyses physico-chimiques et microbiologiques le lait sectionné est celui d'origine d'akbou car il présente les meilleures propriétés physiques et une bonne qualité microbiologique.

### 4. Evaluation des propriétés physico-chimiques

#### 4.1. La mesure du pH

Les valeurs du pH mesuré diffèrent d'un lait à un autre, étant donné que le lait choisit est celui d'akbou son pH a été mesuré trois fois à différentes récoltes, les résultats de ce dernier sont réunis dans le (Tableau VI).

**Tableau VI** : résultat des valeurs du pH du lait de chèvre

Origine	Baccaro	Tizi	Akbou		
			Echant 1	Echant 2	Echant 3
pH	6,87	6,72	6,81	6,93	6,86

Les valeurs enregistrées sont en concordance avec la fourchette de variation du pH du lait caprin qui est de 6,45 à 6,98 (Remeuf et al., 1989 ; Jaubert, 1997).

Toutefois le pH d'origine de Tizi est relativement bas et peut s'expliquer par l'infection de la mamelle de l'animal (Morgan, 1999).

#### 4.2. Test de la Réductase

Le test de réductase a donné comme résultat une réduction après 5 h d'incubation. Selon Larpent et al. (1997) le lait de chèvre d'akbou est de bonne qualité (figure 10).



**Avant**



**Après**

**Figure 10** : aspect du lait avant et après le test de réductase.

Etant donné que la décoloration du lait est légère cela implique que le taux de la réductase est faible et de là, la charge en teneur bactérienne est minime (**Larpen et al ., 1997**).

Cette méthode d'estimation est approximative. En effet, l'activité réductrice des cellules microbiennes dépend non seulement de leurs nombres, mais aussi des espèces présentes et de leurs états physiologiques. De plus, le colorant peut être réduit par les cellules somatiques de l'animal qui peuvent se trouver dans le lait (**Guiraud, 1998**).

### 4.3. Test d'ébullition

Après ébullition le lait de chèvre (akbou) s'écoule le long des parois du tube, sans laissé de traces de grumeaux, ce qui indique qu'il est non coagulé (**figure 11**).

L'absence de coagulation s'explique par la stabilité des protéines.



**Figure 11:** Aspect du lait après le test d'ébullition

### 4.4. L'acidité dornic

L'acidité est un paramètre clé pour détecter la fraîcheur des laits. Elle dépend du taux de protéine, sels minéraux et des conditions hygiéniques lors de la traite (**Alais, 1984**).

En référence avec la littérature l'acidité titrable pour un lait de chèvre varie entre 10°D (**Sawaya et al. , 1984**) et 21,4°D( **Cassinello et Perreira,2001**) et pour les échantillons

de laits analysés dans cette présente étude ils possèdent des valeurs d'acidité respectives de 16°D, 14°D, 16°D ; ce qui révèlent un bon état sanitaire du lait ,qu'il n'a pas subit d'altération microbienne et qu'il n'est pas issu d'une chèvre mammiteuse

### 5. Les analyses microbiologiques du lait cru

Les analyses microbiologiques réalisées sur les laits d'origine de baccaro et de Tizi ont démontrées des résultats insatisfaisants pour la flore pathogène.

En ce qui concerne le lait de Baccaro il est riche en flore lactique et dépourvus de staphylocoque et d'*E coli* cependant il renferme un têt très importante de salmonelle qui peut être du à différente raisons : excrétion fécale, dissémination dans l'environnement de la bactérie et contamination de la peau, des mamelles et du matériel de traite ce qui rend l'utilisation de ce lait impossible (Guy, 2006).

Pour le lait de Tizi les analyses ont révélées qu'il avait une très mauvaise qualité microbiologique qui se manifeste par la présence de différents germes pathogènes (Salmonelle, staphylocoque) et surtout par sa pauvreté en flore lactique (Guiraud, 1998).

➤ Le dénombrement été réalisé selon cette loi :

$$[N] = \frac{\sum c}{v(n1 + 0.1 \times n2)d}$$

**Tableau VII** : résultat des analyses microbiologiques du lait de chèvre de Baccaro et Tizi.

Origine Flore	Baccaro	Tizi
<b>Flore Lactique</b>	1,5x10 <sup>7</sup>	Pas de croissance
<b>Flore Totale</b>	1,81x10 <sup>6</sup>	3,18x 10 <sup>5</sup>
<b>Salmonelle</b>	Présence	Présence
<b>Staphylocoque</b>	Absence	Présence
<b>Coliforme totaux</b>	Présence	Présence
<b>Coliforme fécaux</b>	Absence	Absence

L'analyse microbiologique du lait d'akbou a révélée la présence d'une flore totale estimée à 4.19x10<sup>5</sup>, d'une flore lactique de 3.48x10<sup>5</sup> pour les trois échantillons respectivement (Tableau VIII), de coliforme totaux à 1,3x10<sup>2</sup> uniquement dans l'échantillon 2 et d'une absence de la flore pathogène (staphylocoque Salmonelle et *E coli*)

