



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKER BELKAID TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au
Biomédical et à l'environnement

« LAMAABE »

Mémoire de Master

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie fondamentale

*Analyse microbiologique de « Hakka » et
étude des fromages traditionnels*

Présenter par : *M^{elle} DOUDENE Wafaa* et *M^{elle} BENABDELOUAHED Siham*

Soutenu Octobre 2020

Devant le jury suivant :

Présidente	Dr BENSALAH Fatima Zohra	MCB	Université deTlemcen
Examineur	BOUALI Wafae	MCB	Université deTlemcen
Encadreur	BENDIMERAD Nahida	MCB	Université deTlemcen

Année universitaire

2019/2020

DEDICACES

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant À Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études.

Ce travail est dédié : Aux deux être les plus chers à mon cœur sur cette terre; ma mère, qui a su habilement guider mes premiers pas dans ce monde .Que Dieu la bénisse.

Et à mon chère père, dont le courage l'éducation ont fait de moi ce que je suis, Mon Seigneur allonge ma vie.

A mes chers sœurs : « Hanane », « Abir », cher frère « Boumedienne », Toute ma famille.

A tous mes amis (es).

« SIHAME »



DEDICACES

J'ai l'honneur de dédier ce travail réalisé grâce à l'aide de

Dieu tout puissant :

Aux personnes les plus chers à mon cœur ... Ceux qui ont toujours été à mes côtés, et qui m'ont toujours soutenu et cru en moi : à ma mère chérie, et mon père adoré. Que Dieu vous protège.

A mon frère « Abd El Wahab » qui m'a aidé, et qui m'a soutenu tout au long de ce travail. Et ma cousine « Amel » qui m'a vraiment aidé à réaliser ce mémoire.

A mon frère « Houcine », à ma sœur « Sara », et mon fiancé « Yassine ».

A tous ceux qui aiment « Wafaa ».





En premier, nous dédions tous nos remerciements à ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la santé, la volonté et le courage pour avoir réalisé ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur, Dr Nahida Bendimerad, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail.

Nos vifs remerciements sont adressés au Dr BENSALAH Fatima Zohra pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire.

Que BOUALI Wafae, trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour avoir bien voulu juger et examiner ce travail.

Nos sincères remerciements sont adressés à la doctorante Madame Karima Boumediene épouse Lakhel membre de l'équipe « Sécurité microbienne des aliments » du laboratoire LAMAABE d'avoir pris de son temps pour nous aider dans la partie pratique.

Et sans oublier de remercier nos chers parents, nos enseignants, et nos chers amis qui nous ont motivé et encouragé pendant toute notre carrière scolaire, ainsi toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.



TABLE DES MATIERES

Résumé	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
Introduction générale	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
<i>Chapitre I : Produits laitiers traditionnels Algériens</i>	
I.1. Principales catégories de produits laitiers traditionnels Algériens	3
I.1.1. Dérivés laitiers gras	3
I.1.1.1. Zebda (Beurre)	3
I.1.1.2. Smen	3
I.1.1.3. Shmen (Semma)	4
I.1.2. Boissons fermentés traditionnelles	4
I.1.2.1. Rayeb	4
I.1.2.2. Lben	4
I.1.3. Autres dérivés laitiers traditionnels	5
I.2. Fromages.....	6
I.2.1. Historique et origine	6
I.2.2. Définition du fromage	6
I.2.3. Fromages traditionnels Algérien	6
I.2.3.1. Fromages frais	7
I.2.3.1.1. Jben (Aguissi).....	7



I.2.3.1.2. Ighounane	8
I.2.3.1.3. Aghoughlou	8
I.2.3.1.4. Mechouna (Chnina)	8
I.2.3.1.5. Kemariya (Takemarite)	9
I.2.3.1.6. Klila	9
I.2.3.2. Fromages à pâte dure	10
I.2.3.2.1. Ioulsân (Aoules)	10
I.2.3.2.2. Takammart	10
I.2.3.3. Fromage affinée	10
I.2.3.3.1. Bouhezza	10
I.2.3.4. Fromage fondu	11
I.2.3.4.1. Medghissa	11
 <i>Chapitre II: Coagulants des fromages</i>	
II.1. Les enzymes coagulant animales : Présure	12
II.1.1. Historique	12
II.1.2. Définition	12
II.1.3. Les composants de la présure	13
II.1.3.1. La Chymosine	13
II.1.3.2. La Pepsine	14
II.1.4. Présure appartenant à d'autre animaux	14
II.2. Coagulants végétaux	15
II.3. Coagulants microbiens	16



II.3.1. Coagulants fongiques	17
II.3.2. Coagulants bactériens	17
<i>Chapitre III: La microflore du lait et produits laitiers</i>	
III.1. Microflore lactique du lait.....	18
III.1.1. Definition	18
III.1.2. Habitat.....	18
III.1.1. Principux genre des bacteries lactiques	18
III.2. Les microorganismes responsables d'altération.....	21
III.2.1. Les Coliformes	21
III.2.2. Bactéries Psychrotrophes	22
III.2.3. les champignons	22
III.2.3.1. Levure	22
III.2.3.2. Moisissure	23
III.3. Les bactéries pathogènes.....	24
III.3.1. <i>Esherichia coli</i>	24
III.3.2. Staphylocoque	24
III.3.3. Salmonella	25
III.3.4. Bacillus.....	26
III.3.5. Listeria	26
Partie II: Analyse microbiologique de HAKKA	
I. Hakka.....	28
I.1. Definition.....	28



I.2. Origine	28
I.3. Protocole de fabrication.....	28
I.4. Mode d'utilisationet protocole de fabrication du fromage	29
II. Materiels et methodes	29
II.1. Analyse microbiologique de Hakka.....	29
II.1.1. Echantillonnage	29
II.1.2. Preparation des dilutions decimales	30
II.1.3. Recherche et denombrement de la microflore de Hakka	31
III. Resultats.....	32
IV. Conclusion.....	32
Partie III: Analyse d'articles	
Article 01 : Caractéristiques chimiques et microbiologiques des fromages frais de chèvre traditionnels du nord du Maroc	35
Methodologie	35
1. Fabrication du fromage	35
2. Echantillonnage	36
3. Analyse microbiologique	37
4. Isolement et identification des LAB	38
5. Analyse statistique	39
Article 02 : Caractéristiques microbiologiques de Batzos, un fromage grec au lait cru de chèvre	40
Methodologie	40
1. Fabrication du fromage	40



2. Echantillonnage	41
3. Analyse microbiologique	41
4. Isolement et purification des LAB	42
5. Analyse chimique	43
6. Analyse statistique	44
Resultats et discussions	45
Article 01	45
Article 02	50
Conclusion générale	60
Références bibliographiques	61
Annexes	71



Résumé

A l'inverse du fromage industriel qui se fabrique dans les grandes villes, le fromage traditionnel sa fabrication se limite dans les milieux ruraux ,ou sous la tente des nomades du grand Sahara Algérien.

Ainsi pour le fabriquer, les villageois et les nomades utilisent le lait de leurs troupeaux de chèvre et de brebis et une enzyme coagulante qu'ils fabriquent eux même avec l'estomac d'agneau ou de chevron et qui remplace la présure , elle est appelée Hakka .

Dans ce contexte l'objectif de notre travail été de faire des essais de fabrication d'un fromage traditionnel « Jben » avec « Hakka » en étudiant la variation du pH et l'acidité en fonction de la concentration de Hakka utilisé. Cette étude devait s'étaler sur l'analyses physico-chimique et organoleptique du fromage et l'analyse microbiologique de Hakka et des fromages obtenus. Malheureusement, vu l'état sanitaire qu'a connu notre pays et le monde entier, le travail s'est arrêté tout juste après l'analyse microbiologique de Hakka.

Ainsi pour compléter notre étude, nous avons analysé deux articles qui traitent l'analyses physicochimique, microbiologique de deux fromages traditionnels, l'un fabriqué dans le Nord du Maroc et l'autre en Grèce.

Les résultats des analyses des deux échantillons de Hakka ont révélé la présence de bactéries lactiques. Aussi la présence de Levures et Moisissures avec un taux élevé. Les germes de contamination fécale comme les Coliformes sont absents. Parmi les bactéries pathogènes Salmonella et Clostridium sont absents aussi, alors que Bacillus et Staphylocoques sont présents.

Concernant les deux articles, les résultat sont montré que les bactéries lactiques sont très nombreuses surtout les entérocoques dans le fromage Marocain, ainsi que les Levures, les bactéries mésophiles, les Entérobactéries comme les Coliformes et les germes pathogène comme Listéria, alors que Salmonalla et Staphylocoques sont absents. Dans le fromage Grec les bactéries lactique ont permis l'inhibition des Entérobactéries comme les Coliformes et la flore pathogène comme Staphylococcus durant la période de maturation et de stockage. Cette flore lactique a été bénéfique aussi dans les caractères organoleptiques du fromage.

Mots clés : Fromage, Hakka ,analyses, bactérie lactique,flore pathogène.



Abstract

Unlike industrial cheese which is made in big cities, traditional cheese its production is limited in the houses, of the mountains of the great Kabylie and other mountains of the country, or under the tent of the nomads in the big Algerian Sahara.

So to make it, the villagers and the nomads use the milk of their herds of goats and sheep and a coagulating enzyme that they make themselves with the stomach of lamb or chevron and which replaces rennet, it is called Hakka.

In this context, the objective of our work was to test the production of a traditional “Jben” cheese with “Hakka” by studying the variation in pH and acidity depending on the concentration of Hakka used. This study was to cover the physico-chemical and organoleptic analyzes the cheese and the microbiological analysis of Hakka and the cheeses obtained. Unfortunately, given the state of health in our country and the world, the stopped shortly after Hakka’s microbiological analysis.

So to complete our study, we analyzed two articles that deal with the physicochemical, microbiological analyses of two traditional cheeses, one made in northern Morocco and the other in Greece.

The results of the analyzes of the two samples of Hakka revealed the presence of lactic acid bacteria. Also the presence of yeasts and molds with a high rate, Faecal contamination germs such as Coliforms are absent. Among the pathogenic bacteria Salmonella and Clostridium are also absent, while Bacillus and Staphylococci are present.

Regarding the two articles, the results showed that lactic bacteria are very numerous, especially Enterococci in Moroccan cheese, as well yeasts, mesophiles, Enterobacteria such as Coliforme and pathogenic germs such as Listeria, while Staphylococci are absent. In Greek cheese, lactic acid bacteria allowed the inhibition of Enterobacteriaceae such as Coliforme and pathogenic flora such as Staphylococcus during the period of maturation and storage. This lactic flora was also beneficial in the organoleptic characteristics of the cheese.

Keywords: Cheese, Hakka, analyzes, lactic bacteria, pathogenic flora.



ملخص

على عكس الجبن الصناعي الذي يصنع في المدن الكبرى ، فإن إنتاج الجبن التقليدي محدود في منازل جبال منطقة القبائل العريقة وجبال أخرى في البلاد ، أو تحت خيمة البدو في الصحراء الجزائرية الكبرى.

و لتحقيق ذلك, يستخدم القرويون و البدو حليب من الماعز الأغنام و إنزيم التخثر الذي يصنعونه بأنفسهم من معدة الحمل والجدي و الذي يحل محل المنفحة, يطلق عليه اسم "الحكة "

في هذا السياق كان الهدف من عملنا اختبار إنتاج جبن "الجبن" التقليدي مع "الحكة" من خلال دراسة التباين في درجة الحموضة اعتمادا على تركيز الحكة المستخدمة.هدفت هذه الدراسة إلى تغطية التحليلات الفيزيائية و الكيميائية و الحسية للجبن و التحليل الميكروبيولوجي للحكة و الجبن المتحصل عليه. لسوء الحظ, نظرا للحالة الصحية في بلدنا و العالم, توقف العمل مباشرة بعدا لتحليل الميكروبيولوجي للحكة.

لاستكمال دراستنا, قمنا بتحليل مقالتين التي تتضمن معالجة التحليلات الفيزيائية و الكيميائية و الميكروبيولوجية للجبن التقليدي , احدهما مصنوع في شمال المغرب و الآخر في اليونان .

كشفت نتائج تحاليل العينتين " للحكة " عن وجود بكتيريا حمض اللاكتيك .أيضا وجود الخمائر و القوالب ذات النسبة العالية. و كذلك البكتيريا المسببة للتلوث البرازي مثل Coliformes fécaux غير موجودة. من بين البكتيريا المسببة للأمراض Selmonella و Clostridium أيضا, في حين أنا العصيات Bacillus و المكورات العنقودية Staphylocoque موجودة .

فيما يتعلق بالمقالتين,أظهرت النتائج أن بكتيريا اللاكتيك كثيرة للغاية ,خاصة المكورات المعوية les Enterococoques في الجبن المغربي. و كذلك الخمائر, الميسوفيل ,و البكتيريا المعوية مثل القولونيات les Entérobactéries و البكتيريا المسببة للأمراض مثل الليستيريا Listeria , بينما السالمونيلا les Salmonelles و المكورات العنقودية Staphylocoque غائبة في الجبن اليوناني ,سمحت بكتيريا حمض اللاكتيك بتثبيط بكتيريا Enterobactereacea مثل القولونيات les Coliformes و البكتيريا الممرضة مثل Staphylococcus خلال فترة النضج و التخزين .كانت هذه البكتيريا اللبنية مفيدة أيضا في الخصائص الحسية للجبن .

الكلمات المفتاحية: الحكة, بكتيريا الممرض, البكتيريا اللبنية, التحاليل,الجبن.



Liste des tableaux

Tableau 01: Microorganismes recherchés dans les deux échantillons de Hakka	31
Tableau 02: Résultats du dénombrement des Coliformes fécaux dans Hakka	32
Tableau 03: Condition de fabrication des fromages de chèvre frais du Nord-Maroc recueilli dans la présente étude	36
Tableau 04: Liste des paires d'amorces utilisées pour l'amplification PCR spécifique, le protocole PCR optimisé et les produits PCR attendus.....	39
Tableau 05: Les différents germes recherchés dans le fromage Batzos.....	42
Tableau 06: Tests réalisés pour l'identification phénotypiques des isolats des germes du fromage Grec Batzos	43
Tableau 07: Nombre (en log UFC/g) des principaux groupes microbiens (moyenne \pm sd) dans le fromage frais de chèvre du Nord Marocain	46
Tableau 08: Identification des isolats des bactéries lactiques obtenus à partir de fromages de chèvre frais du Nord-Maroc	48
Tableau 09: Valeurs du pH, de l'humidité et du NaCl pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos fabriqué à partir de lait de chèvre cru en hiver, printemps et été	50
Tableau 10: Charge trouvée des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir du lait cru de chèvre en hiver.....	51
Tableau 11: Taux trouvés des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir du lait cru de chèvre au printemps.....	52
Tableau 12: Valeurs trouvées des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir de lait de chèvre cru en été	52
Tableau 13: Variation saisonnière (nombres d'isolats du milieu MRS et %) chez les espèces de LAB isolé du fromage Batzos tout au long de l'affinage	57



Liste des figures

Figure 01: Schéma globale illustratif des procédés de fabrication des principaux produits laitiers et fromages traditionnels algérien	2
Figure 02: Dérivés laitiers traditionnels Algérien	3
Figure 03: ‘Chekoua’ : Outre en peau de Brebis/Chèvre	5
Figure 04: Principales catégories des fromages traditionnels Algérien	7
Figure 05: Fromages Frais Traditionnel (Jben).....	8
Figure 06: Fromage Michouna.....	9
Figure 07: Fromage Bouhazza avec son assaisonnement en poudre de piment rouge.....	11
Figure 08: Caillette de Chevreau.....	13
Figure 09: Structure en éponge de la micelle de caséine.....	14
Figure 10: Fleurs du chardon	16
Figure 11: Ficine (sève du figuier)	16
Figure 12: Papaine (feuilles de papaye)	16
Figure 13: Broméline (tige de l'ananas).....	16
Figure 14: Lactobacillus	19
Figure 15: Lactococcus	19
Figure 16: Streptococcus	20
Figure 17: Enterococcus	20
Figure 18: Bifidobacterium.....	21
Figure 19: Genre Coliforme.....	22
Figure 20: Levures.....	23
Figure 21: Moisissures	23



Figure 22: <i>Esherichia coli</i>	24
Figure 23: Staphylococcus	25
Figure 24: Salmonella.....	26
Figure 25: Bacillus	26
Figure 26: Lesteria.....	27
Figure 27: Echanillons 01 Hakka	30
Figure 28: Echanillons 02 Hakka	30
Figure 29: Les dilutions décimales.....	30
Figure 30: Dénombrement de la flore total, levures, moisissures dans les 2 échantillons de Hakka	32
Figure 31: Dénombrement des Lactobacilles et Lactocoque dens les 2 échantillons de Hakka	33
Figure 32: Dénombrement de la flore pathogène (Bacillus,Salmonella,Clostriduim , Entero bacteries et Staphylocoque.....	33
Figure 33 : Protocole de fabrication du fromage du Nord-Maroc	36
Figure 34 : Protocole de fabrication du fromage du Grec Batzos.....	41



***Introduction
générale***



En Algérie, les fromages traditionnels sont nombreux comme : Bouhezza, Klila, Medghissa, etc.... et sont connus dans différentes régions du pays. Ils sont entourés d'un savoir-faire ancestral transmis à travers les générations. Beaucoup d'entre eux sont produits seulement dans des zones géographiques restreintes et consommés localement ; d'autres, ont dépassé les limites de leurs localités, voir celles de leur pays d'origine comme le « Jben » (Mordenti et al., 2017 ; Grappin et Coulon, 1996).

Ces fromages sont produits selon un protocole traditionnel à partir du lait cru de vache, de chèvre ou de brebis. Le lait subit une coagulation par l'action d'une enzyme de nature végétal comme la fleur du chardon ou le latex du figuier, ou de nature animal comme la présure. La présure connu mondialement est fabriquée et appliqué industriellement. Il existe une présure à l'échelle artisanale appelée « Hakka » obtenu à partir de la caillette de l'agneau ou chevreau et qui sert à la fabrication des fromages Algériens traditionnels.

A notre connaissance il y a très peu ou aucun travail sur « Hakka », pour cela nous nous sommes intéressé à faire une étude sur ce genre de présure traditionnelle

L'objectif de notre étude était de faire dans un premier temps l'analyse microbiologique puis physico-chimique de Hakka puis dans un deuxième temps on voulait faire des essais de fabrication de fromage traditionnels type « Jben » en utilisant « Hakka » à différentes concentration, tout en contrôlant le temps et la température de coagulation qui vari avec le pH et l'acidité du fromage obtenu .

Malheureusement ce travail n'a pas pu se réaliser jusqu'au bout, vu la pandémie qui a touché toute l'humanité. Ainsi nous nous somme arrêté à l'analyse microbiologique de deux échantillons de Hakka.

Pour compléter ce travail, nous avons analysé deux articles qui parlent de deux fromages traditionnels, l'un d'origine Grec et l'autre du Nord du Maroc. Il s'agit d'une étude statistique, microbiologique et physico-chimique des fromages.



Partie I
Synthèses bibliographiques



Chapitre I

Produits laitiers traditionnels Algériens



L'Algérie dispose bel et bien de traditions avérées de fabrication de produits laitiers, même si l'activité est limitée à la sphère domestique. Produits ancrés dans le patrimoine culturelle, médicinale et économique, les produits laitiers traditionnels sont historiquement le produit du dynamisme socio économique-culturel des communautés rurales féminines (Claps et Morone, 2011).