**Tableau VIII** : évaluation de la qualité hygiénique de trois échantillons de lait de chèvre

Echantillon Flore	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3
<b>Flore Lactique</b>	2,27x10 <sup>5</sup> UFC/ml	4,54x10 <sup>6</sup> UFC/ml	3,63x10 <sup>6</sup> UFC/ml
<b>Flore Totale</b>	1,27x10 <sup>5</sup> UFC/ml	2,04x10 <sup>5</sup> UFC/ml	9,27x10 <sup>5</sup> UFC/ml
<b>Staphylocoque</b>	Absence	Absence	Absence
<b>Coliforme totaux</b>	Absence	1.3x10 <sup>2</sup>	Absence
<b>Salmonelle</b>	Absence	Absence	Absence
<b><i>E Coli</i></b>	Absence	Absence	Absence

Selon les normes citées dans le J.O.R.A N° 35 du 27 Mai 1998 pour un lait cru, le lait utilisé est de qualité microbiologique moyenne car il répond aux charges microbiennes exigée ( **Olson et Mocquot,1980 ; Bonfoh et al.,2003**).

La flore totale enregistrée est relativement importante selon **Farris, (2009)** et elle est due à un manque d'hygiène dans le matériel de traite, la peau du pis, la glande mammaire et les mains du manipulateur ( **Ménard et al. , 2004 ; Zeller, 2005**) car le lait dans les cellule du pis est stérile ( **Tolle, 1980**).

L'absence de flore pathogène confirme que l'animal producteur de lait est en bonne santé et ne présente pas de mammites.

### 6.1. La mise au point d'un fromage frais

Des essais de fabrication de fromage frais ont été réalisés en utilisant un lait cru de chèvre et un lait de chèvre stérilisé avec ferment lactique, des *Lactobacilles* (8Lb, 16Lb) et un *Leuconostoc* (Lc) ( **figure 12**) .



Fromage frais A



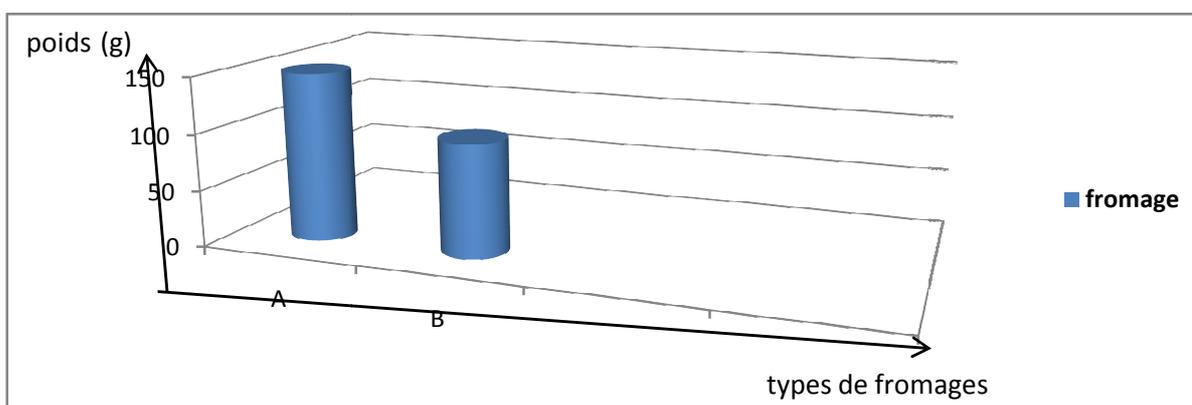
Fromage Frais B

**Figure 12** : Aspect du fromage frais aux lait cru (A) et lait stérilisé (B).

L'aspect granuleux et rugueux du fromage A est le résultat d'une meilleure modification physico-chimique des micelles de caséines sous l'action de l'acide lactique comparativement au fromage B qui est lisse et humide, on déduit que le fromage A possède une flore lactique riche par rapport au fromage B qui possède une flore lactique moins importante suite à la stérilisation préalable du lait (**Macheboeuf et al., 1993**).

Les deux fromages A et B possèdent un goût acide résultant d'une forte concentration en lipides (acides gras) qui est due à l'alimentation de l'animal et une odeur agréable produite par les bactéries lactique grâce aux arômes comme le diacétyle qui est un produit secondaire de la fermentation des triglycérides (**Tantaoui-Elaraki et al., 1983a,b**).

Un rendement de 150g a été obtenu pour le fromage A pour un litre de lait contrairement au fromage B pour lequel nous n'avons obtenu que 100g pour la même quantité de lait (**figure13**)



**Figure 13** : Rendement du fromage

Après 24h, un premier égouttage a été réalisé avec le bocal contenant le ferment 16Lb pour un essai de fabrication du fromage frais mais le résultat a été négatif car la coagulation n'était pas encore complète, nous avons attendu 24h de plus pour procéder à l'égouttage du deuxième bocal contenant le ferment 8Lb qui a donné le fromage frais B (**figure 12**).

La formation du coagulum s'explique par la production d'un taux élevé d'acide lactique qui résulte d'une bonne association entre le ferment Lc et 8Lb d'où son utilisation pour la fabrication.

### 6. Evaluation de la qualité microbiologique du Fromage

La qualité microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de son âge (**Ercolini et al., 2009**).

Le taux de la flore lactique était de  $2,75 \times 10^8$  le troisième jour de fabrication et de  $8,63 \times 10^5$  au bout de la troisième semaine (**Tableau IX**), une diminution a été remarquée et s'explique par l'augmentation de l'acidité, les conditions défavorables du milieu (accumulation des déchets toxiques) et par de mauvaises conditions de réfrigération et de conservation (**Aissou et Abbas, 2015**).

**Tableau IX** : évaluation de la qualité hygiénique du fromage frais au lait cru

Echantillon Flore	J3	J7	J15	J21
Flore Lactique	$2,75 \times 10^8$ UFC/g	$1,31 \times 10^8$ UFC/g	$1,97 \times 10^7$ UFC/g	$8,63 \times 10^5$ UFC /g
Flore Totale	$3,41 \times 10^7$ UFC/g	$1,85 \times 10^7$ UFC/g	$1,25 \times 10^7$ UFC/g	$4,72 \times 10^6$ UFC/g
Staphylocoque	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>E Coli</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Coliforme	$2,77 \times 10^2$ UFC/g	$1,29 \times 10^2$ UFC/g	$1,1 \times 10^2$ UFC/g	$10^2$ UFC/g
Salmonelle	Absence	Absence	Absence	Absence

Aucune réglementation ne préconise une charge de flore lactique spécifique aux fromages frais, la perte de la viabilité de la flore lactique est réduite par la réfrigération (**Ray, 1996**).

Pour la flore totale on constate une diminution allons de l'ordre de  $3.41 \times 10^7$  jusqu'à  $4,72 \times 10^6$  UFC /g qui est due à deux facteurs intrinsèques : le pH acide et la présence de composés antimicrobiens générés par les bactéries lactiques présente dans le fromage et qui peuvent avoir des effets inhibiteurs (Lenovich, 1987).

De même nous avons constatés une diminution des coliforme totaux s'expliquant par un manque d'hygiène, une mauvaise manipulation (Guiraud, 2003) et par la contamination du lait de départ (mammite qui provoque la contamination des trayons, ou les muqueuses qui souille la peau de l'animal) (Magnusson et al., 2007 ; Aggad et al., 2009).

Etant donné que le lait de départ été dépourvu de salmonelles, de staphylocoque et de coliforme fécaux leurs absences s'est confirmés dans le fromage et ce résultat concorde avec celui des normes Algérienne et avec ceux de Srairi et Hamama, (2006), Ait Amer Meziane., (2008).

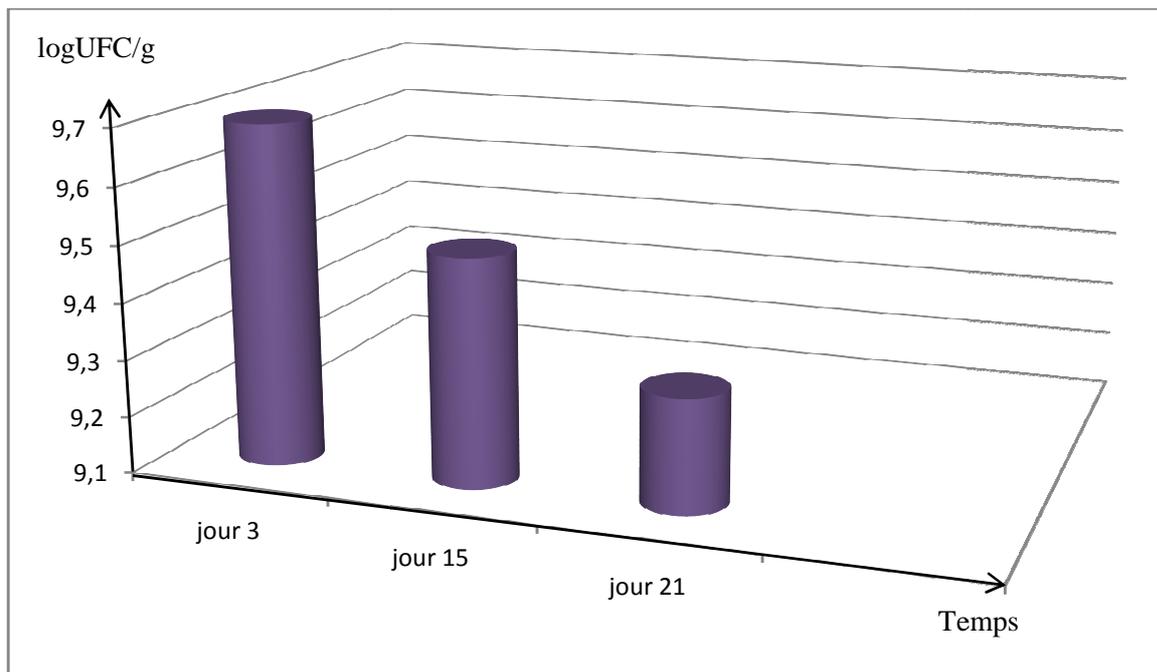


Figure 14 : Dénombrement de la flore lactique.