En Algérie la fabrication de produits laitiers fermentés est essentiellement artisanale. Les produits laitiers traditionnels algériens ont été peu caractérisés. Ils sont semblables à certains produits laitiers largement consommés dans beaucoup de pays méditerranéens et sub-sahariens (Benkerroum, 2013). Le lait fermenté et fromages sont fabriqués traditionnellement le plus souvent par les femmes à la maison (Medouni et al, 2005) et servent à l'autoconsommation, le surplus pouvant être vendu (Bencharif, 2001). Plusieurs produits traditionnels sont en voie de disparition pour différentes raisons, comme la non disponibilité fourragère, l'exode rural et le changement des habitudes alimentaires (Aissaoui, 2006 ; Khaledi et al, 2006).

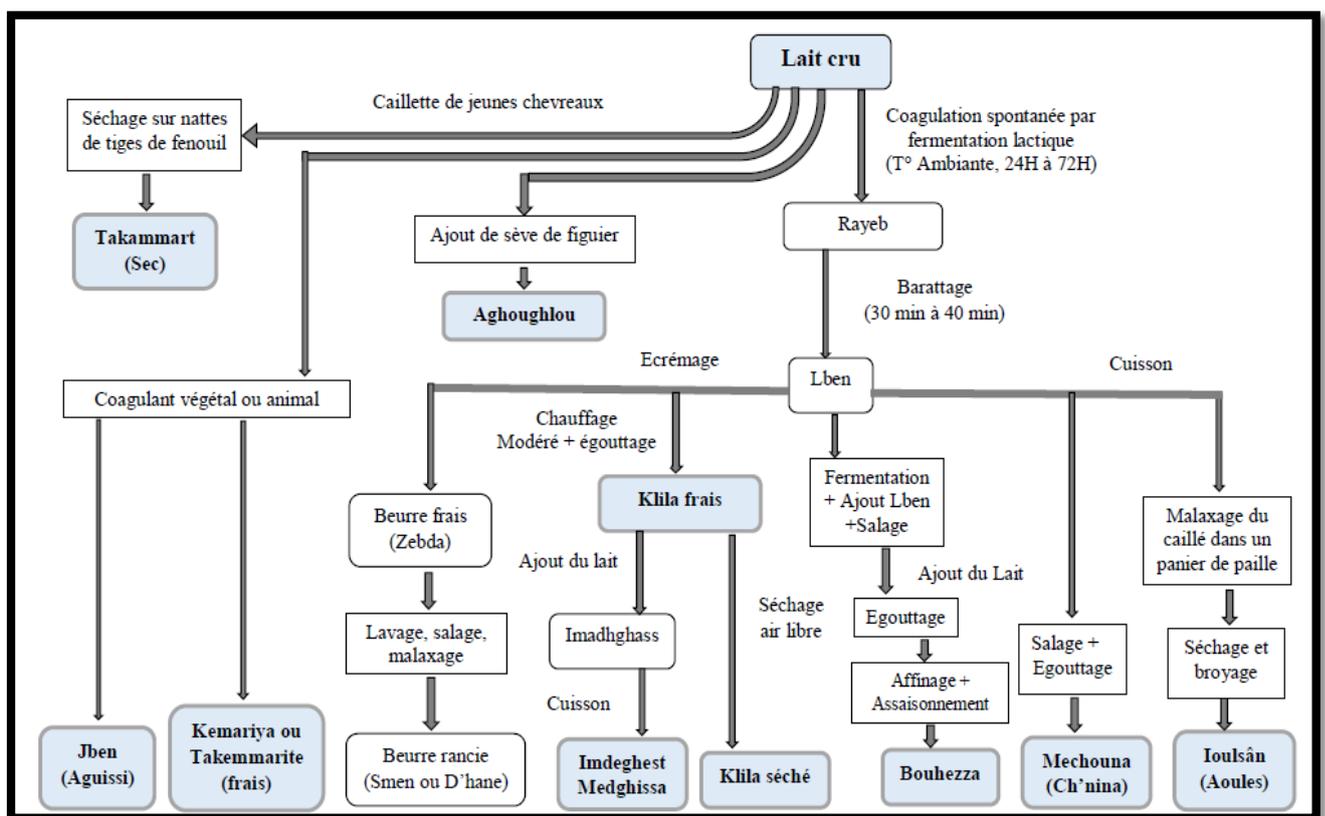


Figure 01 : Schéma globale illustratif des procédés de fabrication des principaux produits laitiers et fromages traditionnels algériens (Choubaila, 2018).



I.1. Principales catégories de produits laitiers traditionnels algériens

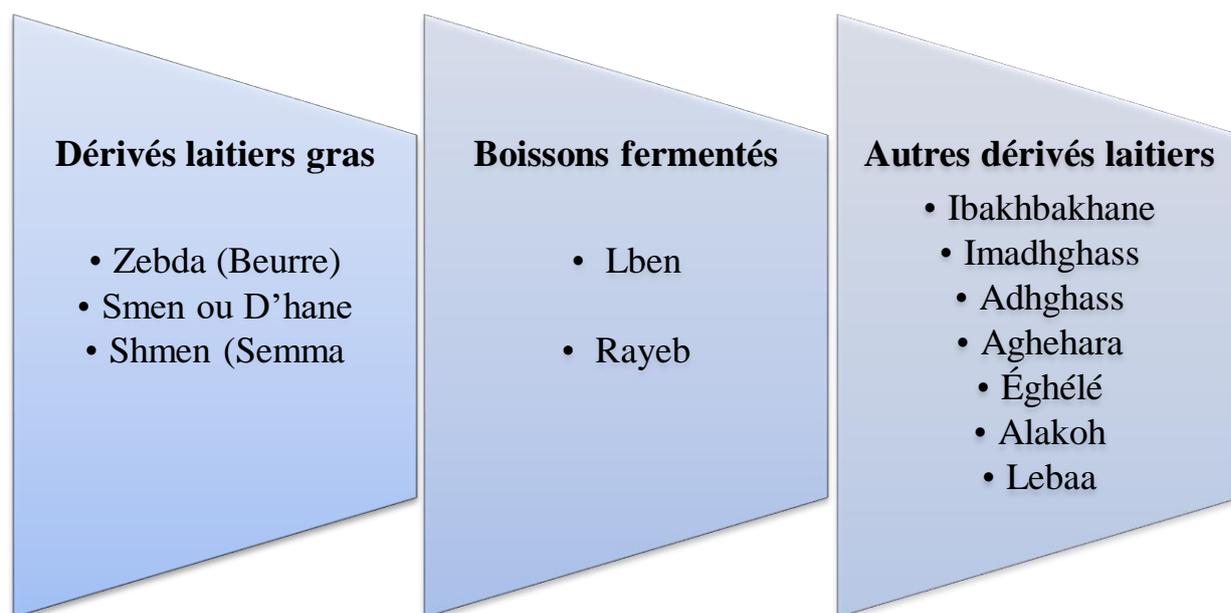


Figure 02 : Dérivés laitiers traditionnels algériens

I.1.1. Dérivés laitiers gras

I.1.1.. Zebda (Beurre)

Le beurre frais Zebda est obtenu après barattage du lait caillé Rayeb, ce dernier est progressivement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50 °C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules gras et accroître le rendement en beurre. Les globules lipidiques apparaissant en surface, et ils sont récupérés à la fin du barattage (Bellakhdar, 2008 ; Camps, 1984). Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de sa forte concentration en eau (Benkerroum, 2013).

I.1.1. 2. Smen

Le surplus de beurre produit est transformé en beurre rancie Smen par lavage du beurre frais à l'eau tiède, saumurage, puis salage à sec (saupoudrage à la surface ; 8à10g/100g) (Benkerroum et Tamime, 2004). Ce produit est un dérivé laitier gras populaire dans les pays du Maghreb notamment l'Algérie (Camps, 1984), et le Maroc (Tantaoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987).



I.1.1.3. Shmen (Semma)

Le Shmen ou Semma est une huile de beurre clarifié obtenue par barattage du lait de chamelle spontanément acidifié (FAO, 1990). Le beurre est ensuite bouilli, clarifié après l'ajout d'un agent de clarification (par exemple, les dates écrasées) et écrémé après floculation des impuretés. Il est utilisé par les Touaregs du Sahara algérien pour la préparation d'aliments ou à des fins cosmétiques (Kacem et Karam, 2006).

I.1.2. Boissons fermentés traditionnelles

I.1.2.1. Rayeb

Le Rayeb est un lait fermenté produit dans de nombreux pays méditerranéens et subsahariens (Béal et Sodini, 2012 ; Harrati, 1974). Il est traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante de lait cru durant une période variant de 24h à 72h selon la saison (Bendimerad, 2013). La fermentation est associée à des bactéries lactiques mésophiles appartenant aux *Leuconostocs* et aux *Lactocoques* présents naturellement dans les laits cru (Guizani et al, 2001 ; Benkerroum et al, 2004). Contrairement au L'ben, le Rayeb ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier. Le Rayeb est un produit qui n'aura aucun traitement thermique préalable (Abid, 2015).

I.1.2.2. Lben

Le Lben est un des dérivés laitiers le plus connu dans la transformation artisanale du lait. Il est largement consommé en Algérie.

C'est du lait débarrassé de sa crème, et qui a subi ensuite une fermentation lactique. L'acide lactique à la propriété, lorsqu'il se forme en excès, d'assurer la coagulation de la caséine du lait. Cette coagulation est d'autant plus active que la température ambiante est plus élevée (Djoughri et Madani, 2015). Le caillé obtenu est introduit dans la *Chekoua* où il subit une forte agitation ou barattage, (Belbeldi, 2013). Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau tiède (environ 10% du volume du lait), de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (Ouadghiri, et al. 2009 ; Benkerroum et Taamime, 2004). Le Lben est l'ingrédient de base pour la fabrication d'un autre dérivé laitier, un fromage traditionnel dénommé Klila.





Figure 03 : '*Chekoua*' : Outre en peau de Brebis/Chèvre (Camps, 1984)

I.1.3. Autres dérivés laitiers traditionnels

- ❖ **Ibakhbakhane**, originaire de la région des Aurès, il est produit à partir d'une mixture de Frik d'orge immature (Marmez) et de Lben, soumis à une fermentation à des températures inférieures à 20 °C par immersion dans un puit pendant 2 à 5 jours (Bendimerad, 2013).
- ❖ **Imadhghass** est produit dans la région des Aurès à partir d'une mixture de Klila fraîche et de lait frais. Il est consommé comme un dessert.
- ❖ **Adhghass** est produit également dans la région des Aurès, il est fabriqué à partir d'un mélange de colostrum et d'œufs qui est ensuite cuit (Bendimerad, 2013).
- ❖ **Aghehara ou l'aghgera**, est une boisson très consommée par les nomades sahariens, composée d'un mélange de fromage Klila, d'une mouture de céréales, du piment, des dattes et de l'eau.
- ❖ **Éghélé**, est de l'aghgera additionnée de lait baratté.
- ❖ **Alakoh**, C'est une boisson composée d'eau, de poudre de dattes et d'un peu de fromage Klila en poudre (Camps, 1984).
- ❖ **Lebaa**, La matière première est le colostrum, parfois il est mélangé avec des œufs, il est salé puis bouillit pendant 15 min environ. (Djoughri et Madani, 2015).



I.2. Fromages

I.2.1. Historique et origine

Non seulement le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage, de l'ancien français « fromage » (du latin formaticus, c'est-à-dire fait dans une forme) (Vignola et al, 2002).

La découverte du fromage fut probablement le fait du hasard. On sait grâce à des découvertes archéologiques qu'il se fabrique du fromage depuis les origines de l'élevage, il y a environ 8000 ans (Bendimerad, 2013). Les premières traces d'élevages laitiers remontent à 10 000 ans au Moyen-Orient, les laits de brebis et de chèvre furent apparemment les premiers laits transformés, les ovins et les caprins ayant été les premiers animaux domestiqués (Vilain, 2010).

I.2.2. Définition du fromage

Selon la norme (Codex STAN 283-1987), le fromage est le produit affiné ou non affiné (frais) , de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum /caséines ne dépasse pas celui du lait.

La teneur minimale en matière sèche (MS) du produit ainsi défini doit être de 23 g pour 100 g de fromage (Fredot, 2006). On l'obtient par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation (Eck, 1997).

A l'échelle mondiale, il existe environ 1000 variétés de fromages différents (Irlinger et Mounier, 2009).

I.2.3. Fromages traditionnels Algériens

Le fromage est le groupe le plus important et diversifié de produits laitiers, leurs productions artisanales est fortement liée au terroir (Hallel, 2001). Ils se répartissent en quatre principales catégories à savoir : les fromages frais, les fromages affinés, les fromages fondus et les fromages durs.



Fromages frais	Fromages durs	Fromage affiné	fromage fondus
<ul style="list-style-type: none"> • Jben (Aguissi) • Ighounane • Aghoughlou • Mechouna (Chnina) • Kemariya (Takemmarite) • Klila frais 	<ul style="list-style-type: none"> • Ioulsân (Aoules) • Takammart • Klila séché 	<ul style="list-style-type: none"> • Bouhezza 	<ul style="list-style-type: none"> • Medghissa

Figure 04 : Principales catégories des fromages traditionnels algériens

I.2.3.1. Fromages frais

I.2.3.1.1. Jben (Aguissi)

C'est un fromage frais, traditionnel connu est fabriqué depuis fort longtemps dans les pays du Maghreb. Cette dénomination regroupe des trajectoires technologiques très différentes qui aboutissent à des produits aux caractéristiques très variées (Boudjaib, 2013 ;Benkerroum et Tamime 2004).

Traditionnellement, le fromage appelé « Jben » est fabriqué avec du lait cru de brebis, de chèvre ou de vache, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus L*), ou d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut (*Cynara scolymus*), ou alors du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (Nouani et al, 2009).

Le Jben peut aussi être fabriqué sans coagulation du lait par voie enzymatique ; dans ce cas, le lait cru est seulement coagulé par acidification spontanée, puis le caillé est égoutté pendant 2 à 3 jours pour obtenir la consistance désirée. Des additifs peuvent être ajoutés après égouttage et salage (ail, persil, poivre,.....). Le fromage obtenu correspond dans d'autres pays arabes au fromage nommé Jibneh Beida (Benkerroum et Tamime (2004).

Enfin un troisième procédé technologique, le Jben peut aussi être obtenu par coagulation enzymatique en utilisant une présure extrait à partir de la caillette de veau de chèvre ou de brebis. Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu



peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques (Djoughri et Madani, 2015).



Figure 05 : Fromages Frais Traditionnel (Jben).(Bouadjaib.,2013)

I.2.3.1.2. Ighounane

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

I.2.3.1.3. Aghoughlou

Fromage fabriqué en Kabylie, il est obtenu à partir de lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier (*Ficus carica*), le caillé obtenu est consommé frais.

I.2.3.1.4. Mechouna (Chnina)

Le Mechouna est un fromage à l'origine préparé avec du lait de chèvre, mais actuellement le lait de vache est fréquemment utilisé. Il peut être considéré comme un fromage frais à pâte molle.

Le procédé commence par un traitement thermique du lait jusqu'à ébullition, ensuite on ajoute une quantité de Lben salé, égale à la moitié de celle du lait. L'ensemble est chauffé une deuxième fois jusqu'à coagulation et séparation du caillé du lactosérum. Le caillé est séparé du lactosérum par filtration à travers une passoire, puis mis dans un tissu (mousseline)



et suspendu pour égouttage jusqu'à élimination totale du lactosérum. Pour s'assurer que l'égouttage est complet, cette opération est suivie par un pressage (Derouiche et Zidoune, 2015 ; Benkheniche et Kaya, 2013). Le fromage est récupéré et gardé dans des récipients en verre au frais, sa conservation ne doit pas dépasser 6 jours. Pour agrémenter son goût il peut être épicé selon le choix des consommateurs ; dans ce cas le Mechouna est dénommé Chnina (Lemouchi, 2007).



Figure 06: Fromage Michouna

I.2.3.1.5. Kemariya (Takemarite)

C'est un fromage traditionnel produit principalement à partir de lait de chèvre, Il est coagulé par des présures végétales ou animales, cependant il peut être aussi fabriqué à partir de lait de vache et de chamelle (Nouani et al, 2009).

La Kemariya ou Takemarite est fabriqué selon des procédés traditionnels dans les régions du M'zab (Bousnane et Djadi, 2009), notamment dans la wilaya de Ghardaia. Il est consommé souvent en dessert durant les périodes de fêtes arrosé de miel, garni de cacahuètes et servi avec du thé à la menthe. Il est à noter que le fait de la forte demande de ce fromage. Il est de plus en plus produit par des populations maghrébines, selon des processus semi industriels pour être commercialiser aussi bien sur les marchés traditionnels qu'au niveau de certaines grandes surfaces du nord algérien (Bendimerad, 2013).

I.2.3.1.6. Klila

Pour éviter sa dégradation durant la phase de stockage, le Lben est chauffé modérément (55 °C - 75 °C) jusqu'à la séparation du lactosérum. Le coagulum obtenu, appelé



Klila, fabriqué dans plusieurs régions de l'Algérie, est consommé comme un fromage frais après égouttage naturel (Harrati, 1974).

Le fromage Klila peut également être découpé puis séché (de 2 à 15 jours selon la saison), et ensuite utilisé après réhydratation comme un ingrédient dans des préparations culinaires. Sous sa forme déshydratée, il peut être conservé plusieurs années à température ambiante, dans des jarres en terre cuite ou des sacs en peau de chèvre ou brebis (Denis, 1989 ; Camps, 1984 ; Ben Danou, 1929 ; Duval, 1855).

I.2.3.2. Fromages à pâte dure

I.2.3.2.1. Ioulsân (Aoules)

L'Aoules, ou Ioulsân, est un fromage traditionnel algérien de la région du Hoggar (Tamanrasset), préparé par les Touaregs ou Ihaggarren. C'est un fromage sec typique (87% à 92% de matière sèche), obtenu par le chauffage modéré du Lben écrémé issu de lait de chèvre, coagulé spontanément. Le chauffage est fait dans un récipient en argile jusqu'à la précipitation des caséines. Le précipité est étendu dans un panier de paille et le caillé est malaxé en petite quantité pour donner la forme de petites galettes (2 cm d'épaisseur, 6 à 8 cm de diamètre) (FAO, 1990). Le fromage est ensuite séché au soleil, broyé et peut être mélangé avec de la pâte de dattes ou avec les boissons (Benkerroum, 2013).

I.2.3.2.2. Takammart

Littéralement 'Fromage' en langue Tamahaq (Touareg), le Takemmart est un autre fromage de la région désertique du Hoggar (Tamanrasset), il est produit par l'introduction d'un morceau de caillette de jeunes chevreaux dans le lait. Le caillé obtenu est retiré à l'aide d'une louche et déposé et pétri en galettes sur des nattes à base de tiges de fenouil lui conférant un goût anisé. Les nattes sont, par la suite, exposées au soleil pendant deux jours puis placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage (Mahamedi, 2015). Le fromage peut subir un affinage durant un mois (Abid, 2015).

I.2.3.3. Fromage affinée

I.2.3.3.1. Bouhezza

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, des régions de l'est algérien Chaouia (Oum el Bouaghi, Khenchela, Batna etc....) jadis réputées par une pratique importante de l'élevage extensif des caprins et des ovins. En effet, à l'origine, le Bouhezza



était le produit de la transformation du lait de chèvre et de brebis, toutefois la tendance actuelle semble s'orienter vers l'utilisation du lait de vache (Aissaoui, 2014 ; Lemouchi, 2007 ; Aissaoui, 2004).