Selon le diagramme (figure14) le taux de la flore lactique du fromage au lait stérilisé est de  $5.4 \times 10^9$ ,  $3.15 \times 10^9$  et  $2 \times 10^9$  respectivement pour le troisième, septième et quinzième jour de fabrication.

On note une légère diminution de cette flore au cours du temps qui peut s'expliquer par la température de conservation (4C°) qui inhibe la croissance bactérienne, la compétition des bactéries vis-à-vis des nutriments se trouvant dans le milieu et le pouvoir acidifiant de ces dernières ; l'abaissement du pH par la production d'acide lactique rend le milieu défavorable et provoque l'autolyse des bactéries lactiques (**Ait Amer Meziane, 2008**).

### **6.2. Mesure du pH du fromage frais**

On note que le pH du lait cru était de 6,93 avant la production, Après 24h de coagulation, cette valeur a baissé jusqu'à 4,79 et la diminution de cette valeur s'est poursuivie pour atteindre une valeur de 4,5 à la fin du processus de fabrication.

Pour le fromage au lait stérilisé, la mesure du pH a été réalisée sur le lactosérum le J1, J7 et J15 de la conservation, ces valeurs sont les suivantes : 4,6, 4,55 et 4,5.

Les résultats du pH montrent que les deux fromages frais possèdent un pH acide, cette abaissement est due à la production de l'acide lactique (l'activité acidifiante).

La diminution des valeurs de pH du fromage frais 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 (**Ouadghiri, 2009**).

## Conclusion

Pour prolonger la durée de conservation du lait il est transformé en d'autres produits fermentés, cette fermentation est due à l'activité des bactéries lactiques présentes dans le lait. Les produits laitiers sont très variés, consommables à cause de leur richesse en matières nutritives.

Malheureusement la production de fromage à base de lait de chèvre est marginalisée en Algérie, vu que le lait de vache prédomine dans les industries fromagères.

Dans le but d'atténuer ce constat, une étude a été réalisée pour une meilleure exploitation du lait de chèvre qui est resté longtemps à utilisation uniquement familiale.

Ce travail a débuté par le choix du lait de chèvre présentant des propriétés physico-chimiques adéquates et une bonne hygiène microbiologique afin de mettre au point deux fromages frais artisanaux.

La mise au point du fromage frais au lait cru a été obtenue par coagulation naturelle sans ajout d'enzyme et le fromage frais à base de lait stérilisé a été obtenu par ajout de trois ferments lactiques qui sont : deux souches de *Lactobacillus* (8Lb et 16Lb) et un *Leuconostoc* (Lc).

Les deux fromages frais ont subi des analyses microbiologiques et une mesure de pH qui a démontré que le taux de la flore lactique était plus important dans le fromage au lait stérilisé et qui est de l'ordre de  $10^9$  avec une légère diminution durant la conservation contrairement au fromage au lait cru qui possède une charge allant de  $10^8$  à  $10^5$  durant la période de conservation.

A travers l'ensemble de nos résultats on conclut que le fromage frais au lait cru possède un meilleur rendement et une meilleure coagulation. Toutefois avec une qualité microbiologique modérée en comparaison avec le fromage frais au lait stérilisé qui possède une qualité microbiologique acceptable, un rendement moindre et une coagulation moins importante.

Pour compléter ce travail des études et tests complémentaires sont nécessaires tels que la détermination de l'extrait sec pour une meilleure maîtrise du rendement, des analyses microbiologiques supplémentaires pour le fromage au lait stérilisé, le suivi de la cinétique du pH durant la coagulation pour montrer le pouvoir acidifiant des souches en culture pure et mixte, l'inclusion d'une étape de salage dans le processus de fabrication serait

intéressant pour inhibé la croissance des microorganismes. Et l'ajout des herbes aromatisants tels la coriandre ou l'ail pour relevé le goût du fromage.

**Référence Bibliographique**

-A-

**Abakar M.(2012).** Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel Sénégalais à partir du lait de vache , coagulé par la papaine naturelle. Mémoire de diplôme de Master en Qualité des Aliments de l'Homme. Université de Dakar.46p.

**Aissou Z et Abbas S. (2016).** Etude du procès de fabrication et de la qualité microbiologique de différents types de fromage industriels et fabrication d'un fromage frais artisanal. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme Master. Université de Bejaia. 45p.

**AIT Abdelouahab N.(2001).** Microbiologie alimentaire. Edition : Office Des Publications universitaires. Alger. 147p.

**Ait Amer Meziane L.(2008).** Aptitude des laits de chèvre et de brebis à la coagulation par des protéases d'origine avicole. Thèse de Magister en Science Agronomique, 2008, pp.10-14.

**Ait-Belguenaoui A., Lamine F., Han W., Eutamene H., Fioramonti J., Bueno L ., Theodorouv.(2005).** A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. *Nutr. Ali. Fonct.* 3 : 59-63.

**Aggad H, Mahouz F, Ahmed AY et Kihal H.(2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest Algérien . *Méd. Vét.* 160, 12,pp.590-595.

**Alais C. (1975).** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition : Sepaic. Paris.807p.

**Allais C. (1984).** Science du lait, Principes des techniques laitières. Edition : Sepaic. Paris. 610p

**Amiot J, Fournier S, Leboeuf Y, Paquin P et Simpson R. (2002).** Composition , propriétés physicochimiques , valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. In : Lapoint-Vignola C. ( Eds.), Science et Technologie du lait : Transformation du lait . Presse International Polytechnique , Québec , pp .1-73.

**Anonyme. (1993 )** .Décret du Ministère Algérien.

### -B-

**Badis A, Laouabdia –Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005).** Caractérisation phénotypiques des bactéries lactiques isolés à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Science et Technologie* N°23. pp. 30-37.

**Bekhouché F. (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'Etat en Microbiologie et Enzymologie. Université de Mentouri Constantine. Institut De La nutrition, de l'alimentation et des technologies, 149p.

**Benkheroum N., Tamime A Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol* N° 21. pp .399–314.

**Bergy's manual. (2009) .** Systematic of bacteriology. Second Edition: Volume three the fermicutes. Edition springer

**Bonfoh B, Wasem A, Traore A.N, Fane A, Spillmann H, Simbe C.F, Alfaroukh I.O, Nicolet J, Farah Z, Zinsstag J. (2003).** Microbiological quality of cows' milk at different intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali). *Food Control*. 14(7).pp. 495 -500

**Bourgeois C, Mescle J.F et Zucam. (1996).** Microbiologie Alimentaire : Aspects microbiologiques de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition : Techniques et Documentation, Lavoisier. Paris. 523p.

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

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

### -C-

**Cassinello J, Pereira S.** La qualité du lait et du fromage dans cinq exploitations caprines de la Serra do Caldeirão. In : Rubino R., Moran d-Fehr P. Production systems of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Sheep and

Goats , 1999 sept. 23- 25; Molina de Segura-Murcia (Spain): Zaragoza: CIHEAM, (Options Méditerranéennes: Série A); 2001.pp. 157- 161.

**Carr JF , Chill D, et Maida N (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical. Rev. Microbiol.* 28(4). pp.281-370

**Cesbron-Lavau E et al.** Fromages blancs, petits-suissees et laits fermentés riches en protéines. *Cahiers de nutrition et de diététique* (2016)

**Chamba J.- F. et Irlinger F. (2004).** Secondary and adjunct cultures. In: McSweeney PLH, Cogan TM, Fox FP, et Guinee TP. Edition: *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects* Academic Press . Londre . pp. 191-206.

**Chamba J. F. (2008).** Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. *In : Corrieu G et Luquet FM.* Edition :Bactéries lactiques.de la génétique aux ferment. Tec et Doc.,Lavoisier.Paris .pp787-815.

**Cherif E.** Le Marché des Industries Alimentaires en Algérie. *Agroline*, 2015, N° 97, 13p.

**Claesson M.J , Van Sinderen, D et O'Toole,P.W.(2007).** The genus lactobacillus- a genomic basis for understanding its diversity. *FEMS Microbiol. Lett* .269:22-8.

### -D-

**Dridier D et Prevost H .(2009).**Bactéries lactiques physiologie, Metabolisme ,Génomique et Application industrielles.Edition : Economica.Paris.593p.

**Dellagio Fe, de Roissart H , Torriani S, Curk M.C , et Janssens D . (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. Edition : Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques, vol. 1. France. pp. 25-116.

**De Roissart H et Luquet F M.(1994).**Les bactéries lactiques .Uriage,Lorica,France,vol 1.pp.1-286.

**Dortu C., et Thonart P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* , 13.pp. 143-154.

**Duwap, Sourice S, Cesselin B, Lambert G, Vido K,Gaudu P, Lenoir Y,Violet F,Loubier P et Gruss A. (2001).** Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival. Vol.183. pp . 4509-4516.

### -E-

**Eck A et Gillis JC.(2006).**Le fromage .3<sup>em</sup>Edition :Tec et Doc ,Lavoisier.Paris.891p

**El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E., Bazukyan, I., Choiset, I., Rabesona, H., Sitohy, M., Popov, Y. G., Kuliev, A. A., Mozzi, F., Chobert, J. M., Haertlé, T. (2011).** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food Sci. Technol.* , 22,pp. 509-516.

**Ercolini D, Russo F, Ferrocino I et Villani F. (2009).** Molecular identification of mesophilic and psychotrophic bacteria from raw cowmilk . *Food Microbiol.* N°26. pp 228-231.

### -F-

**FAO. (2010).**Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Lait de consommation (<http://www.horizon.documentation.ird.fr>)

**Farris M. (2009).** Connaissance des aliments. In : base alimentaire et nutritionnelle de la diététique. 2<sup>ème</sup> édition : Tec & Doc. Lavoisier. pp. 18 - 22.