Le fromage est obtenu après transformation du Lben dans une outre (*Chekwa*) fabriquée à partir de peau de chèvre préalablement traitée avec du sel et du genièvre (Aissaoui, 2014). L'égouttage, le salage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans l'outre pendant une durée de 2 à 3 mois. Au cours de la période d'affinage, du Lben et du lait sont rajoutés au contenu de l'outre. Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne un gout particulier (Aissaoui, 2004). Le fromage sous la forme de pâte sera consommé en tartine ou une fois déshydraté sera utilisé pour préparer des sauces pour des plats traditionnels (Aissaoui et al, 2012).



Figure 07 : Fromage Bouhazza avec son assaisonnement de piment rouge (Aissaoui et al, 2012).

I.2.3.4. Fromage fondu

I.2.3.4.. Medghissa

C'est un fromage fondu de la région des Aurès préparé par la cuisson de Klila frais ou semi séché dans le lait entier de vache, chèvre ou de brebis, sur feu doux. La Medghissa est consommée comme goûter et appréciée pour son élasticité (Khoualdi, 2017).



Chapitre II
Coagulants des fromages



La production fromagère constitue un secteur industriel très dynamique puisque dans l'ensemble du monde, elle n'a cessé de croître depuis plus de vingt ans (Lenoir et al, 1985). Les enzymes coagulantes sont une nécessité absolue pour la production de fromages. Ces coagulants sont des préparations d'enzymes protéolytiques (Jacob et al, 2011; Shah et al, 2014) et sont de différentes sources : animale, microbienne, végétale et, depuis peu, issues de modifications génétiques.

II.1. Coagulant d'origine animale : Présure

II.1.1. Historique

Il ya environ 7000 ans, le lait était transporté dans des sacs. Ces sacs appelés *Outres*, étaient fait avec l'estomac de certains animaux. Or, un voyageur de cette époque qui décida de se rafraichir avec le lait qu'il transportait, eu la surprise de découvrir que le lait s'était transformé en une substance semi solide. Intrigué et affamé, il gouta le contenu de son outre et ne trouva pas ça mauvais du tout, il venait de découvrir le fromage.

Ainsi nous savons depuis ce temps-là qu'une substance contenue dans l'estomac des jeunes ruminants fait cailler le lait. En fait, cette substance s'appelle la présure (Belhamiche 2005).

II.1.2. Définition

La présure de veau est la préparation coagulante la plus utilisée pour la coagulation du lait (Alais, 1984; Wigley, 1996). Elle est l'extrait provenant de la troisième poche de l'estomac appelée *abomasum* ou caillette de jeunes ruminants abattu avant sevrage (Veisseyre, 1979).

Chez les jeunes bovidés, la présure qui contient essentiellement de la Chymosine a pour fonctionnalité conjointe de coaguler le lait. La production stomacale d'acide chlorhydrique, dans un premier temps active la prochymosine et le pepsinogène sécrétés par les glandes stomacales en Chymosine et pepsine, et favorise dans un deuxième temps l'activité de ces enzymes qui sont des protéases acides (Collin, Coord, 2015).

En Algérie l'industrie fromagère a utilisé durant la période 1997-2001, 4.324Kg de présure et ses concentras, soit un cout de l'ordre de 16 millions de DA (Rapport des statistiques du commerce extérieur, 2001).





Figure 08 : Caille de Chevreau (Benderwich, 2009)

II.1.3. Les composants de la présure

II.1.3.1. La Chymosine

La Chymosine est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale (Ramet, 1997). Elle est stable entre pH 5 et 6. Sa température optimale d'action est voisine de 40°C. (Lenoir et al, 1985 ; Scriban, 1993). Elle appartient à la famille des endopeptidases, protéases agissant à l'intérieur des chaînes polypeptidiques.

Le principal rôle de la Chymosine dans la production du fromage est l'hydrolyse spécifique du lien Phe105- Met 106 de la caséine K, ce qui résulte en une déstabilisation de la micelle de caséine. Cette hydrolyse donne lieu à deux composés, la paracaséine K et le caséinoglycopeptide oucaséinomacropéptide (CMP). La paracaséine K reste liée aux caséines α et β dans la micelle hydrophobe. Lorsque le CMP est libéré de la surface des caséines et passe dans le lactosérum, il se produit une diminution importante de la charge électrique et de l'hydratation des micelles. Les micelles sont donc déstabilisées, ce qui conduit à leur agrégation. Cependant cette activité protéolytique se manifeste aussi sur toutes les protéines au cours de l'affinage du fromage (Ilboudo et al, 2012), (Ramet, 1993), (Talentikite-Kellil, 2015).



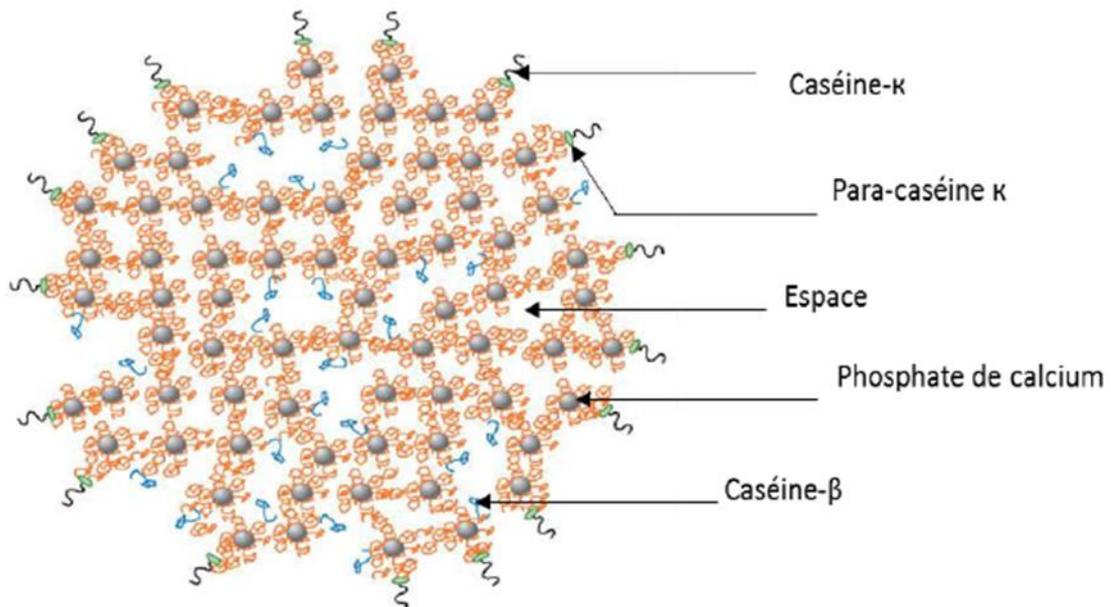


Figure 09: Structure en éponge de la micelle de caséine (Dalgleish & Corredigh, 2012).

II.1.3.2. La pepsine

La pepsine est le constituant mineur de la présure (Ramet, 1997). 20% de l'activité coagulante est assurée par la pepsine dans la fabrication fromagère (Cheddar, Emmental...). À l'opposé de la Chymosine, la pepsine possède une activité protéolytique élevée et une faible activité coagulante (Alais, 1984). D'après Ramet, (1997), la pepsine est relativement stable à des pH compris entre 5 et 5,5.

II.1.4. Présure appartenant à d'autres animaux

Les présures provenant d'animaux comme le chameau, la chèvre, l'agneau, et le buffle ont été étudiées et caractérisées afin de remplacer la présure bovine. Toutefois, elles ne sont pratiquement pas utilisées au niveau industriel, car ces enzymes présentent des propriétés enzymatiques moins intéressantes en comparaison à celle de la présure bovine (Almeida et al, 2015; Yegin et Dekker, 2013).

- La pepsine porcine en mélange avec la présure bovine, permet d'obtenir de meilleurs résultats dans la fabrication du fromage acide (Ramet, 1990).
- L'utilisation de la pepsine du lapin, comme agent susceptible de remplacer la présure, a été rapportée par Abd-EL-Rahman et al, (1990).
- Les caillottes d'ovins constituent une source potentielle de pepsine qui peut être substitué en partie à la présure. En effet, l'étude menée par Slamani en 2002 a fait



ressortir que les caractéristiques de la pepsine ovine se rapprochent à celles de la pepsine bovine.

- L'obtention de la pepsine à partir de l'estomac de divers poissons en l'occurrence le mérrou, le merlan et le limon a été également réalisée. Dans ce contexte, les travaux de Nouani et al en 2002 ont porté sur l'utilisation de l'extrait coagulant du merlan dans la fabrication de fromage de type Edam ; cet extrait a donné, dans une première étape, un bon coagulum. Dans une étude similaire, Machou (2004) a noté que le comportement de la pepsine de limon (*Serioladumerili*) diffère très peu de celle de la présure traditionnelle.
- L'extrait du pro ventricule du poulet a permis la fabrication d'un fromage à pâte molle (camembert) dont la qualité organoleptique ainsi que le rendement étaient comparable au fromage témoin préparé avec la présure. Par ailleurs, il a été constaté que le comportement de cette enzyme est analogue à celui de la présure traditionnelle (Morsli et al, 2000).

II.2. Coagulants végétaux

Dans beaucoup de pays, les extraits de plantes sont utilisés depuis des siècles pour coaguler le lait et fabriquer du fromage. Les coagulants végétaux constituent une alternative à la présure bovine et présentent l'avantage d'être accessibles et faciles à être utilisés même à l'échelle artisanale. L'utilisation des coagulants végétaux est une pratique courante dans les pays méditerranéens de l'ouest Africains et du sud Europe en comme le Portugal et l'Espagne (Rayanatonou, 2017).

Plusieurs préparations coagulantes sont issues du règne végétal et sont extraites par macération de différentes parties de plantes supérieures (Ramet, 1997). On retrouve la Papaïne (feuilles de papaye), la Broméline (tige de l'ananas), la fleur d'artichaut et de chardon, les graines de citrouille, la Ficine (sève du figuier) ec.....(Cattaneo et al, 1994 ; Llorente et al, 2004 ; Low et al, 2006 ; Egito et al, 2007).

Ces protéases sont caractérisées par une activité coagulante assez forte mais leur utilisation industrielle est limitée par leur fort pouvoir protéolytique (Claverie et Hernández, 2007). Cette activité protéolytique se manifeste par une diminution du rendement fromager, des défauts de texture et de goût. Ces difficultés sont liées au fait que ces préparations brutes renferment souvent des mélanges de plusieurs enzymes dont l'activité manque de spécificité sur la caséine k (Ramet, 1997).



En Algérie, l'utilisation des fleurs du chardon et d'artichaut, des graines de citrouille, ou de la sève du figuier sont des pratiques connues pour la production du « Jben » un fromage traditionnel (Lahssaoui, 2009).



Figure10 : Fleurs du chardon

(www.visoflora.com)



Figure11 : Ficine (sève du figuier)

(www.fac.umc.edu.dz)



Figure12: Papaine (feuilles de papaye)

(www.visoflora.com)



Figure13 : Broméline (tige de l'ananas)

(www.visoflora.com)

II.3. Coagulants microbiens

L'intervention des microorganismes se produit par l'action de leurs enzymes extracellulaires et intracellulaires. Ces enzymes appartiennent à différentes catégories : les enzymes protéolytiques, les lipases, les systèmes enzymatiques actifs sur les acides aminés, les systèmes actifs sur les acides gras, etc. Ces enzymes contribuent, non seulement à l'hydrolyse des moyens et petits peptides, mais également à la formation de saveurs par la dégradation des acides aminés (Choisy et al, 2000; Farkye, 2004).



Actuellement, la recherche sur les présures microbiennes est toujours dirigée vers la découverte d'enzymes qui sont plus thermolabiles et ayant un meilleur rapport de coagulation sur l'activité protéolytique générale. La thermolabilité est un critère important, en particulier pour les protéases ayant une activité protéolytique générale élevée (Yegin et Dekker, 2013).

On distingue deux catégories de protéases microbiennes : celle d'origine bactérienne et l'autre d'origine fongique (Devillietetal., 1983).

II.3.1. Coagulants fongique

Les modifications chimiques (Havera et Humphreys, 1988 ; Smith et al, 1991) et les outils du génie génétique (Yamashita et al, 1994) ont été utilisés pour réduire la stabilité thermique de ces enzymes. A la suite de ces modifications, il est devenu possible de produire d'excellents fromages affinés avec des coagulants fongiques modifiés.

Trois espèces, à savoir *Rhizomucor miehei* (Moisissure thermostable du sol), *Rhizomucor pusillus* (Moisissure mésophile du sol) et *Cryphonectria parasitica* (Parasite du châtaigner), ont été utilisées pour la production à grande échelle (Claverie et Hernández, 2007).

Les protéases fongiques peuvent être produites en quantités pratiquement illimitées. Elles peuvent être utilisées dans les pays où des raisons philosophiques ou religieuses interdisent l'utilisation d'enzymes provenant de certains animaux. Enfin, les techniques de culture et les procédés d'extraction et de purification, qui sont relativement simples, entraînent un prix de revient satisfaisant (Guérard, 1987).

II.3.2. Coagulants bactérien

C'est dans un brevet britannique que Shimwell et Evans (1944) ont indiqué qu'il était possible de fabriquer du fromage en utilisant des préparations obtenues à partir de microorganismes du genre *Bacillus*, comme par exemple, *Bacillus subtilis*, *B.mesentericus*, *B.brevis* et *B.fusiformis*. L'utilisation de ces coagulants demeure limitée par suite de réglementation stricte et leur prix de revient. D'autre part, leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale et moins bonne que celle des enzymes produites par les moisissures (Alais, 1984). Les fromages fabriqués avec des coagulants bactérienne présentent une plus forte humidité, une acidité plus élevée, parfois un goût amer, par contre les fromages fabriqués avec un mélange des deux produits : coagulants bactérienne et présure ordinaire, sont satisfaisants en ce qui concerne leur saveur et leur consistance (Genin, 1968).



Chapitre III

***La microflore du lait et produits
laitiers***



III.1. Microflore lactique

III.1.1. Définition

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (Djellab et Kadri, 2010) .Elles sont Gram positif , sous forme de coques ou de bacilles généralement immobiles, sporulées, catalase négative, oxydase négative, généralement nitrate réductase négative, et ce sont des bactéries anaérobies facultative .En outre, elles ne produisent pas d'indole, ni d'hydrogène sulfureux (Caplice et Fitzgerald,1999), elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles(Hogg, 2005).Alors que la majorité des souches se développent à pH 4,0-4,5 .Certaines sont en activités à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Jozala et *al.* 2005) elles sont capable de croitre à des températures comprise entre 10°C et 45°C. (Zhang et Cai, 2014).

III.1.2. Habitat

Ce sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat (Rizk ,2005).Elles sont associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits (lait, viande, boissons et végétaux), mais d'autres sont aussi présents dans la flore normale de la bouche de l'intestin et le vagin des mammifères. (Carina-Audisio et Maria, 2010).

III.1.3. Principaux genres des bactéries lactiques

❖ Lactobacillus

Avec environ 154 espèces et 30 sous espèces, le genre Lactobacillus est le groupe le plus large des bactéries lactiques (Siezen et van Hylckama Vlieg, 2011 ; Ksicova et al.2013).Ce sont des bâtonnets ou des coccobacille, anaérobies facultatives ou parfois micro aérophiles, croissant à 35°C - 45°C pour la plupart des souches et ne croissant pas à 15°C et à plus de 45°C - 48°C suivant les souches. Fermentent le sucre donnant de l'acide lactique comme seul produit de fermentation .Les Lactobacilles sont très exigeants en matières nutritive (Oucherif et Sellema, 2015).



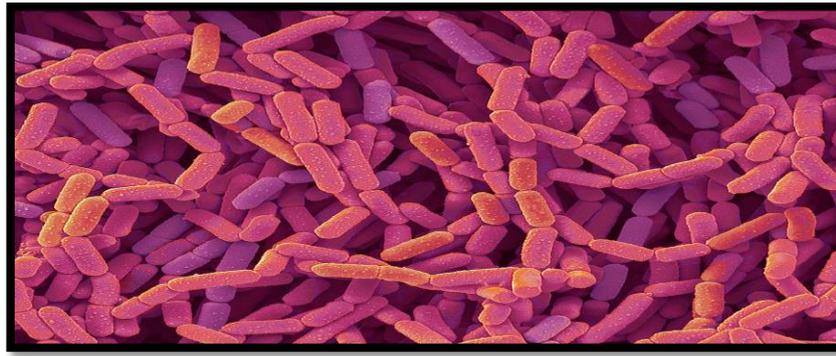


Figure 14 : Genre Lactobacillus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus>).

❖ Lactococcus

Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homo-fermentaires ne produisant que de l'acide lactique. Elles étaient en forme de coque et se regroupent en chainettes, Leur température optimale de croissance est proche de 30°C. Elles sont capable de se développer à 10° C mais pas à 45°C (Rezgui et Zoghliami, 2014), et ont des exigences complexes pour leurs croissance (Wright, 2012 ; Kim, 2014). Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al. 2005).

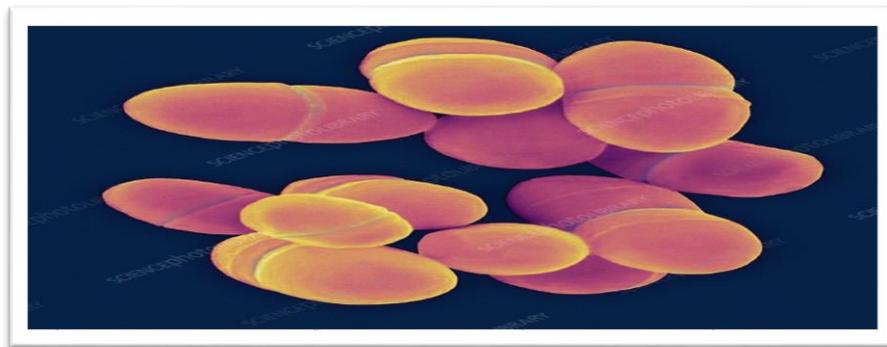


Figure 15 : Genre Lactococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>).

❖ Streptococcus

Les Streptococcus se présentent sous forme de cocci (coque arrondie), formant des chaines ou des paires (Laurent, 1998). Ils sont gram positif, anaérobie facultatif, ne sont pas mobiles et ne forment pas des spores, leurs activité métabolique varie, mais toutes les espèces se caractérisent par l'absence de catalase et l'utilisation de la voie fermentaire pour la dégradation de certains glucides sans production du gaz ils peuvent pousser entre 10 et 40°C



(White et Hardie, 2009), et exprimant une résistance à haute température et la capacité de croître à 52° C (Pilet, 2005).



Figure 16 : Genre Streptococcus : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>)

❖ Enterococcus

Ce genre rassemble la plupart des espèces du groupe sérologique D et comprend notamment les espèces anciennement désignées sous le terme Streptocoques fécaux, comme *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. (Ziani et Gattout, 2008). Ce sont des coques qui peuvent être mobile homofermentaire, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Ho et al, 2008). les Enterococcus se distinguent par leur capacité à se multiplier malgré des conditions de croissance hostile comme des température extrêmes 10°C à 45°C avec une température optimale de 35°C. Ce sont des microorganismes anaérobie-aérotolérant (Isnard, 2017).