**Fredot E. (2005).** Connaissance des Aliments. In : Bases alimentaires et Nutritionnelles de la diététique. Edition : Tec & Doc. Lavoisier. pp 38- 43 / 424.

### -G-

**Garry P. et Le Guern L.(1999).**Les bactéries lactiques.Edition : Bull Liaison CTSCCV, N° 9( 6),pp. 423-429.

**Ghaoues S. (2011).** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.Magister en Sciences Alimentaires.Université MENTOURI - Constantine,I.N.A.T.A.A,187.

**Goudédranche H , Fauquant J, Maubois J.L. (2000).** Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration. Lait pp .80, 93-98

**Goursaud. J. (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques du lait. In: laits et produits laitiers. Vache, brebis, chèvre. Edition : Technique et documentation Lavoisier.Tome 1. Paris. pp.1-90.

**Guiraud JP. (1998).** Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris.137p.

**Guiraud JP. (1998).** Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. pp.651 -652.

**Guiraud JP. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. pp. 136-139.

**Guy FI. (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contamination par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de production fromagère AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul- Sabatier. Toulouse. France. 17p.

### -H-

**Hansal N. (2015).** Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques des *Leuconostoc mesenteroides* isolé à partir du lait cru de chèvre. Magister en Biologie. Université. 154p.

**Hogg T. ( 2005).** Essential microbiology. *John Wiley & Sons, Ltd.* pp.188-190.

### -J-

**Jay JM. (1996).** *Modern Food Microbiology.* Edition . Chapman & Hall. New York, NY

**Jaubert A. (1997).** Les vitamines et les nucleotides du lait de chèvre. Interet nutritionnel et diététique du lait de chèvre. INRA, Colloque , 7 Novembre. Paris. France.

**Jeantet R ,Croguennec T, Mahaut M, Schuck P et Brulè G .(2008).** Les produits laitiers. 2<sup>ème</sup> Edition : Tec et Doc .Lavoisier .Paris. 185p.

### -K-

**Kihal M.(1998).** Etude de la production de dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu, thèse doctorat .Université de Bourgane Ecole nationale supérieure de Biologie Appliquée à la nutrition et à l'alimentation Dijon. France. pp1348-1353.

### -L-

**Lahtinen S, Ouwehand AC, Alminen S et Riihtä AV . (2012) .** Lactic Acid bacteria microbiological and functional aspects. fourth Edition: Taylor et Francis Group. Boca Raton. Lodon.

**Larpent J-P., (1997).** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris: Technique et documentation , 273 p.

**Lenovich LM. (1987).** Survival and death of microorganisms as influenced by water activity. In: Rokland LB et Beuchat LR. Edition : Water activity: theory and application to food . Marcel Dekkar , INC. New York. pp. 119 - 133.

**Leroy, L. De Vuyst (2004).** Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation in: *Trends in Food Science & Technology* N°15(2),pp 67-78.

**Luquet, F.M(2005).** (Eds.), Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris, pp. 787-815.

### -M-

**Macheboeuf J-B , Coulon P, D'hour. (1993).** Aptitude à la coagulation du lait de vache. Influence de la race, des variant génétiques des lactoprotéines du lait, de l'alimentation et du numéro de lactation. N°6(5) . pp. 333-344.

**Magnusson M , Christianson, Svensson B . (2007).** Bcillus cereus spores during housing of dairy cows : factor affecting contamination of raw milk. *Journal of dairy science.* N°90. pp. 2745-2754.

**Makheloufi K.(2011).**Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *leuconostocpseudomesenteroides* isolée du boza.Thèse de Doctorat de biochimie (ecoledoctorale iVIv).Unuversité Pierre de Marie Curie.Paris,228p.

**Makras L, Triantafyllou V, Fayol-Messaoudi D, Adriany T, Zoumpopoulou G, Tsakalidou E, Servin A.De Vuyst L.(2006).** Kinetic analysis of the antibacterial activity of probiotic lactobacilli towards Salmonella enterica serovar Typhimurium reveals a role for lactic acid and other inhibitory compounds.Edition: Res Microbiol. 157(3),pp.241-7.

**Mathieu J. (1999).** Initiation à la physicochimie du lait. Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. pp.3-190 .

**Maurizio A. (1932).** Histoire de l'alimentation végétal depuis la préhistoire jusqu'à nos jours. Edition : payot . Collection "Bibliothèque Scientifique. Paris. 664p.

**Mkrtychyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. (2010).** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial

peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents.*,35.pp.255-260.

**Menard J.L, Roussel P, Masselin- Silvin. S, Puthod. R, Hetreau. T, Foret. A, Houssin. B, Aracil. C, Le Guenic. M. (2004).** Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In : Rencontre sur les recherches autour des Ruminants, vol.11. Institutdel'Elevage–INRA,Paris.Pp.333-336.

**Morgan F. (1999).** Cellules somatique du lait de chèvre : Conséquences sur la composition du lait et la technologie. L'égide N° 17. Décembre.

### -N-

**Novel G. (1993).** Les bactéries lactiques .In : Microbiologie industrielle , les microorganismes d'interet industriel.(Eds), TEC et DOC ,Lavoisier ,Paris,pp.170-330.

### -O-

**Olson J C. Mocquot G. (1980).** Milk and milk product. In: International Commission on Microbiological Specification for Foods. Edition. Microbial Ecology of Foods: Food Commodities. Vol. 2. Academic Press. New York . pp 470-490.

**Ouadghiri M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine, Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. 132 p.

**Ouadghiri M., Vancanneyt,M.,Amar,M.,et Swings.,J.,(2005).**Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben).*FEMS Microbial.Lett.*251.pp.276-271

### -P-

**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, pp.123-148.

**Pointurier H.(2003).** La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France: 64 : 388 p.

### - Q -

**Quiberoni A, Rezaiki L, El Karoui M, Biswas I, Tailliez P, Gruss A. (2001).** Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. Edition. *Res Microbiol*. Vol. 152. pp. 131-139.

### - R -

**Ray B. (1996)** . Probiotics of lactic acid bacteria: science or myth ? . In : Bozoglu TF et Ray B. Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. pp. 101-136.

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

**Rheotest M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants (<http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>).

**Remeuf F., Lenoir J., Duby C (1989).** Étude des relations entre les caractéristiques physicochimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait* 69,pp. 499- 518

### - S -

**Sawaya W.N., Safi W.J., Al Shalhat A.F et Al Mohammad MM. (1984).** Chemical composition and nutritive value of goat milk . *Journal of Dairy Science* . N° 65. pp. 1655 - 1659.

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

**Srairi M T et Hamama A.(2006)** . Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. pp. 16- 42.

**Stiles. (1996)** . Biopreservation by lactic acid bacteria. Edition. *Antonie Van Leeuwenhoek* . N°70. pp.331–345.

### - T -

## *Références Bibliographiques*

---

**Tamine A. (2002).** Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3e Edition. John Wiley and Sons. Inc. New York. pp. 261-366.

**Tantaoui-Elaraki A, Berrada M , El Marrakchi A et Berramou A.(1983a).** Préparation de lben marocain à l'aide de souches bactériennes sélectionnées .Actes de l'Int Agro Vet. (Maroc).N°3 pp.49- 58.

**Tantaoui-Elaraki A, Berrada M , El Marrakchi A et Berramou A.(1983b).** Etude sur le lben Marocain . Le lait. N°.63. pp. 230 -245.

**Tolle, A. 1980.** The microflora of the udder. In Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk. International Dairy Federation Bulletin, Document . pp.120:4-10.

-U-

**Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., Kumon, H. (2006).** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of Lactobacillus vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 28,pp. 30-34.

-V-

**Vignola C.L.(2002).** Science et technologie du lait : Transformation du lait – Montréal : Presse internationale polytechnique 600p.

**Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition. doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. N°11. 270 p.

-Y-

**Yateem A., Balba M. T., Al-Surrayai T., Al-Mutairi B., Al-Daher R. (2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.* , 3,pp. 194-199.

**Yıldız F. (2010).** Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group. USA. 435 p.

-Z-

## *Références Bibliographiques*

---

**Zeller B. (2005).** Le fromage de chèvre : spécificité microbiologique et technologique. Thèse de doctorat de science vétérinaire. Université Paul-Sabatier. Toulouse , France , 78p.

**Zhang H et Cai Y . (2014).** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg.New York.535p.

**Normes requises**

**Tableau : Normes Algériennes du fromage (J.O.R.A ,1998)**

<b>Flores(UFC/g)</b>	<b>Fromage frais</b>	<b>Fromage à pâte molle</b>	<b>Fromage fondu</b>	<b>Fromage à pâte dure et demi-dure</b>
<b>Coliformes</b>	10	102	10	/
<b>Coliformes fécaux</b>	1	10	1	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	102	10	102
<i>Salmonella ssp</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Clostridium sulfito-reducteur</b>	Absence	Absence	Absence	Absence

**Tableau : Normes Algériennes du lait (J.O.R.A ,1998)**

	<b>Lait cru</b>	<b>Lait stérilisé</b>
<b>Germes aérobies à 30C°</b>	105	<10/0 ,1 ml
<b>Coliformes fécaux</b>	103	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Absence</b>	/
Clostridium sulfito recuteur	<b>Absence</b>	/
antibiotiques	<b>Absence</b>	/

## Composition des milieux de cultures

**Tableau** : bouillon MRS (pH 6,5+/-0,1) (Institut Pasteur d'Algérie)

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1L</b>
-Extrait de levure	5g
-Extrait de viande	10g
-Peptone	10g
-Glucose	20g
-Tween 80	1g
-Phosphate dipotassique	2g
-Acetate de sodium	5g
-Citrate triammniacale	2g
-Citrate de sodium	2g
-Sulfate de magnésium	200g
-Sulfate de manganèse	50g
-Agar	15g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau** : Gelose MRS (pH, 5+/-0,1) (Institut Pasteur d'Algérie)