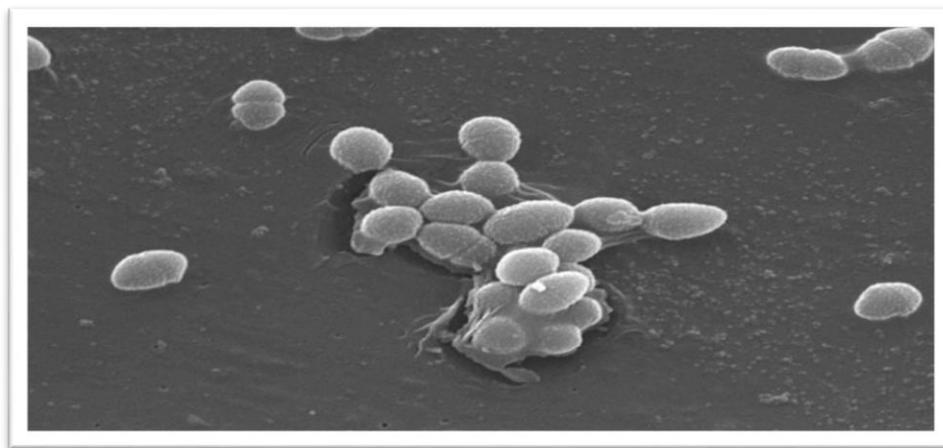


Figure 17 : Genre Enterococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus>)



❖ Bifidobacterium

Les Bifidobacterium sont des bacilles à gram positif, non mobiles, ne produisent pas de gaz (Mattarelli et Biavati, 2014). Elles croissent à des températures comprises entre 37 - 41°C mais certaines espèces peuvent être thermophiles à 49,5°C comme *B.thermophilum* (Zhu et al., 2003). Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C élevé, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase (Laurent, 1998). Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques (Bouadjaib, 2013).



Figure 18: Genre Bifidobacterium (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium>)

III.2. Les microorganismes responsables d'altération

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

III.2.1. Les Coliformes

Ce sont des bactéries en forme de bâtonnets, aérobies ou anaérobies facultatives. D'un point de vue technologique, ils fermentent le lactose sur un mode hétéro fermentaire. De plus, ces bactéries élaborent diverses substances qui provoquent le gonflement précoce des produits laitiers dont le fromage, leur présence dans le lait tout comme dans l'eau, est l'indice d'une contamination fécale. Cet indice est mis à profit dans l'examen de la qualité des produits (Djoughri et Madani, 2015), (Becila, 2009) en recherchant *E.coli*.



Les Coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général sols, végétation et eau, (Ceaq, 2015).



Figure 19 : Genre Coliforme : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Coliforme>)

III.2.2. Bactéries Psychotropes

Lors de leur développement dans le lait et les produits laitiers, les bactéries Psychotropes genre *Pseudomonas* principalement, peuvent produire des lipases et protéases extracellulaires, généralement thermostables. Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût dans les fromages (goût de rance, amertume) (Bouchakour et Djaghlali, 2015).

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C. (Djoughri et Madani, 2015).

III.2.3. Les champignons

III.2.3.1. Levure

Levure est un champignon microscopique, unicellulaire de forme ovoïde ou sphérique

Bien qu'elles soient présentes dans le lait, leur action est minime. Certaines d'entre elles sont capables de fermenter le lactose en alcool (production de l'éthanol). Il y a des levures qui participent à l'affinage de certains fromages et d'autres entrent dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés. On retrouve aussi dans le domaine laitier des levures nuisibles responsables de certaines dégradations détectées par des odeurs d'alcool, par un gonflement des emballages et du fromage dû à la production de gaz (Zergoune, 2015). Les levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis* (Bourgeois et al, 1996).



On les trouve aussi dans le sol, la mer, le tube digestif, aussi vivent dans les liquides sucrés.

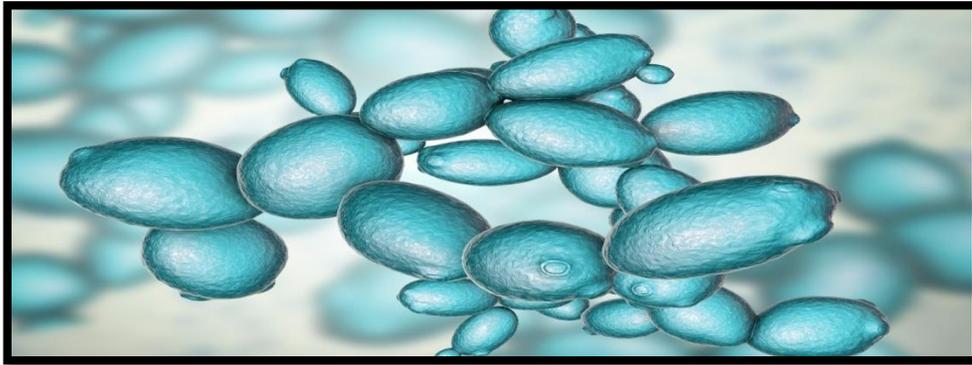


Figure 20 : Genre Levures : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Levures>)

III.2.3.2. Moisissure

La moisissure désigne des champignons microscopiques qui poussent dans des formes de filaments multicellulaires ou unicellulaires. Elles intéressent un grand nombre de produits laitiers. Elles sont productrices de lipases et de protéases, dont on rencontre le *Penicillium* et le *Geotrichum* (Zergoune, 2015). Les moisissures liées aux produits laitiers *Geotrichum candidum*, Les mycotoxines sont des molécules produites dans les aliments par des moisissures et capables de multiples effets toxiques (Bourgeois et al, 1996).

Elles se développent en surface, ou dans les parties internes aérées. Les moisissures se développent sous l'influence de l'humidité de l'air, d'une certaine température et à faible luminosité, sur les végétaux morts et sur les matières qui s'altèrent.



Figure 21 : Genre Moisissures : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Moisissure>)



III.3. Les bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent (Bouraoui, 2014). Leur origine est variée : infection mammaire, matériel de traite, ensilage. Elle présente un danger pour le consommateur (Beldjilali, 2015)

III.3.1. *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles à Gram négatif, de la famille des Enterobacteriaceae. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 20 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5. Exemple *E.coli* qui provient généralement de la peau des mamelles. Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite est inhabituelle. Certaines souches, peuvent produire des gastro-entérites dues à la production de toxines (Brisabois et al ; 1920).

Elles font parties de la flore commensale de l'homme et des animaux à sang chaud (Euzéby, 2011). *Escherichia coli* a la particularité de coloniser le tractus gastro-intestinal dans les premières heures de la vie et il représente près de 80% de la microflore aérobie (Ghebru, 1988 ; Nataro&Kaper, 1998 ; Vernozy-Rozand&Montet, 2001).

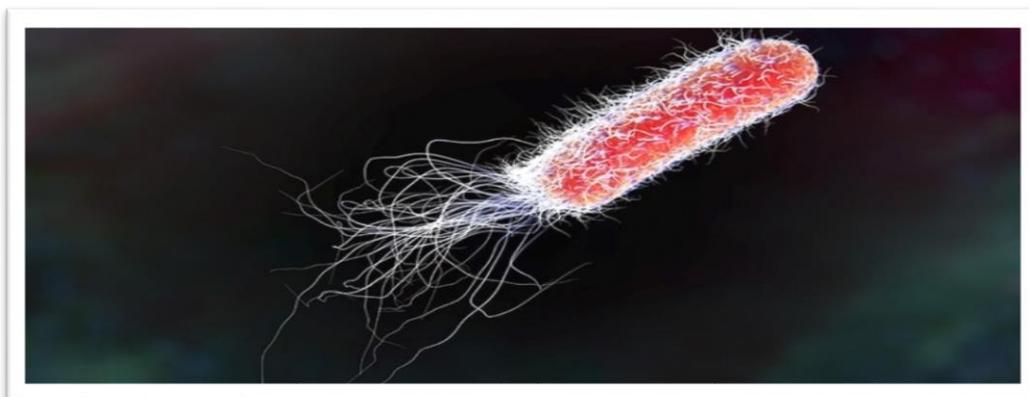


Figure 22: *Escherichia coli* ([http://fr.wikipedia.org/wiki/ Escherichia coli](http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli))

III.3.2. Staphylocoque

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positif, non sporulés, regroupés en amas, immobiles, anaérobies facultatifs et possédant une catalase, oxydase négative, la présence des Staphylocoques dans les aliments représente un risque pour la santé humaine, parce que certaines souches appartenant principalement à l'espèce *S. aureus*



provoque une toxi-infection alimentaire à Staphylocoques. Le lait et les produits laitiers ne deviennent toxiques que s'ils sont contaminés par des souches productrices d'entérotoxine (Brisaboiset al,1920).

S.aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhinopharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement.

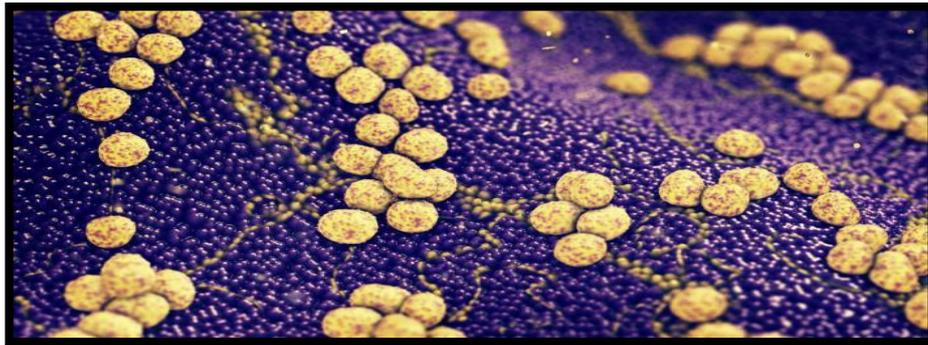


Figure 23: Genre Staphylococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylocoques>)

III.3.3.Salmonella

Les Salmonelles sont des bactéries à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques, aérobie-anaérobie facultatif (Leyral et Vierling, 2001). Elles sont généralement mobiles mais certaines souches sont immobiles comme *S.gallinarum* *S.pullorum* et d'autres ayant perdu leurs flagelles. Salmonella peut provoquer les mêmes symptômes, caractéristiques d'une toxi-infection alimentaire, (Bezzalla et Gouttaya, 2013), qui ont pour origine la consommation du lait et des produits laitiers qui n'ont pas subi de traitement par la chaleur ou recontaminés après le traitement thermique (Tchamba, 2007).

Les Salmonella colonisent le tractus gastro-intestinal et se retrouvent dans les selles de plusieurs animaux, dont les mammifères incluant les humains. Les aliments plus souvent contaminés par des Salmonella sont les fruits et légumes crus, les œufs crus, les produits laitiers non pasteurisés et les viandes et volailles insuffisamment cuites.



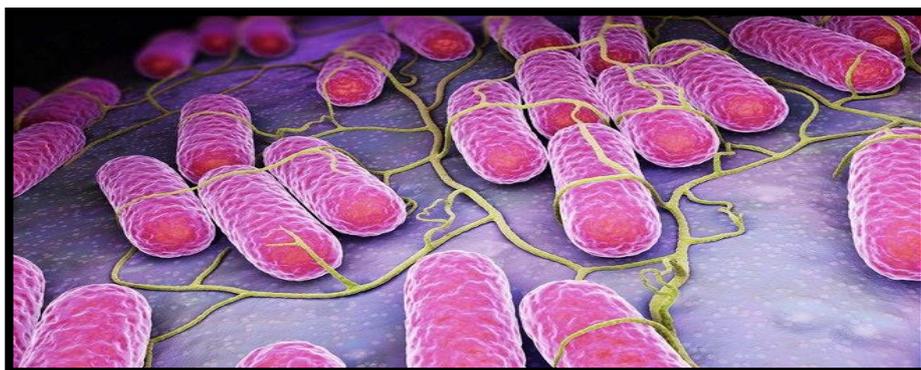


Figure 24 : Genre Salmonella : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Salmonella>)

III.3.4. Bacillus

Le genre *Bacillus* renferme des germes telluriques aérobies stricts ou aéro-anaérobies sporogones, se présentant sous forme de bâtonnets à Gram positive généralement mobiles. Les toxi-infections alimentaires à *Bacillus* sont presque exclusivement dues à *B. cereus*. Elles représentent près de 5% de l'ensemble des toxi-infections alimentaires (Gaillard, 1989). *B. cereus* est un germe vivant dans les sols et dans les eaux, peut survivre dans l'environnement sous forme de spores. Elle peut contaminer surtout des aliments d'origine végétale (riz, épices) et de nombreux plats cuisinés (Peiffer, 2000). La présence de spores de *B. cereus* pose de sérieux problèmes dans les industries agroalimentaires (notamment les industries laitières).

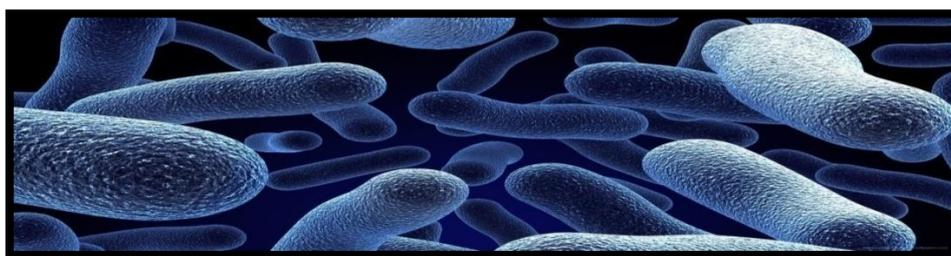


Figure 25 : Genre Bacillus : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bacillus>)

III.3.5. Listeria

Comporte des petits bacilles à Gram-positif, non sporulés, immobiles à 37°C. Ce sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives, catalase positive (Bouadjaib, 2013). *Listeria monocytogenes* est communément trouvée dans l'environnement : les sols, l'eau et sur les végétaux, en particulier en décomposition. Cette bactérie peut y survivre longtemps, y compris dans des conditions défavorables. *Listeria monocytogenes* est retrouvée dans certaines industries de l'agroalimentaire, en production laitière : lait cru, laits traités



thermiquement, en transformation laitière (lors de la fabrication des fromages, de crème, de beurre, ...).

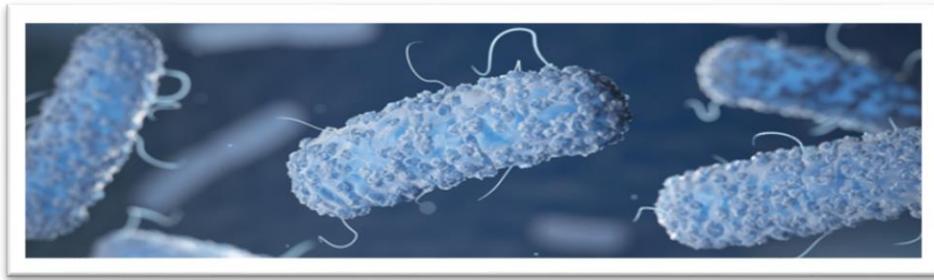


Figure 26: Listeria : (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Listeria>)



Partie II
Analyses microbiologique de
HAKKA



Objectif

L'objectif de notre étude consistait à la recherche de la microflore dans Hakka et faire des essais de fabrication du « Jben», un fromage traditionnel en utilisant « Hakka », un coagulant artisanal. Puis les fromages obtenus subiront des analyses microbiologiques, physicochimiques et sensorielles. Mais vu le problème sanitaire de notre pays et du monde entier, notre pratique a été limité aux analyses microbiologiques seulement de Hakka.

I. HAKKA

I.1. Définition

Il s'agit d'une préparation artisanale qui sert à coaguler le lait pour fabriquer un fromage traditionnel

I.2. Origine

Les nomades qui existent toujours dans le grand sud de l'Algérie transportent avec eux des troupeaux de moutons pendant leurs déplacements. Ces nomades se nourrissent du lait des brebis et des chèvres, et du fromage qu'ils produisent sur place par « Hakka » un genre de présure artisanale qu'ils fabriquent et qui sert à coaguler le lait. Aujourd'hui cette pratique est rentrée même dans les maisons des régions rurales.

I.3. Protocole de fabrication

Lorsque un chevron ou un agneau durant sa période d'allaitement est malade ou sa maman meurt, il est abattu et son estomac est transformé en Hakka. A vrai dire ce n'est pas tout l'estomac mais la partie appelée caillette qui sert de coagulant, car elle est riche en enzymes coagulantes.

L'estomac n'est ni laver ni vider pour ne pas éliminer les enzymes. Il est salé puis attaché à un filet bien serré, puis suspendu pour être sécher. Le séchage se fait à l'abri du soleil et de l'humidité pendant deux semaines à un mois en été et deux à trois mois en hiver.



I.4. Mode d'utilisation et protocole de fabrication du fromage

Après séchage Hakka et dure est prête à être utilisée. Généralement pour fabriquer le fromage, le protocole suivant est appliqué :

Dans 3 litres de lait, un petit morceau de la forme d'une noix est enveloppé dans un tissu fin et propre, puis trempé de temps en temps dans du lait qui a été bouilli puis refroidi à température 45°C (tiède). L'opération dure 30 à 60 minutes jusqu'à ce que le lait commence à cailler.

Après caillage, il y a l'étape d'égouttage. L'égouttage peut durer de quelques minutes comme le fromage appelé « Jben » de la région de Ain sefra, jusqu'à quelques heures selon le type de fromage demandé.

Après égouttage, le fromage peut subir ou non une étape d'affinage, tout dépend du type de fromage recherché et de la région où il est fabriqué.

Il peut être aussi mélangé à des épices ou affiné sur des plantes pour avoir un certain goût, une saveur et une texture voulus et appréciés par les habitants de la région comme le fromage appelé « Takammart » de la région du Hoggar (Tamanrasset). Ou aussi exposé à la vapeur des plantes comme la plante de l'armoise appliquée pour le fromage de la région de Kheiter à l'Aghouat.

II. Matériels et méthodes

II.1. Analyse microbiologiques de Hakka

L'objectif de notre étude consiste à la recherche de la microflore dans Hakka. L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement (LAMAABE), durant la première semaine du mois de Mars de l'année en cours. Vu le problème sanitaire de notre pays et du monde entier, notre pratique a été limitée aux analyses microbiologiques seulement de Hakka

II.1.1. Echantillonnage

Deux échantillons de Hakka venant d'Ain Sefra ont été analysés. Les échantillons ont été récupérés dans des sachets de prélèvement, et transportés au laboratoire pour être analysés.





Figure 27 : Echenillons 1 de Hakka



Figure 28 : Échantillon 2de Hakka

II.1.2. Préparation des dilutions décimales

Dans un tube contenant 36 ml d'eau peptoné stérile on a ajouté 4g de l'échantillon Hakka. Cette première dilution constitue la solution mère à 10^{-1} . Par la suite, on a effectué des dilutions successives en prélevant 1 ml de cette dernière que l'on ajoute à 9ml d'eau peptoné à l'aide d'une pipette stérile contenu dans un tube à essai (la dilution 10^{-2}). De la même façon, les dilutions décimales successives ont été effectuées jusqu'à la dilution 10^{-8} .

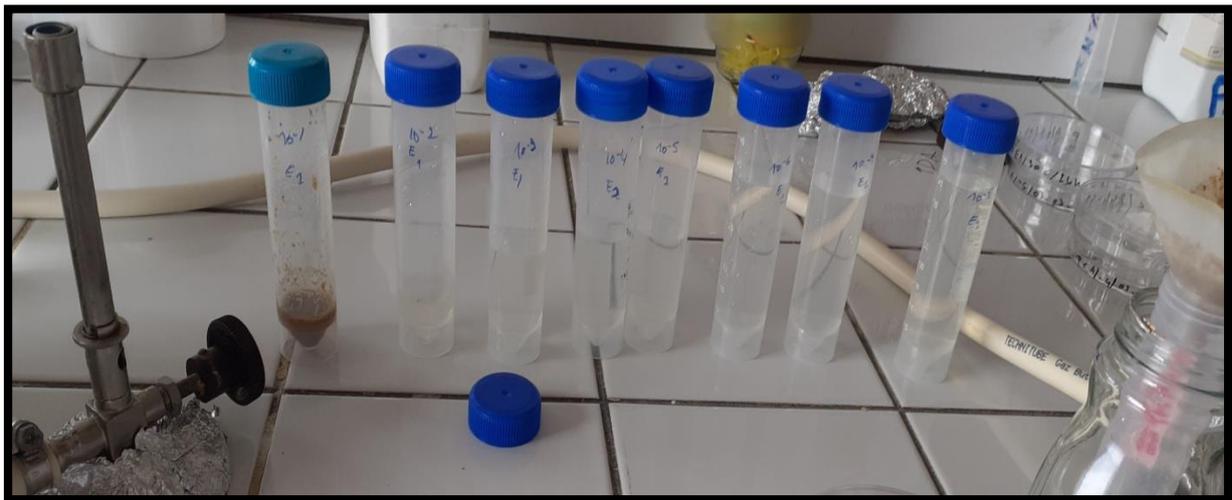


Figure 29 : Les dilutions décimales (jusqu'à 10^{-8})



II.1.3. Recherche et dénombrement de la microflore de Hakka

Après agitation, 1 ml de la dilution décimales est mis au fond d'une boîte de pétri pour être mélangé avec le milieu de culture liquéfié et refroidis à 45°C, ceci pour l'ensemencement en masse ; Lorsqu'il s'agit d'un ensemencement en surface l'inoculum est étalé à la surface du milieu gélosé.

Pour l'ensemencement des milieux liquides, 1ml de la dilution est mélangé au bouillon. (Toutes les analyses ont été effectuées en double).

Les germes recherchés sont dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Microorganismes recherchés dans les deux échantillons de Hakka

Germes recherché	Milieux de culture	Température D'incubation	Temps d'incubation (heur)	Ensemencement
Flore Mésophile	PCA	37°C	24 à 48	En profondeur
Coliforme	BLBVB	37°C	24 à 48H	Dans des tubes avec cloches de Durham
Entérobactéries	Mac Conkey	37°C	24H	En surface
Staphylococcus	Chapman	37°C	24 à 72H	En surface
Levure et Moisissures	Sabouraud	25°C	5 à 7 j	En profondeur
Salmonella	SS et Hektoen	37°C	24H	D'abord pré-enrichissement dans l'eau peptoné tomponé après enrichissement se fait sur milieu SS, en profondeur
Anaérobies sulfito-réducteurs	Viande-foie	37°C	24H	Tube à gélose VF additionné d'une couche de l'huile de paraffine après traitement thermique
Bacillus	Gélose nutritif	30°C	24H	traitement thermique après, en profondeur
Lactobacilles	MRS	30°C	24 à 72 H	En profondeur
Lactocoques	M17	30°C	24 à 72H	En profondeur



III. Résultats et interprétations

III.1. Coliformes

La recherche et le dénombrement des Coliformes sont révélés dans le tableau suivant :

Tableau 02: Résultats du dénombrement des Coliformes dans les 2 échantillons de Hakka

Echantillons	Essais	Dilution -1			Dilution -2			Dilution -3			Nombre caractéristique	N P P
01	01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
02	01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0

- Les Coliformes sont absents dans les deux échantillons, on peut dire alors que Hakka ne contient pas des germes de contamination fécale

III.2. Levures, Moisissures et flores totale

Les résultats de la recherche et du dénombrement des Levures, Moisissures et flores totale sont dans la figure ci-dessous :

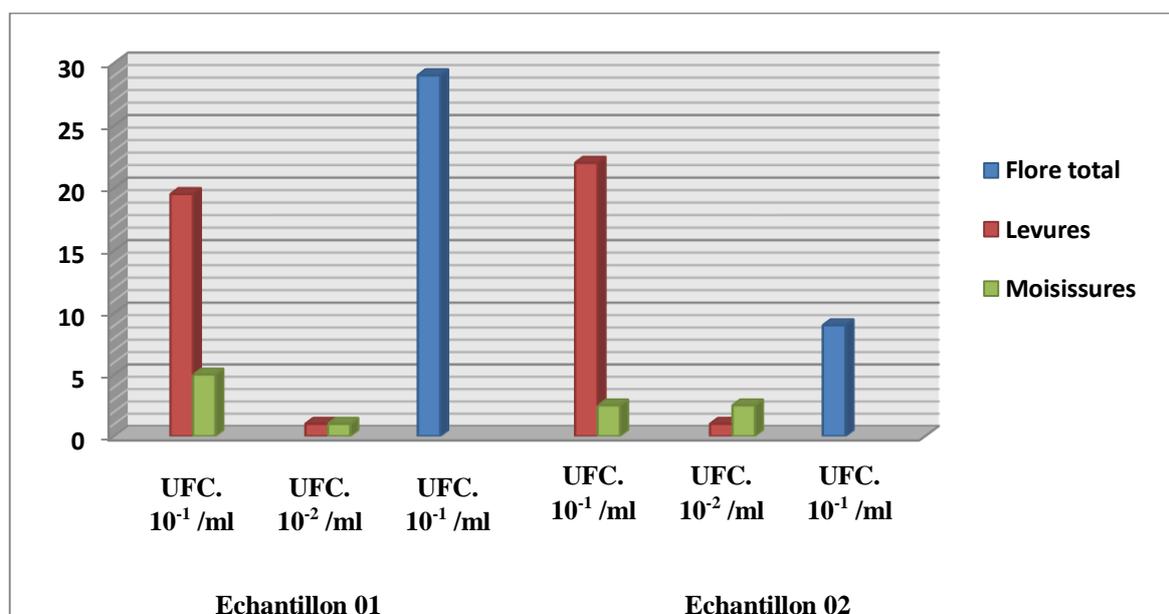


Figure 30 : Dénombrement de la flore total, levures, et moisissures dans les 2 échantillons de Hakka

- La flore totale est importante dans l'échantillon 1 par rapport à l'échantillon 2.



- Dans les deux échantillons de Hakka, les champignons existent mais les levures sont plus importantes que les moisissures.

III.3. Les Bactéries lactiques

Les résultats de la recherche et du dénombrement des bactéries lactiques sont révélés dans la figure suivante :

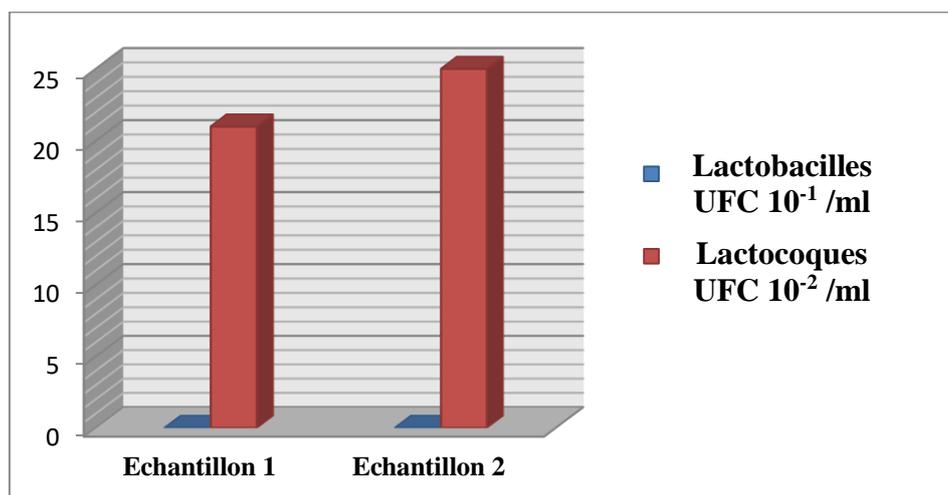


Figure 31: Dénombrement des Lactobacilles et Lactocoque dans les 2 échantillons de Hakka

- Parmi la flore lactique, les lactobacilles n'existent pas dans les deux échantillons alors que les Lactocoques sont présents à des taux presque égaux pour les deux échantillons.

III.4. Les bactéries pathogènes

Les résultats de la recherche et du dénombrement de Salmonella, Entérobactéries, Clostridium, et Bacillus sont dans la figure suivante :



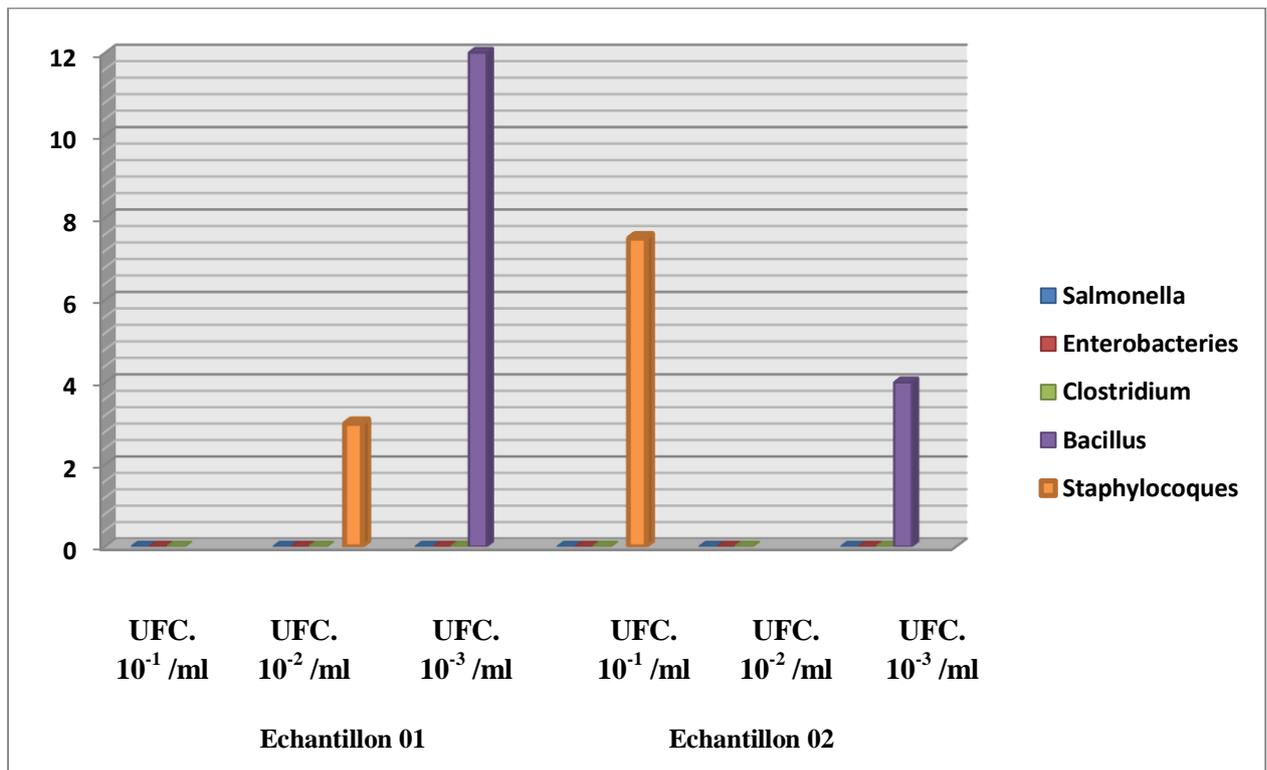


Figure32: Dénombrement de la flore pathogène : Bacillus, Salmonella, Clostridium, Entérobactéries et Staphylocoque

- Le genre Bacillus existe dans les deux échantillons avec une charge plus élevée dans l'échantillon 1.
- Staphylocoques est présent dans les deux échantillons de Hakka mais le taux est plus élevé dans l'échantillon 2.
- Les Entérobactéries, Salmonella et Clostridium ont absents dans les deux échantillons

Conclusion

A l'exception de Bacillus ou Staphylocoque qui existe dans un échantillon, la flore pathogène ainsi que les coliformes sont absents dans Hakka, en effet la flore mésophile ne tolère pas un milieu riche en sel et pauvre en eau. Alors que les champignons sont présents surtout les levures, et comme flore lactique on trouve les lactocoques, ce qui est évident puisque Hakka est constitué d'estomac d'agneau ou de chevron qui est riche en lait.



Partie III
Analyse d'articles



Article 1 : Caractéristiques chimique et microbiologiques des fromages de chèvre frais traditionnels du nord du Maroc

(Ouiam El Galiou et al ; 2015)

I-Introduction

Dans le nord du Maroc, le fromage est produit traditionnellement dans les endroits ruraux, et ces produits artisanaux sont généralement vendus sur les marchés ouverts et les supermarchés locaux.

La matière grasse et les protéines du lait de chèvre sont plus faciles à digérer et contiennent des niveaux plus élevés de vitamine A, de thiamine et de niacine que celles du lait de vache (Haenlein, 2001), de plus, le lait de chèvre a une capacité allergénique faible (Guo et al., 1998) et une qualité plus saines ce qui a conduit à l'augmentation de son importance et sa production ces dernières années (Silanikoveet et al, 2010).

La composition de la fraction lipidique est responsable du « goût de chèvre » caractéristique des fromages de chèvre (Salles et al, 2002). Mais ces fromages au lait cru provoquent des infections alimentaires car ils sont un moyen pour la croissance des agents pathogènes (Milani et al, 2014)

L'objectif de ce travail était d'étudier certaines caractéristiques microbiologiques et aussi la détermination et l'identification des principales bactéries lactiques et bactéries pathogènes isolé de ces produits laitiers particuliers

II-Méthodologie

II.1. Fabrication du fromage

Le lait cru est obtenu à partir des chèvres de race autochtone. La procédure de fabrication du fromage passe par les étapes suivantes :



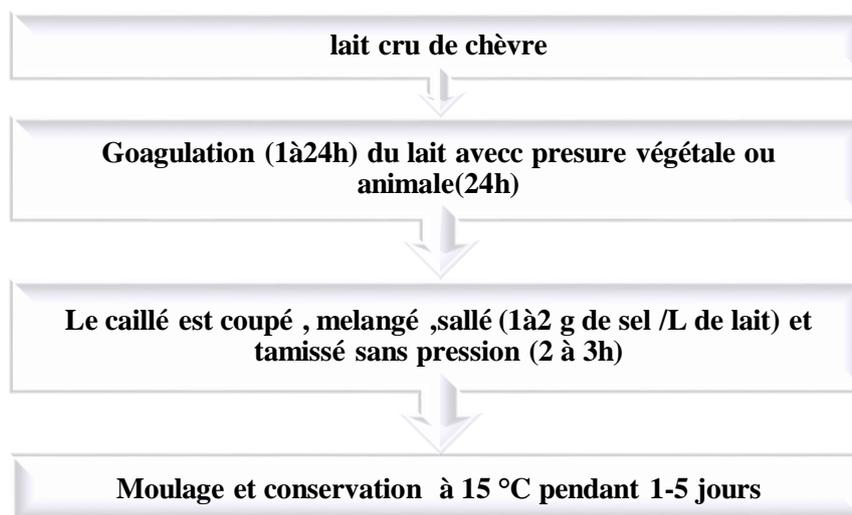


Figure33: Protocole de fabrication du fromage du Nord-Maroc

II.2. Echantillonnage

28 fromages en forme de blocs de poids 1000 ± 200 g fabriqué avec du lait cru de chèvre durant la saison d’hiver et de printemps ont été collectés immédiatement après leur fabrication puis stockés pendant 5 jours à 6°C. Les fromages ont été classés en 3 groupes selon leur condition de fabrication (tableau 03).

Tableau 03 : Conditions de fabrication des fromages de chèvres frais du Nord-Maroc recueillis dans la présente étude.

	Procédé 01 ($n^a = 14$)	Procédé 02 ($n = 7$)	Procédé 03 ($n = 7$)
Refroidissement du lait après la traite	Non	Oui	Non
Présure	Présure de veau commerciale	Présure de veau commerciale	Présure végétale (<i>Cynaracardunculus</i>)
Quantité de Présure	5 à 15 ml (concentration 1/10, 000)/100 L de lait	20 à 25 ml (concentration 1/10, 000)/100 L de lait	
Température de coagulation	34–37°C	28–32°C	34–37°C
Temps de coagulation	3–24 h	45–60 min	2-4 h

n^a = nombre de fromage collectés pour le même procédé de fabrication

- ❖ **Procédé 1 :** 14 fromages à base de présure de veau sans refroidissement de lait après la traite.
- ❖ **Procédé 2 :** 7 fromages à base de présure de veau avec refroidissement (4-5°C en 6h).
- ❖ **Procédé 3 :** 7 fromages à base de présure végétale sans refroidissement.



II.3. Analyses microbiologique

II.3.1 Préparation des échantillons et des dilutions

10g d'un échantillon ont été prélevé au niveau de la partie interne du bloc de fromage.

Les échantillons ont été transférés dans des sacs stériles, puis on a ajouté 90ml d'une solution stérile de citrate de sodium à 2% préchauffée à 45°C, le mélange a été homogénéisé dans un homogénéiseur de laboratoire pendant 60 s à température ambiante.

Les dilutions décimales et les préparations des échantillons ont été effectuées selon la norme FIL 122C (IDF, 1996). 1ml des dilutions correspondantes aux milieux de cultures appropriés aux différents genres ou espèces microbiennes ont été en semences (toutes les analyses ont été effectuées en double)

II.3.2. Recherche et dénombrement de la microflore de fromage

Les microorganismes recherchés dans le fromage du lait de chèvre frais du Nord-Maroc sont :

➤ Les Bactéries mésophiles

- a- Bactéries aérobiesmésophiles sur gélose au lait, incubées à 30°C pendant 72h.
- b- Bactéries aérobies Psychrotrophes sur gélose au lait, incubées à 7°C pendant 10 jours.
- c- Bactéries lactique sur gélose MRS pH 5.7, incubées en conditions anaérobies à 30°C pendant 5 jours.
- d- Levures et moisissures sur gélose oxytétracycline-glucose-extrait de levure (OGYE), incubées à 25°C pendant 5jours.
- e- Entérocoque sur gélose viande foie (Merck), incubés à 44°C pendant 48°C.
- f- Coliformes totaux sur gélose biliaire rouge violette lactose (VRBA), à double couche puis incubés à 37°C pendant 24h.
- g- Coliformes fécaux sur VRBA à double couche puis incubés à 44°C pendant 24h.
- h- Staphylocoques à coagulase positifs sur gélose Baird-Parker supplémentée avec une émulsion de jaune d'œuf au tellurite de potassium puis incubés à 37°C pendant 48h.

➤ Bactéries pathogènes

Pour la détection des agents pathogènes Salmonella et *Listeria monocytogenes*, on a prélevé des échantillons de 25g comme décrit précédemment, ces échantillons ont été ajoutés



à 225 ml de solution de pré-enrichissement (eau peptoné tamponnée à 1%, Merck) puis homogénéisés et incubés à 37°C pendant 24h selon la norme IDF 93B (IDF, 1995). On a utilisé le bouillon Merck et la gélose Merck pour l'enrichissement sélectif (42°C_28h) puis l'isolement (37°C à 24h). *Listeria monocytogenes* été déterminée selon Barancelli et al, (2011), 3 à 5 colonies typiques prélevées dans la gélose sélectif OLOA ont été confirmées par le kit d'identification API Listeria.