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1L</b>
-Peptone de casène	10g
-Extrait de viande	8g
-Extrait de levure	4g
-Glucose	20g
-Phosphate dipotassique	2g
-Di ammonium citrate	2g
-Acète de sodium	5g
-Sulfate de magnésium	0,2g
-Sulfate de manganèse	0,04g
-Agar	20g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau:** Gelose P.C.A ( pH7+/-0,2) ( Liofilchem)

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1L</b>
-Tryptone	5g
-Glucose	1g
-Extrait de levure	2,5g
-Agar	15g

**Tableau :** Gélose Baird Parker (pH 7,2+/-0,2) ( Liofilchem).

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1 L</b>
-Tryptone	10g
-Extrait de boeuf	5g
-Extrait de levure	1g
-Glycine	12g
-Pyruvate de sodium	10g
-Chlorure de lithium	5g
-Agar	17g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau:** Gelose VRBL(pH7,4+/-0,2) (Conda).

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1 L</b>
-Lactose	10g
-Peptone	7g
-Chlorure de sodium	5g
-Extrait de levure	3g
-Sels biliaires	1,5g
-Rouge neutre	0 ,03g
-Cristal violet	0,002g
-Agar	15g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau :** Gélose Chapman (pH7, 4+/-0,2).

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1 L</b>
-Extrait de viande	1g
-Chlorure de sodium	5g
-Manitol	10g
-Rouge de phénol	25g
-Peptone	10g
-Agar agar	75g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau : Gélose M17 (pH 6,9+ /-0,2)**

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1 L</b>
-Peptone	20g
-Extrait de viande	2g
- Chlorure de sodium	2,5g
-Phosphate monopotassique	0,7g
-Phosphate dipotassique	0 ,3g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau : Gélose SS (pH 7,2).**

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1 L</b>
-Peptone	10g
-Lactose	10g
-Sels biliaires	6g
-Citrate de sodium	8,5g
-Citrate de ammoniacal	1g
-Thiosulfate de sodium	8,5g
-Rouge neutre	25g
-Vert brillant	0 , 33g
-Extrait de viande	5g
-Agar agar	13g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau : Gélose nutritive (pH 6,8 +/-0,2) (Liofilchem).**

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1L</b>
Extrait de bœuf	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar agar	15g

Autoclavage à 120 C°/30min

**Tableau :** Gélose EMB ( pH 7,1+/-0,2) (Liofilchem)

<b>Composition</b>	<b>La quantité pour 1L</b>
Peptone	10g
lactose	10g
Phosphate dipotassique	2g
eosine	0,4g
Bleu de méthylène	0,065g
Agar agar	15g

Autoclavage à 120 C°/30min

## Résumé

Notre thématique a pour objective la valorisation du lait de chèvre par la mise au point de deux fromages frais artisanaux issue de deux laits différents. Le premier fromage à base de lait cru a été obtenu par coagulation naturelle sans ajout d'enzyme et le deuxième qui est à base de lait stérilisé a été obtenu par ajout d'une combinaison de ferments lactiques qui sont : deux souche de *Lactobacillus* (8Lb et 16Lb) et un *Leuconostoc* (Lc).

Cette étude a débutée avec des analyse microbiologiques et physico-chimiques du lait cru pour s'assurer de sa bonne qualité et s'est poursuivis par la mise au point des fromage.

Les résultats des analyses microbiologiques et la mesure du pH des fromages a démontré que la charge de la flore lactique est de  $1.97 \times 10^7$  et  $2 \times 10^9$  respectivement pour le fromage frais au lait cru et au lait stérilisé et que les flores pathogène contenu dans ce dernier sont en concordance avec les valeurs des normes du J.O.R.A (1998). Ceci montre la bonne qualité de ces fromages frais.

**Mots clés :** Lait de chèvre, fromage frais de chèvre, *Lactobacillus* (8Lb et 16Lb), *Leuconostoc* (Lc), Bactéries Lactiques.

## Abstract

Our objective is to valorize goat's milk by developing two artisanal fresh cheeses from two different milks. The first raw milk cheese was obtained by natural coagulation without the addition of enzyme and the second was based on sterilized milk. It was obtained by adding a combination of lactic ferments which are: two strains of *Lactobacillus* (8Lb And 16Lb) and a *Leuconostoc*(Lc).

This study began with microbiological and physico-chemical analysis of raw milk to ensure its good quality and continued with the development of cheese.

The results of the microbiological analyzes and the pH measurement of the cheeses showed that the load of the lactic flora was  $1.97 \times 10^7$  and  $2 \times 10^9$  respectively for fresh cheese with raw milk and sterilized milk and that the pathogenic flora contained in it Consistent with the values of the JORA standards (1998). This shows the good quality of these fresh cheeses.

**Key words:** Goat milk, goat cheese, *Lactobacillus* (8Lb and 16Lb), *Leuconostoc* (Lc), Lactic bacteria.



# **Annexes**

# Synthèse bibliographique

# Partie pratique

# I. Matériel et Méthodes

## II. résultats et discussions

Conclusion

# Référence Bibliographique

# **Introduction**