II.4. Isolement et purification des bactéries lactiques

4 à 6 colonies ont été sélectionnées au hasard de la gélose MRS à pH 5,7 et de la gélose au lait correspondant aux dilutions auxquelles la croissance est la plus élevée, puis une purification des colonies a été réalisée en ensemençant en stries une gélose MRS. Les cultures gram-positives, catalase-négatives ont été maintenues à -20°C et -80°C dans du bouillon MRS contenant 20% de glycérol.

II.4.1. Identification par PCR des isolats des bactéries lactiques

Les isolats de Lactocoques, Lactobacilles et Entérocoques ont été attribués par PCR au niveau du genre ou de l'espèce, avec l'utilisation d'amorces spécifiques (tableau 04). Les extraits bruts lysés ont été stockés à -20°C pour les utiliser comme modèles (1,2µL) pour la PCR.

La PCR a été réalisée dans un cycleur ADN-Thermal avec différents programmes pour garantir la spécificité expérimentale. Les produits de PCR ont été résolus par électrophorèse, à 110V, sur 1,5 g / 100ml d'agarose contenant 0,5g / ml de bromure d'éthidium.



Tableau 04 : Liste des paires d'amorces utilisées pour l'amplification PCR spécifique, le protocole PCR optimisé et les produits PCR attendus

Genre / espèce	(T-t)x [#]	Taille de produit PCR	Amorces	Séquence 5'-3'	Référence
<i>Lactococcus lactis</i>	(60°C – 35 s)35	250	LacreR 1RL	GGGATCATCTTTGAGTGAT TTTGAGAGTTTGATCCTGG	Pu et al. (2002)
<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	(50°C – 40 s)30	350	Lchis 3F Lchis4R	AAAGAATTTTCAGAGAAA ATTTAGAATTGGTTCAAC	Beimfohr et al. (1997)
<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactiscit+</i>	(50°C – 40 s)30	900/ 1100	Lchis5F Lchis 6R	CTTCGTTATGATTTTACA AATATCAACAATTCATG	Beimfohr et al. (1997)
<i>L. lactis</i> subsp. <i>Cremeris</i>	(58°C – 40 s)30	550	Lchis1F Lchis 2R	GCGCTGAATTTACCTGAC TTCGCGCACCGCCGTC	Beimfohr et al. (1997)
<i>Lactobacillus sporocasei</i>	(60°C – 5 s)25	290	Y2 Para	CCCACTGCTGCCTCCCGTA GGAGT CACCGAGATTCAACATGG	Ward et Timmins (1999)
<i>L. plantarum</i>	(58°C – 40 s)35	220	P16 Lp1	GCTGGATCACCTCCTTTC ATGAGGTATTCAACTTATG	Berthier et Ehrlich (1998)
<i>Enterococcus</i>	(95°C – 30 s)35	112	Ent1 Ent2	TACTGACAAACCATTCATG ATG AACTTCGTCACCAACGCGA AC	Ke et al. (1999)

[#] T : température ; t : temps de recuit ; x : nombre de cycles d'amplification.

II.5. Analyse statistiques

Les données chimiques et microbiologiques obtenues pour les différents groupes de fromages ont été soumises à une analyse de variance ANOVA, lorsque des différences statistiques ont été notées, les différences entre les groupes distincts ont été déterminées par le test de Dun-can. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$.



Analyse d'article 02 : Caractéristiques microbiologiques de Batzos, un fromage Grec au lait cru de chèvre

(Psoni et al., 2003)

I-Introduction

Batzos est un fromage Grec traditionnel, originaire de la Macédoine occidentale dans le nord de la Grèce. Malgré sa production a augmenté ces derniers temps il y a toujours un manque dans sa fabrication.

Il est semi-dur et il est fabriqué de manière traditionnelle en utilisant du lait de chèvre ou de brebis afin d'obtenir une matière grasse de haute qualité.

Il existe un grand nombre de bactéries lactiques, principalement les Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs qui atteignent des taux élevés dans les fromages affinés et contribuent aux effets positifs des caractères organoleptiques des fromages : le goût, l'odeur, la texture, ect), et à la qualité de fromage.

Le but de cette étude est d'examiner les changements dans les compositions microbiologiques du fromage et l'évolution de la flore pendant le stockage et tout au long de la période d'affinage.

II-Méthodologie

II-1. Protocole de fabrication du fromage

Le fromage Batzos est fabriqué à partir du lait cru de chèvre ou de brebis de manière artisanale en passant par les étapes suivantes :



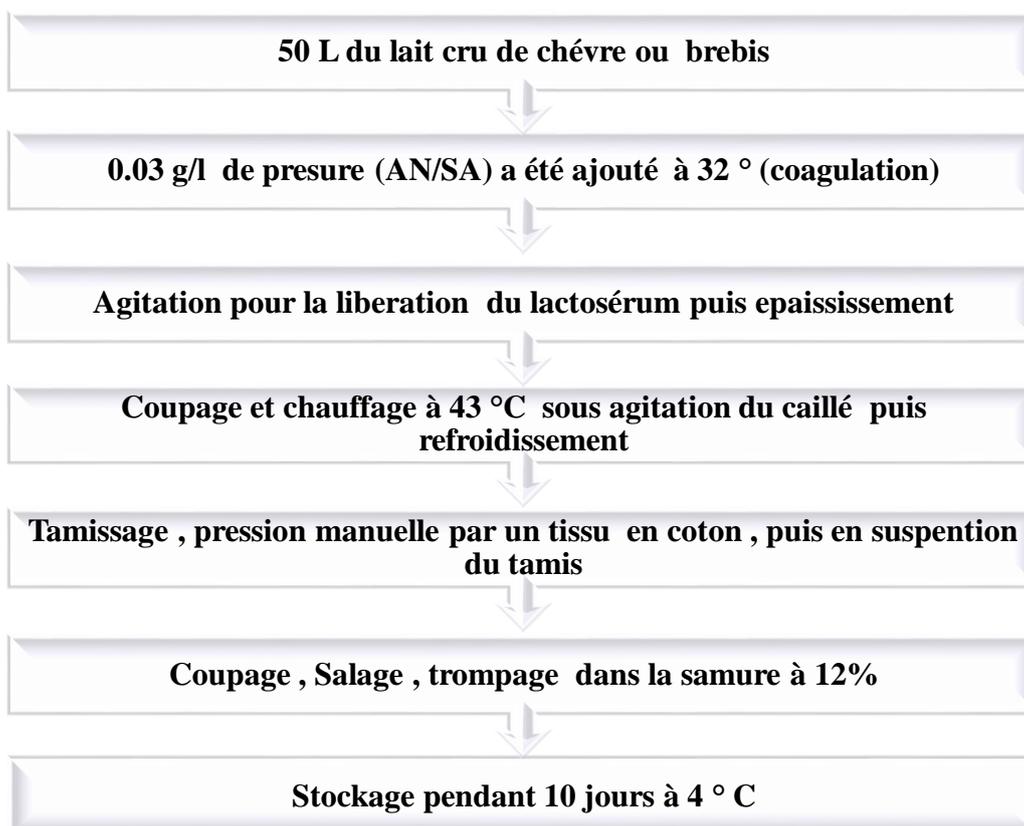


Figure 34 : Protocole de la fabrication du fromage Grec Batzos.

II-2. Echantillonnage

9 lots de fromage Batzos ont été fabriqués à raison de 3 lots par saison. Les échantillons correspondent au prélèvement du caillé après égouttage (fromage de 1 jour), avant salage (fromage de 2 jours), en fin de maturation à température 15°C (fromage de 12 jours) et pendant l’affinage c’est-à-dire après 30,60,90 et 180 jours de stockage à 4°C .

II-3. Analyses microbiologiques

II.3.1. Préparation des échantillons et des dilutions

10 g de fromage ou de caillé ont été homogénéisés avec 90 ml de citrate de sodium stérile à 2% (p/v) 45°C, dans un Stomacher 400 pendant 1 min.

Après la préparation des dilutions décimale avec 0,1% d’eau peptoné stérile, les germes suivants ont été recherchés et dénombrés.



II.3.2. Recherche et dénombrement de la microflore du fromage

La flore microbienne recherchée dans le fromage Batzos est révélée dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Différents germes recherchés dans le fromage Batzos

Germes Recherchées	Milieux de culture	Température d'incubation	Temps D'incubation
Flore totale	PCA	30°C	72h
Entérobactéries	Gélose billard rouge violet (VRGBA)	37°C	24h
Coliforme	Bile rouge violet (VRBG)	30°C	24h
Levures	Gélose pomme de terre dextrose (PDA) Acidifier à 10% par l'acide tartrique	25°C	5jours
Staphylocoques	Baird Parker au jaune d'œuf et Telluride de potassium	37°C	48h
Bactéries lactiques	Gélose MRS à pH 6,2	30°C	5jours
Cocci (Grame +)	Gélose M17 du cycloheximide a été ajouté à 100mg/ 1 pour empêche la croissance des levures en gélose MRS et M17	30°C	48h
Lactobacilles	Gélose Rogosa (RA)	30°C	5jours
Entérocoque	Azoture de citrate agar CAA	37°C	3jours

II-4. Isolement et purification des bactéries lactiques

Les isolats ont été pris au hasard à partir de la gélose MRS et M17 correspondant au différents âge de fromage après fabrication (de 1 à 2 Jours) puis le stockage et l'affinage (de 1 à 3 mois).

Pour les colonies en forme de bâtonnet : la purification a été réalisée par la méthode des stries sur gélose MRS puis dans un bouillon MRS à pH 6,2.

Pour les colonies en forme de Cocci : la purification a été réalisée aussi par l'ensemencement en stries à la surface de la gélose M17 puis dans un bouillon M17. La conservation a été réalisée en ajoutant du glycérol (70 :30) à -80°C au milieu de culture.

Les isolats ont été classés au niveau espèce selon Sharpe et Feyer (1965), Balows et al. (1991) et Curket al. (1996).

II-4.1. Identification phénotypique des bactéries lactiques

Parmi les tests réalisés sur les isolats du fromage Batzos : La coloration de Gram, le test de la catalase, la capacité à croître à 10°C ,15°C et 45°C, la croissance dans un bouillon



de NaCl à 2% ,4% et 6,5%, la production de gaz CO₂ à partir du glucose, l'hydrolyse de l'esculine, dégradation des sucres et production d'acide, sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau 06: Tests réalisés pour l'identification phénotypique des isolats du fromage Grec Batzos

Les isolats	Tests réalisés
Cocci Homofermentaires (considéré comme Lactocoques)	Gram-positif, catalase-négative, capable de croître dans un bouillon à pH 9,6 dont la température est de 10 ° C mais pas 45 ° C et à une concentration de 6,5% de NaCl.
Cocci Homofermentaires (considéré comme entérocoques)	Gram-positifs, catalase-négatifs, qui se développent à 10°C et généralement à 45°C, dans un bouillon de NaCl à 6,5% et à pH 9,6, la motilité de la production d'acide à partir (arabinose, mannitol, sorbitol, raffinose....)
Hétérofermentaires Facultatifs en forme De bâtonnet	Gram-positif, catalase négative, production d'acide à partir de différents sucres (amygdaline, d'arabinose, gluconate, glucose, saccharose, et xylose...)
Lactobacilles Hétérofermentaires	production d'acide à partir (arabinose, galactose, maltose, mannose)
Les Carnobacteries	Gram-positif, catalase-cocci incapable de croître à acétate agar à pH 5,4 production d'acide à partir (L-arabinose, cellobiose, galactose, lactose...)

II-5. Analyse physico-chimiques

L'analyse physico-chimique a été faite pour rechercher les paramètres suivants :

- ✓ **Le pH :** a été mesuré par un pH mètre.
- ✓ **Humidité :** 1g de l'échantillon (poids constant) a été chauffé à 105°C
- Chlorure de sodium :** a été exprimé par la concentration de sel dans l'humidité et déterminé selon la proposition de la fédération internationale des produits laitiers.
- ✓ **Matière grasse :** a été mesuré par analyseur Milco Scan (FT120 FOSS Electric, Danemark) pour chaque échantillon, (des mesures répétées ont été réalisées).



II-6. Analyses statistiques

Pendant les différentes étapes de fabrication, de maturation et de stockage, une analyse bidirectionnelle de la variance a été réalisée sur des données obtenues.

La comparaison à 5% (niveau de signification) par différence la moins significative (LSD) entre les saisons et les périodes de stockage.



Résultats et discussion des articles

Article 1 : Caractéristiques chimiques et microbiologiques des fromages de chèvre frais traditionnels du nord du Maroc

(Ouiam El Galiou, et al ; 2015)

I. Paramètres microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des trois groupes de fromages sont représentés dans le tableau 07. On a noté des taux élevés pour tous les types de germes recherchés par rapport aux données rapportées dans la littérature pour d'autres fromages au lait cru de chèvre, cela peut s'expliquer par le haut degré de contamination lors de la fabrication du fromage et par la forte teneur en humidité de ces fromages.

A l'exception des moisissures, levure et des Staphylocoques à coagulase positive, le procédé 1 a marqué les taux les plus élevés pour tous les genres microbiens par rapport aux autres procédés.

Tous les germes dénombrés étaient significativement plus élevés dans tous les groupes de fromages par rapport aux fromages issus du procédé 3. Ceci résulte de la différence dans la qualité microbiologique du lait cru, du temps de coagulation qui est très long (3 à 24h) pour le procédé 1 et probablement au respect des normes d'hygiène dans la fabrication des fromages par le procédé 3.

Néanmoins, à l'exception des Coliformes fécaux, on n'a pas noté des différences significatives dans les dénombrements de tous les genres microbiens pour les fromages fabriqués avec des temps de coagulation plus courts (45 à 60mn) et pour les fromages qui ont subi un refroidissement de lait après la traite (procédé 2).



Tableau 07: Nombre (en log UFC/g) des principaux groupes microbiens (moyenne \pm sd) dans le fromage frais de chèvre du Nord Marocain.

	Processus 01	Processus 02	Processus 03
Flore mésophile totale	10.3 \pm 2.1 ^{a#}	9.6 \pm 1.3 ^{ab}	9.1 \pm 2.2 ^b
Flor psychotropes totale	9.1 \pm 2.2 ^a	8.6 \pm 1.8 ^{ab}	7.5 \pm 1.9 ^b
Bactéries lactiques	9.7 \pm 1.6 ^a	9.1 \pm 0.8 ^{ab}	7.9 \pm 1.1 ^b
Entérocoques	7.3 \pm 1.6 ^a	6.1 \pm 1.1 ^{ab}	5.3 \pm 1.0 ^b
Levures (présomptives)	6.9 \pm 2.2 ^a	7.4 \pm 2.0 ^a	6.1 \pm 1.9 ^b
Moisissures (présomptives)	4.9 \pm 1.3	5.1 \pm 1.2	4.4 \pm 0.9
Coliformes totaux	6.5 \pm 1.5 ^a	5.4 \pm 1.3 ^{ab}	4.7 \pm 1.0 ^b
Coliformes fécaux	3.7 \pm 0.5 ^a	1.8 \pm 0.3 ^b	1.1 \pm 0.4 ^b
Staphylocoques à coagulase+	<2,0	<2,0	<2,0

= Les moyennes dans la même rangée avec des lettres en exposants différentes considérablement ($P < 0.05$).

▪ Bactéries mésophiles et bactéries lactiques

Le procédé 1 a marqué un nombre total de bactéries mésophile et de bactéries lactiques (valeurs moyennes de 10,3 et 9,7 log UFC/g respectivement) plus élevés que ceux trouvés dans d'autres variétés de fromages au lait de chèvre cru décrit par Hatzikamari et al, (1999) ; Psoni et al (2003) et Bontinis et al, (2008).

▪ Bactéries psychotropes

Le dénombrement des bactéries psychotropes dans les fromages issus par le procédé 1 a donné des valeurs moyennes de 9,1 log UFC/g inférieures à celles trouvées dans le fromage frais au lait de chèvre cru appelé Anevato (9,2 à 11,8 log UFC/g après salage (Hatzikamari et al, 1999).

▪ Levures

Par rapport aux autres fromages au lait de chèvre cru, les dénombrements des levures (de 6,1 à 7,4 log UFC/g) étaient plus élevés que celui du fromage cité par Hatzikamari et al, (1999) ; et Psoni et al (2003), mais similaire à ceux trouvés dans le fromage Xinotyri durant les travaux de Bontinis et al, (2008).



La forte présence de levures aurait pu être favorisée par le pH qui été bas lors de la fabrication des fromages et par la libération intense des acides gras libres par le phénomène de la lipolyse.

- **Entérocoques**

Les charges des Entérocoques (de 5,3 à 7,3 log UFC/g) étaient similaires à ceux observés dans d'autres variétés de fromages frais ou affinés obtenu à partir du lait cru de chèvre selon les travaux de Hatzikamari et al, (1999); Martin-Platero et al, (2009).

- **Coliformes totaux et fécaux**

On a noté des taux élevés de coliformes totaux (4,7 à 6,5log UFC/g) malgré les pH qui été bas.

Concernant les coliformes fécaux, des valeurs élevées (3,7 log UFC/g) ont été remarqué dans les fromages issus du procédé 1. Ces nombres élevés de Coliformes semblent être normale dans les fromages cru de chèvre de Hatzikamari et al, (1999) ; Olarte et al, (2000) ; et Psoni et al, (2003).

Les Entérobactéries et les Coliformes sont cités dans les normes internationales comme organismes indicateurs de la qualité microbiologique des aliments. En effet les niveaux élevés de ces bactéries dans les fromages au lait cru préoccupent les industries laitières car c'est un problème important pour la technologie et pour la santé publique.

- **Staphylocoques à coagulase positifs**

La charge des Staphylocoques à coagulase positifs (<2,0 log UFC/g) étaient inférieurs aux normes, il en est de même pour tous les fromages au lait cru de chèvre cités par Psoni et al (2003) et Bontinis et al, (2008).L'absence de ces bactéries est dû à la diminution du pH du fromage et à l'action antagoniste des bactéries lactiques. Néanmoins *Staphylococcus aureus* a été détecté (3 à 6 log UFC/g) dans d'autres fromages à base de lait cru de chèvre décrit par Olarte et al, (2000).

- **Bactéries pathogènes : Salmonella et Listeria monocytogenes**

Salmonella n'a été détectée dans aucun des échantillons de fromages, en revanche *Listeria monocytogenes* a été détectée dans quatre échantillons correspondant au groupe de fromages issus du procédé 1.



Selon Rovik et Yndestad (1991), la contamination du fromage par *L.monocytogenesse* produit principalement pendant la manipulation à cause des conditions environnementales incontrôlées pendant la fabrication.

II. Identification des isolats des bactéries lactiques

L'identification des isolats des bactéries lactiques sont révéler dans le tableau suivant :

Tableau 08: Identification des isolats des bactéries lactiques obtenus à partir de fromages de chèvre frais du Nord-Maroc.

	Procédé01		Procédé02		Procédé03		Nombre total	Pourcentage total
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%		
Enterococcus	128	(85.9)	65	(78.3)	56	(78.9)	249	(82.2)
Lactococcus	14	(9.4)	11	(13.3)	11	(15.5)	36	(11.9)
<i>Lactococcuslactis</i>	3		1		-		36	
<i>L. lactissubsp.lactis</i>	6		4		4		14	
<i>L. lactissubsp. lactiscit+</i>	5		6		7		18	
<i>Lactobacillus</i>	4	(2.7)	3	(3.6)	2	(2.8)	9	(3.0)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	3		2		2		7	
<i>L. paracasei</i>	1		1		-		2	
Non identifié	3	(2.0)	4	(4.8)	2	(2.8)	9	(3.0)
Total	149		83		71		303	

On a obtenu un total de 400 isolats, 27 ont été perdus dans le processus de sous-culture, 70 n'étaient pas des isolats de bactéries lactiques.

303 isolats ont été identifiés comme bactéries lactiques en fonction de leurs caractéristiques phénotypiques. Puis les isolats ont été attribués au niveau du genre ou de l'espèce par PCR, à l'exception de 9 isolats (3,0 % du nombre total des bactéries lactiques) qu'on n'a pas pu les attribuer au niveau du genre ou de l'espèce avec les amorces utilisées dans ce travail.



▪ **Enterococcus**

Enterococcus étaient le genre prédominant (249 isolats) parmi les isolats des bactéries lactiques obtenus à partir des 3 procédés de fabrication (78% procédé 2 ; 79% procédé 3 ; 86% procédé 1), les travaux faites par Sarhan et al, (2009) pour d'autres variétés de fromages à base de lait cru de chèvre ont montrés que les Entérocoques principalement *Entérocooccus faecalis* et *E. faecium* ont été signalés comme la flore dominante.

D'après Szrhan et al, (2009), les Entérocoques présents dans les produits laitiers ont longtemps été considérées comme le résultat des conditions insalubres lors de la collecte et du traitement du lait cru, ainsi que leur adaptabilité à différents substrats et leur résistance aux conditions de croissance défavorables

Les Entérocoques jouent un rôle important dans le développement de la saveur typique du fromage, en raison de leurs activités protéolytiques et lipolytiques ainsi que de leur capacité à métaboliser le citrate (Psoni et al, 2003 ; Serhan et al, 2009). Toutefois, tous les doutes concernant le double rôle des entérocoques en tant que microorganismes bénéfiques ou pathogènes opportunistes et les difficultés pour faire la distinction entre les souches alimentaires et pathogènes ne garantissent pas l'utilisation de ces microorganismes dans la fabrication du fromage (Martin-Platero et al, 2009).

▪ **Lactococcus**

Le genre Lactococcus était présent dans les trois procédés, avec 36 isolats (12% du total des isolats de bactéries lactiques). 18 isolats ont été identifiés comme *L. lactis subsp. Lactiscit+*, qui étaient les Lactocoques prédominants dans les fromages fabriqués selon le procédé 2 et 3.

▪ **Lactobacillus**

9 isolats (3 % du total) étaient attribués au genre *Lactobacillus plantarum* présent dans les trois groupes de fromagers (7 isolats au total). Elle a été considérée comme la principale bactérie isolée pour d'autres variétés de fromages à base du lait de chèvre selon les travaux de Hatzikamari et al, (1999) ; Olarte et al, (2000) et Martin-Platero et al, (2009). *Lactobacillus parcasei* a été isolé à partir des fromages fabriqués selon le procédé 1 (1 isolat) et le procédé 2 (1 isolat). Cette sous espèce a été également isolée parmi les espèces prédominantes de lactobacilles dans d'autres fromages au lait de chèvre cru cités par Di Cagno et al, (2007).



Analyse d'article 2 : Caractéristiques microbiologiques de Batzos, un fromage Grec au lait de chèvre cru

(L. Psoni, et al ; 2003)

I. Paramètres chimiques

- **pH** : Des taux bas de pH ont été remarqué les 2 premier jours est dû à la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques.
- **NaCl** : On a noté des valeurs élevé de NaCl dû à la concentration élevée de sel dans la saumure.

Tableau 09 : Valeurs du pH, de l'humidité et du NaCl pendant la production, l'affinage et le stockage du fromage Batzos fabriqué en hiver, printemps et été

Groupe Microbiennes	Les jours à 15°C			Les jours à 4°C			
	1	2	12	30	60	90	180
Hiver pH Humidité NaCl dans l'humidité	5,94±0,23 47,55±3,92	5,61±0,27 46,69±1,08	5,64±0,3 48,33±3,88 7,54±1,44	5,63±0,11 49,86±6,57 9,10±0,70	5,63±0,11 51,64±4,54 10,39±0,35	5,28±0,08 50,48±3,50 11,70±0,48	5,23±0,15 50,62±4,38 10,29±0,92
Printemps pH Humidité NaCl dans l'humidité	5,39±0,11 52,15±0,62	5,30±0,05 53,7±11,13	5,39±0,03 45,69±0,78 9,97±1,47	5,34±0,05 40,2±3,01 12,00±0,18	5,63±0,02 39,59±1,72 11,26±1,18	5,80±0,10 43,78±0,29 11,80±0,78	6,06±0,20 45,9±0,58 13,50±0,52
Eté pH Humidité NaCl dans l'humidité	5,93±0,33 51,99±0,98	5,20±0,13 54,5±33,00	5,38±0,144 48,96±2,77 10,49±1,35	5,70±0,08 45,83±3,73 10,93±2,45	5,61±0,16 40,85±2,46 13,02±0,86	5,50±0,01 42,50±1,50 11,47±0,42	5,66±0,15 44,16±1,4 12,37±0,67

Les valeurs sont la moyenne de trois essais de fabrication de fromage. La teneur en matière grasse du fromage au jour 2 varie entre 23,5% et 25% pour les neufs essais de fabrication de fromage.



II. Paramètres microbiologiques trouvés

Les résultats de l'évolution du dénombrement de la flore microbienne ont été obtenus pendant la phase de fabrication, d'affinage et du stockage au fil des saisons. Qui sont représentés dans les tableaux de 10 à 12. Aucun changement du nombre de germe lié à la saison n'a été observé une fois que le fromage a été affinés et conservés à 4°C, mais un changement significatifs ($P < 0,05$) de la charge microbiennes tout au long de la maturation et du stockage a été enregistré.

- **Bactéries lactiques**

Premier jour: les bacterielactiques été considéré le groupe prédominant sur gélose M17 avec une valeur de 0,92-5,75 \log_{10} CFU g^{-1} en hiver. (Tableau 10). Deuxième jour: augmentation du taux des bactéries lactiques sur gélose MRS, RA et M17 jusqu'à ce qu'il atteint le maximum, puis une diminution progressive ($p < 0,05$) a été observé jusqu'à la fin du stockage du fromage durant toute la saison.

Les bactéries lactiques sont les groupes prédominant par rapport aux autres groupes microbiens pendant la période de maturation et du stockage du fromage Batzos à base de lait cru ovin ceci a été déjà démontré dans les travaux de Nikolaou et al, (2002). D'après Mund, (1986) la contamination lors de la fabrication explique leurs niveaux élevés.

Tableau 10: Charge trouvées des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir du lait cru de chèvre en hiver

Groupe Microbiennes	Jour à 15°C			Jours à 4°C			
	1	2	12	30	60	90	180
Flore total	8,31 ^{bc} ±0,77	8,84 ^c ±0,73	7,69±0,65	7,26±0,71	6,85±0,35	7,58±0,11	7,47±0,89
Entérobactéries	6,51 ^d ±0,28	6,31 ^d ±0,20	5,79±0,17	4,28 ±1,98	3,47±0,86	2,76±1,07	1,66±1,52
Coliforme	6,51 ^d ±0,34	6,33 ^{cd} ±0,21	6,12±0,17	4,47±1,63	3,90±1,25	2,99±0,78	1,78±1,62
Staphylocoque	4,86 ^{cd} ±0,83	5,12 ^d ±1,57	4,75 ±1,25	3,33 ±0,58	2,88±0,76	2,60±0,51	2,04±1,78
LAB(GéloseMR)	7,38 ^{bc} ±0,95	8,34 ^d ±0,10	8,16±0,26	7,46±0,21	6,94±0,23	7,1±0,51	6,27±0,55
LAB(GéloseM17)	7,43 ^{bcd} ±0,81	8,28 ^d ±0,18	7,76±0,20	7,33±0,34	6,63±0,27	7,21±0,38	6,47±0,67
Lactobacillus	5,27 ^a ±0,32	5,52 ^a ±1,25	5,02±0,63	4,62±1,00	5,19±1,10	4,96±1,35	4,60±1,65
Enterococcus	5,92 ^a ±0,43	6,55 ^a ±1,01	6,36±0,82	5,49±0,58	5,49±1,17	6,39±0,89	4,70±1,98
Levures	1,68 ^a ±0,69	2,33 ^a ±0,94	8,81±0,23	2,44±0,53	2,32±0,26	1,56±1,05	2,60±1,40

Les valeurs sont la moyenne de trois essais de fabrication du fromage.



Tableau 11 : Taux trouvé des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir du lait cru de chèvre au printemps

Groupe microbiennes	Jours à 15°C			Jours à 4°C			
	1	2	12	30	60	90	180
Flore total	8,00±1,25	8,58± 0,10	7,81±0,14	7,45±0,36	8,06±0,33	6,86±0,28	7,21±0,36
Enterobacteries	6,39±0,99	6,63±0,18	5,22±0,65	4,31±0,94	4,35±0,20	2,20±1,90	0,00±0,00
Coliforme	6,45±1,00	6,63± 0,18	5,54±0,40	4,66±0,92	4,43±0,66	3,03±0,89	0,00±0,00
Staphylococcus	6,23±0,57	6,57± 0,43	5,59±0,55	4,94±0,65	5,00±0,88	3,91±1,03	2,30±0,00
LB MRS	7,23±1,16	7,65± 0,59	7,43±0,38	7,22±0,65	7,17±0,25	6,46±0,55	6,55±0,21
LB M17	7,51±1,11	8,53± 0,10	8,03±0,07	7,04±0,51	7,58±0,04	6,80±0,20	7,46±0,75
Lactobacillus	5,38±0,08	6,53± 0,80	7,05±0,33	6,73±0,32	6,91±0,07	6,27±0,14	6,07±0,03
Enterococcus	6,03± 0,26	7,06± 0,50	7,03±0,61	6,77±0,57	6,62±0,53	6,04±1,08	5,01±0,822
Levure	2,85±0,82	3,20± 0,54	3,08±0,33	2,66±0,57	3,16±0,41	6,64±0,30	2,15±1,24

Voir la légende du tableau 10

Tableau 12 : valeurs trouvées (x7SD) des groupes microbiens pendant la fabrication, l'affinage et le stockage du fromage Batzos à partir de lait de chèvre cru en été

Groupe Microbiennes	Jours à 15°C			Jours à 4°C			
	1	2	12	30	60	90	180
Flore total	7,69±0,30	8,08±0,42	7,59±0,17	7,56±0,51	6,95±0,60	6,79±0,84	7,70±0,71
Enterobacteries	6,79±0,19	6,44±0,90	5,43±0,61	4,48±0,70	3,94±1,15	1,62±1,47	1,82±1,60
Coliformes	6,75±0,60	6,71±0,72	5,86±0,40	5,50±0,70	3,69±0,40	1,34±1,16	1,94±1,74
Staphylococcus	5,88±0,43	6,25±0,55	5,87±0,27	4,84±1,22	3,73±1,88	3,86±2,01	1,02±1,77
LB MRS	7,37±0,46	8,01±0,30	7,68±0,33	6,90±0,80	6,65±0,92	6,90±0,47	5,81±0,56
LB M17	7,49±0,47	7,96±0,35	7,93±0,31	7,12±0,53	7,02±0,81	6,90±0,74	6,09±0,50
Lactobacillus	5,12±0,04	6,05±0,50	6,26±0,89	6,05±0,74	5,53±0,40	5,15±0,41	4,69±1,20
Enterococcus	5,41±0,08	6,20±0,35	6,75±0,97	6,00±1,19	5,51±1,59	5,79±1,27	5,49±0,01
Levures	2,54±0,10	3,01±0,32	3,59±0,45	3,51±0,45	3,36±0,28	2,23±0,48	1,79±1,78

Voir la légende du tableau 10



- **Les Lactobacilles, Lactocoques et Entérocoques**

Au deuxième jour, les Lactobacilles et Lactocoques après avoir atteint un pic de croissance, ont diminué d'une façon significatif jusqu'à la fin du stockage. Selon Desmazeaud,(1992), certaines espèces de Lactobacilles résistent à des concentrations de sel de 6,5ce qui a conduit à leur multiplication dans le fromage. Cependant, une concentration élevée de saumure de 7,5 à 13,5% dans le fromage de 12 jours jusqu'à la fin de l'entreposage a évidemment contribué à leur déclin. (Tableau 09)

Aussi les Enterocoques, leur capacité à résister aux conditions défavorables comme les concentrations élevées de sel indique le niveau d'hygiène des lieux.

- **Entérobactéries et Coliformes**

Le nombre d'Entérobactéries et des Coliformes, étaient élevé tout au long de la saison, cela suggère la contamination du lait cru pendant la traite, le stockage et le transport non réfrigérés. D'après Hatzikamari et al, (1999) ; Macedo et al, (1995) ; Nikolaoet al, (2002) ; Zarate et al, 1997) une possible contamination du fromage pendant la fabrication semble normale pour les fromages du lait cru caprins et ovins.

La maturation et le stockage ont eu une influence significative ($P<0,05$) sur le nombre d'Entérobactéries et de Coliformes ; le nombre de ces deux types de bactéries diminuent progressivement pendant 1 jour jusqu'à 6 mois durant l'hiver et l'été.

Des niveaux élevés d'Entérobactéries dans les fromages au lait cru sont préoccupants pour la technologique et la santé publique en raison de leur importance dans les industries laitières. Ils sont mondialement considérés comme des organismes indicateurs de la qualité microbiologique des aliments. Cependant la présence de ces microorganismes dans le fromage peut constituer un obstacle sérieux pour la commercialisation du produit.

Mais dans les lots fabriqués au printemps, après avoir eu une augmentation non significative ($P<0,05$) des Entérobactéries et Coliformes jusqu' à 2 jour, il a été constaté une diminution plus accélérée de ces microorganismes, chose qui n'a pas été détectés dans le fromage de 6 mois. D'après Zarate et al,(1997) divers facteurs contribuent à la diminution de ces groupes pendant la maturation ceci est dû à une augmentation significative ($P<0,05$) de la concentration en NaCl.



Cependant, les valeurs de pH respectivement de (5,94–5.23, 5.30–6.06) et (5.20–5.70) pour les fromages fabriqué pendant toutes les saisons (tableau 12), ne semble pas être efficaces pour l'élimination rapide des Entérobactéries car selon Medina et al, (1991); ces bactéries nécessitent des valeurs de pH inférieures à (5,0– 5.20) pour les inhiber. La baisse du pH remarqué les 2 premiers jours est due à la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques.

Les résultats montrent qu'il y a eu un arrêt de croissance de ces microorganismes à cause de la baisse de température de stockage (4°C), la concentration élevée de sel dans la saumure et l'activité antibactérienne par les bactéries lactiques.

- **Levures**

En hiver et au printemps pendant la maturation et le stockage, aucun changement significatif ($P < 0,05$) n'a été observé pour le nombre de levures. ; Alors qu'en été il y'a eu une augmentation ($P < 0,05$) des levures dans le fromage fabriqué jusqu'à une croissance maximale aux 12 jours, puis une diminution ($P < 0,05$) à des niveaux faibles 2 log₁₀ en 6 mois.

Le nombre de levures dans les fromages Batzos était faible, comme également observé pour d'autres variétés de fromages à base de lait cru de chèvre (Zarate et al. 1997 ; Mor-MUR et al, 1994). Selon (Macedo et al. (1995) les levures peuvent contribuer aux processus de maturation en utilisant de l'acide lactique ou par leur activité protéolytique et lipolytique.

- **Staphylocoques**

On a observé une diminution ($P < 0,05$) progressive de ces microorganismes de (3,08-4,27 et 5,33 log₁₀CFU g⁻¹) en fin de stockage dans le fromage fabriqué respectivement en hiver, printemps et été

La charge des staphylocoque dans le fromage Batzos aux premier stade de maturation était supérieur à celle trouvé par Zarate et al,(1997) dans le fromage Tenerife et par Medina et al,(1992) dans le fromage Gredos, mais le nombre dans les trois variétés de fromages est presque le même pendant la maturation. La croissance maximale de Staphylocoques est produite le 2ème jour. L'espèce *S.aureus* n'a pas été détectée. De plus, malgré que les staphylocoques tolèrent le sel, ils peuvent être inhibés par le pH et par la concentration de NaCl et d'autres facteurs antagonistes créés dans le fromage selon Litopoulou-Tzanetaki, (1977)



II. Evolution des bactéries lactiques tout au long de la maturation

Le tableau 13 montre les espèces de bactéries lactiques isolées pendant l'affinage et stockage du fromage Batzos tout au long des saisons.

Le milieu d'isolement MRS à pH 6,2 permet la croissance des Lactobacilles, Lactocoques, Leuconostocs et Pédicoques (Reuter, 1985) mais d'après Litopoulou-Tzanetaki et Tzanetakis, (1992), les Entérocoques peuvent aussi se développer, les résultats du tableau 13 montrent que chaque saison a eu un effet sur la prédominance de certaines bactéries lactiques. Ainsi, dans le fromage fabriqué en hiver, les Entérocoques prédominaient, ceci est observé aussi par Lopez-Diaz et al. (2000) dans le fromage affiné Valdeon.

II.1. Evolution des Lactocoques

Les Lactocoques isolés des fromages fabriqués au printemps et en été, étaient moins fréquents contrairement qu'en hiver.

La principale espèce de Lactocoques était *lactococcus lactis subs lactis*. Cette espèce a diminué pendant la maturation du fromage Batzos, en raison principalement de l'effet inhibiteur d'une teneur élevée en NaCl (tableau 09).

D'autres isolats de Lactocoque ont été trouvés comme *Lact.lactis subs cremoris*, et était suggérée par leur incapacité à hydrolyser l'arginine et croître à 4°C en présence de 4% de NaCl.

II.2. Evolution des lactobacilles tout au long de la maturation

En revanche les lactobacilles hétérofermentaires facultatives, étaient isolés plus fréquemment des fromages fabriqués au printemps et été, qu'en hiver. Ces organismes constituaient les 3,44%, 56,00% et 44,83% des isolats dans les fromages de 1 jour fabriqués en hiver, printemps et été, respectivement.

En été *Lactobacillus plantarum* et *Lb. paraplantarum* étaient les principales espèces de lactobacilles isolées.

Les souches de Lactobacilles hétérofermentaire, strictes, Leuconostocs, Carnobactéries ont également été trouvées, mais en petit nombre. *Carnobacterium piscicola* et *C. divergens*, trouvés, dans fromage Batzos, sont des espèces communes du fromage français (Milliere et al., 1994).



II.3. Evolution des Enterocoques tout au long de la maturation

Les Enterocoques étaient abondants dans les fromages fabriqués en hiver. Cela pourrait s'expliquer d'après Macedo et al. (1995) par les mauvaises conditions de développement en hiver, lorsque les animaux passent le plus de leur temps en écuries. Leur fréquence a augmenté avec l'avancement de la maturation et du stockage soit 10,34%, 24,13%, 38,46%, 37,49% et 74,08% des isolats du fromage âgé de 1, 12, 30, 60, et 90 jours, respectivement.

Ent. durans était la seule espèce trouvée dans le fromage de 1 jour (10,34% des isolats), mais plus tard d'autres Enterocoques ont émergé, comme *Ent. Hirae*, *Ent. Faecium* et *Ent. Saccharolyticus*. Néanmoins, *Ent. durans* étaient l'espèce prédominante tout au long de la maturation et stockage.

Certaines souches d'Entérocoques ont également été trouvées tout au long de l'affinage et du stockage du fromage fabriqué au printemps, tandis que pour le fromage fabriqué en été, un seul *Ent. hiraea* été isolée à partir du fromage âgé d'un jour.

Donc, dans le fromage a qualité uniforme, les bactéries présentes principalement sont des bactéries lactiques qui ont une grande influence sur les propriétés organoleptiques du fromage Batzos de manière positive en termes de forme, de goût, d'arôme et de qualité. Alors l'inoculation du lait cru de chèvre avec certaines souches pourraient accélérer la disparition des Enterobacteriaceae pendant la maturation selon Gaya et al, (1983).



Tableau 13: Variation saisonnière (nombres d'isolats du milieu MRS et %) chez les espaces de bactéries lactiques isolé du fromage Batzos tout au long de l'affinage

temps	Espèces	Hiver	%	printemps	%	été	%
1	<i>Lact. lactis subsp lactis</i>	20	69.00	7	28.00	15	51.72
	<i>Lact. lactis subsp cremoris</i>	3	10.34	—	—	—	—
	<i>Lact. Raffinolactis</i>	1	3.44	3	12.00	—	—
	<i>Ent. Durans</i>	3	10.34	—	—	—	—
	<i>Ent. Faecium</i>	—	—	1	4.00	—	—
	<i>Ent. Hirae</i>	—	—	—	—	1	3.45
	<i>Lb. Plantarum</i>	1	3.44	9	36.00	6	20.69
	<i>Lb. Paraplantarum</i>	—	—	5	20.00	6	20.69
	<i>Lb. paracasei subsp tolerans</i>	—	—	—	—	1	3.45
	<i>Leuconostoc</i>	1	3.44	—	-	-	-
2	<i>12 Lact. lactis subsp lactis</i>	16	55.17	—	—	10	35.71
	<i>Lact. lactis subsp cremoris</i>	3	10.35	—	—	—	—
	<i>t. durans</i>	6	20.68	2	7.14	—	—
	<i>Ent. Hirae</i>	1	3.45	1	3.57	—	—
	<i>Lb. Plantarum</i>	—	—	12	42.86	11	39.29
	<i>Lb. Paraplantarum</i>	1	3.45	12	42.86	6	21.43
	<i>Lb. Sake</i>	—	—	1	3.57	—	—
	<i>C. piscicola</i>	1	3.45	—	—	—	—
	<i>Leuconostoc</i>	—	—	—	—	1	3.57
12	<i>Lact. lactis subsp lactis</i>	14	53.85	3	11.11	4	13.79
	<i>Ent. durans</i>	5	19.23	1	3.70	—	—
	<i>Ent. Faecium</i>	2	7.69	—	—	—	—
	<i>Ent. Saccharolyticus</i>	3	11.54	—	—	—	—
	<i>Lb. Plantarum</i>	—	—	15	55.56	15	51.72
	<i>Lb. Paraplantarum</i>	—	—	2	7.41	6	20.69
	<i>Lb. paracasei subsp tolerans</i>	—	—	2	7.41	—	—
	<i>Lb. Curvatus</i>	—	—	2	7.41	—	—



	<i>Lb. Pentosus</i>	—	—	1	3.70	1	3.45
	<i>C. piscicola</i>	2	7.69	1	3.70	2	6.90
	<i>C. divergens</i>	-	-	-	-	1	3.45
30	<i>Lact. lactis subsp lactis</i>	14	53.85	3	11.11	4	13.79
	<i>Ent. Durans</i>	5	19.23	1	3.70	—	—
	<i>Ent. Faecium</i>	2	7.69	—	—	—	—
	<i>Ent. Saccharolyticus</i>	3	11.54	—	—	—	—
	<i>Lb. Plantarum</i>	—	—	15	55.56	15	51.72
	<i>Lb. Paraplantarum</i>	—	—	2	7.41	6	20.69
	<i>Lb.paracasei subsp tolerans</i>	—	—	2	7.41	—	—
	<i>Lb. Curvatus</i>	—	—	2	7.41	—	—
	<i>Lb. Pentosus</i>	—	—	1	3.70	1	3.45
	<i>C. piscicola</i>	2	7.69	1	3.70	2	6.90
	<i>C. divergens</i>	-	—	—	— 1	3.45	24
60	<i>Lact. lactis subsp lactis</i>	11	45.84	3	10.00	27	.14
	<i>Ent. Durans</i>	6	25.00	1	3.34	—	—
	<i>Ent. Faecalis</i>	2	8.33	—	—	—	—
	<i>Ent. Faecium</i>	1	4.16	—	—	—	—
	<i>Lb. Curvatus</i>	4	16.67	2	6.68	2	6.90
	<i>Lb. Plantarum</i>	—	—	9	30.00	6	20.67
	<i>Lb. Paraplantarum</i>	—	—	13	43.3	7	24.14
	<i>Lb. Pentosus</i>	—	—	6.68	2	6.90	6.90 3.45
	<i>Lb.paracasei subsp tolerans</i>	—	—	—	—	2	3.45
	<i>Lb. Brevis</i>	—	—	—	—	1	3.45
	<i>Lb. Buchneri</i>	—	—	—	—	1	—
	<i>C. piscicola</i>	—	—	—	—	1	—
90	<i>Lact. lactis subsp lactis</i>	6	22.22	3	10.00	6	23.07
	<i>Ent. Durans</i>	12	44.44	1	3.33	—	—
	<i>Ent. Hirae</i>	1	3.70	—	—	—	—
	<i>Ent. Faecalis</i>	5	18.53	—	—	—	—
	<i>Ent. Faecium</i>	2	7.41	—	—	—	11.55
	<i>Lb. Plantarum</i>	—	—	6	20.00	3	42.30
	<i>Lb. paraplantarum</i>	1	3.70	6	20.00	11	15.40
	<i>Lb. paracasei subsp tolerans</i>	—	—	8	26.66	4	-
		<i>Lb. oryiformis</i>	-	-	2	6.67	-



	<i>Lb. Curvatus</i>	—	—	2	6.67	1	—
	<i>Lb. Sake</i>	—	—	2	6.67	—	—
	<i>Lb. Pentosus</i>	—	—	—	1	3.84	



***Conclusion
générale***



Les analyses microbiologiques ont montrés que les deux échantillons de « Hakka », sont riches en Lactocoques comme flore lactique, et aussi en Levures et Moisissures .Bacillus et Staphylocoque sont présent aussi mais les bactéries pathogènes comme Salmonella et Clostridium sont absents. Les Entérobactéries comme les Coliformes qui sont les germes de contamination fécale sont aussi absents.

Pour les résultats des deux articles, les analyses microbiologiques du fromage du Nord du Maroc, ont montré l'absence des bactéries pathogènes comme Salmonella et Staphylococcus alors que *Listeria monocytogenes* existe dans quatre échantillons. Les levures, les bactéries mésophiles, et les bactéries lactiques comme les Entérocoques sont présents avec des charges élevées, ainsi que les Entérobactéries surtout les Coliformes.

Ces résultats suggèrent la nécessité d'utiliser du lait traité, d'améliorer la qualité du lait et les conditions d'hygiène pendant la fabrication du fromage.

Concernant le fromage traditionnel Grec, les levures existent à des taux très faibles alors que les principales bactéries présentes sont les bactéries lactiques à savoir les Entérocoque, les Lactobacille et les Lactocoques. Leurs présence dans le fromage a permis l'inhibition des Entérobactéries comme les Coliformes et des bactéries pathogènes comme Staphylococcus durant la saison de maturation et de stockage. Cette activité antimicrobienne est dû à l'acide lactique produite par les bactéries lactiques donc à la diminution du pH et aussi à l'augmentation de la concentration en sel dans le produit. Les bactéries lactiques présent sont joué aussi un rôle important dans les propriétés organoleptiques du fromage Batzos.



Références bibliographiques

Abid,Z. 2015. Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques Agro-alimentaire .Université Mentouri de Constantine, Algérie ,72p.

Aissaoui Zitoun O., Zidoune M.N., 2006. Le fromage traditionnel algérien "bouhezza". Séminaire d'Animation Régional. ' Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments ',INSAT – Tunis (communication orale), Tunisie / 27 – 28 – 29 novembre Actes des sommaires. Pp 118 à 124.

Aissaoui Z., Senoussi A., Adoui F., Zidoune M.N., 2012. Fromage de Terroir *Bouhezza* : Identification biochimique de la flore lactique. Université Constantine. Env. Vol 10 n°2. Pp 289-295.

Aissaoui Zitoun O. 2014. Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « Bouhezza ». Thèse de doctorat en Sciences alimentaires, INATAA Constantine. Université de Constantine 1. 174P.

Alais. C. 1984. Sciences du lait: Principes et techniques laitiers. IVe édition, Ed. SEPARC, Paris, 814 p.

Balcones E., Olano A. and Calvo m.M. 1996.Factors affecting the rennet clotting properties of ewe's milk. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1993–1996.

Bansal, N., P. Fox, and P.L.H. McSweeney, 2007.Aggregation of Rennet-Altered Casein Micelles at Low Temperatures.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**: p. 3120-3126.

Becila A. (2009). Préventions Des Altérations et Des Contaminations microbiennes des aliments. Mémoire du diplôme de post graduation. Université Mentouri Constantine. Pp 30-33

Belbeldi, A. 2013. Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza : contenu lipidique et vitamines. Mémoire de Magister en sciences alimentaires. Zidoune M.N. université Mentouri -Constantine. Algérie.190p.

Belhamiche, N. 2005. Extraction, purification et caractérisation de la coagulase du *Mucor pusillus*. Thèse de magister. Institut national agronomique EL-Harrach. p 11.



Bencharif, A., 2001. Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches* 32: 25-45.

Benderouich B.,2009. La kémaria: un produit du terroir à valoriser. . Mémoire de master, Institut de biologie, Université D' Ouargla, Algérie, 12 p.

Bendimerad , N, 2013. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «*Jben.* » Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie.P 67.

Ben Danou C. 1929. Quelques notes de laiterie sur l'Algérie. Le lait : INRA Editions 9 (82), pp161-163. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00894939/document>

Benkerroum N, Tamime AY. 2004. Technologytransfer of some Moroccan traditionaldairy products (lben, jben and smen) to small industrials cale: areview.*Food Microbiol.*21:399–413.

Benkerroum N. 2013. Traditional Fermented Foods of North African Countries : Technology and Food Safety Challenges With Regard to Microbiological Risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.*12 :54.

Benkheniche A. et Kaya A. 2013. Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « Mechouna » et un autre fromage au Lben. Mémoire d'Ingénieur d'état en Nutrition, Alimentation et Technologies Agro-alimentaires. Aissaoui Zitoun, O., Université de Constantine1. Algérie. 48p.

Béal C. et Sodini I. 2012. Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur f6315, Paris-France, 16 p.

Boudjaib S. 2013. Etude physicochimique du produit laitier traditionnel du sud algérien Jben : recherche du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques. Mémoire de Master en Biologie.

Bouraoui A. (2014). Intérêt de fabrication de fromage analogue. Mémoire master. Institut supérieur de biotechnologie de Monastir , Tunisie.

Bousnane M. et Djadi O. 2009. Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien «Takammarite» de la région de Ghardaïa. Mémoire d'Ingénieur. Aissaoui Zitoun O. Université Mentouri-Constantine. Algérie.48p.



Brisabois A., Lafarge V., Brouillaud A., Buysse B.L., Collette C., Garin.Bastuji B., Thorel M.F., SD. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Centre national d'études vétérinaires et alimentaires. Paris. Vol 20. Pp 457-458.

Camps G. (1984) Encyclopédie berbère, Volume IV Alger - Amzouar. Ouvrage publié avec le concours et sur la recommandation du Conseil International de la Philosophie et des sciences humaines UNESCO. ISBN 2-85744-201-7 & 2-85744-282-3. Editions Edisud, France PP447-629.

Carson A, Hill C, Olson NF.1987. Kinetics of milk coagulation: III mathematical modelling of the kinetics of curd formation following enzymatic hydrolysis of kappa-casein parameter estimation. *Biotechnology and Bioengineering*, **29**: 601-611.

Cattaneo T.M. P., Nigro F., Messina G. and Giangiacomo R. (1994). Effect of an enzymatic complex from pineapple pulp on the primary clotting phase. *Milchwissenschaft*, **49**, 269–272.

Choisy C., Desmazeaud M.J., Gripon J.C., Lambert G. et Lenoir J., 1997. Partie I, Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. Chapitre 4, Labiochimie de l'affinage, dans "Le fromage", 3ème édition. Lavoisier Tec. et Doc. Coord.Ecka., Gillis J-C. Pp 86 à 153. 875 p.

Claverie-Martín F. and Vega-Hernández M.C. (2007). Aspartic Proteases Used in Cheese Making; In « Industrial Enzymes » ed Polaina and A.P. MacCabe, Springer.

Claps, S., Morone, G. 2011. Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, CorFilac 57-77.

CODEX STAN 283 (1978) Codex Standard 283-1978, Norme générale Codex pour le fromage, 8p.

Dalgleish, D.G.,1979. Proteolysis and aggregation of casein micelles treated with immobilized or soluble chymosin. *Journal of Dairy Research*, **46**: p. 653-661.

Dalgleish, D. G., & Corredig, M. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, **3**, 449-467.



Daviau, C, Famelart MH, Pierre A, Goudedranche H, Mauboi JL. 2000. Rennet coagulation of skim milk and curd drainage : effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. *Lait*, **80**: 397-415.

Denis P. (1989) Les derniers nomades. L'Harmattan. 631 p.

Derouiche M. et Zidoune M-N. (2015) Caractérisation d'un fromage traditionnel, le *Michouna* de la région de Tébessa, Algérie. *Livestock Research for Rural Development. Volume 27*.

Djoughri, K., Madani, S. (2015). Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de master, Institut de biologie, Université d'Orghla, Algérie, 05 p.

Duval J. (1855) Ministère de la guerre-Direction des affaires de l'Algérie : Catalogue explicatif et raisonné des produits Algériens (guide pour l'exposition permanente de l'Algérie Rue de Grenelle Saint-Germain, 107). Librairie de Firmin Didot Frères, imprimeurs de l'Institut. Paris, Rue Jakob, 56.

Eck, A., 1997 .Le fromage : de la science à l'assurance qualité. Catalogue Méditerranéen Agri du Centre de Documentation Méditerranéen. Tec et Doc Lavoisier. Paris.

Egito A.S., Girardet J.M., Laguna L.E., Poirson C., Molle D., Miclo L., Humbert G. and Gaillard J.L. (2007). Milk clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine κ -casein. *Int. Dairy J.*, 17, 816–825.

Fabienne Guérard, 1987. Une utilisation des enzymes proteolytiques extraites des viscères de poissons : la coagulation du lait. *Reo. Trou. Inst. Pêches maritimes*, 49 (3 et 4) : 199-203.

Farkye n . Y. (2004). Cheese technology. *Int. J. Dairy Tech.*, 57, 91-98.

FAO. (1990). The technology of traditional milk products in developing countries. FAO Animal Production and Health. Paper N°85. Rome: *Food and Agricultural Organization of the United Nations*. p 333.

F.A.O, 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome (Italie). Collection FAO : Alimentation et nutrition °28 ISBN 92-5-20534-6.

FIL, (Fédération Internationale du Lait), 1996. Lait et produit laitiers, Préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique. Document 122C.



Fredot E., (2006) .Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc,Lavoisier: 25 (397 pages).

Gagnon, D ; 2006.Formulation et propagation de ferments lactiques mesophiles à haut caractère aromatique. Thèse de maîtrise en Sciences et technologie des aliments. Université laval Québec.

Gaillard B., Breton A. et Bernalier A. 1989.Curr Microbiol. 19 :103 – 107 .

Guizani,N.,Kasapis,S.,et Al Ruzeiki,M.,2001. Microbial, chemical and rheological properties of laban (cultured milk). *International Journal of Food Science and Technology* 36: 199-205.

Hallel A. (2001) Fromages traditionnels algériens.Quel avenir ? Revue Agroligne 14 : pp 43-47.

Harrati E (1974) .Le « Klila ».Laboratoire de microbiologie, Institut National Agronomique d'Alger. pp 11-18.

Havera H.J. and Humphreys J.D. (1988).Method for increasing the milk clotting activity of thermolabile *Rhizomucor pusillus* rennet. US Patent 4722900.

Humme HE.1972. The optimum pH for the limited specific proteolysis of κ -caséine by rennin (primary phase of milk clotting). *Netherlands Milk DairyJournal*, **26**: 180-158.

Ilboudo, A. Savadogol, M.G. Seydi et A.S. Traore., 2012. Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(6): 6075-6087.

Isselnane S, 2014. Caractérisation chromatographique et électrophorétique de l'extrait coagulant issu de caillettes de dromadaires adultes. Thèse de Magister.UniversitéMouloud Mammeri DE TIZI-OUZOU.

Janhoj, T. and K.B. Qvist, The Formation of Cheese Curd, in *Technology of Cheesemaking*, B.A. Law and A.Y. Tamime, Editors. 2010, Wiley-Blackwell: Oxford, UK.

Jacob M., Jaros D. and Rohm H. (2011).Recent advances in milk clotting enzymes. *Int. J. Dairy Technol.*, 64, 14–33.

Jean-Claude Collin, coord. Présures et coagulants de substitution Comment faire le bon choix ?.Éditions Quæ, 2015, pp. 7–18.



Kacem M. et Karam, N.E. (2006) Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the sahara (Algeria) : isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*, 57 (2) : pp 198-204.

Khoualdi G. (2017) Caractérisation du fromage traditionnel algérien «Medeghissa». Mémoire de Magister En sciences alimentaires I.N.A.T.A.A Constantine. *Université deConstantine 1*.

Lahsaoui,S. (2009). Etude de procédé de fabrication d’un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention de diplôme d’Ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d’Agronomie.

Leksir C, 2012. Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l’industrie laitière algérienne. Thèse de Magister. Université Mentouri de Constantine.

Leksir, C.2018. Caractérisation, fabrication et consommation du dérivé laitier traditionnel «Klila» dans l’Est algérien. . Thèse de Doctorat, Université 8 Mai 1945 Guelma. pp. 30.

Lemouchi L. (2007) Le fromage traditionnel Bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivi de l’évolution des caractéristiques physicochimiques de deux fabrications. Mémoire d’ingénieur en Nutrition et Technologies Agro-Alimentaires. Université de Constantine 1. Algérie.

Lenoir J, Lamberet G, Schmidt J.L. et Tourneur C.,(1985). La maitrise du biocatalyseur fromage. *Biofutur.*, (12). 23-50.

Leyral G., VierlingE.(2001). Microbiologie et toxicologie des aliments. 3ème éd Collection biosciences et techniques Paris. Pp 77-134.

Llorente B.E., Brutti c.B and Caffini N.O. (2004). Purification and characterization of a milk-clotting aspartic proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus L*).*J. Agric. Food Chem.*, 52, 8182–8198.

Lopez MB, Lomholt SB, Qvist KB. 1998. Rheological properties and cutting time of rennet gels.Effects of pH and enzyme concentration.*International DairyJournal*, **8**: 289-293.

Low Y.H., Agboola S., Zhao H. and Lim M.Y.(2006). Clotting and proteolytic properties of plant coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk. *Int. Dairy J.*, 16, 335–343.



Lucey JA, Fox PF. 1993. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *Journal of Dairy Science*, **76**: 1714-1724.

Mahamedi Alaa Eddine, 2015. Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologique des ferments et beures traditionnels destinés à la consommation dans différents régions de l'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Oran. Algérie. P 16.

Mami A., 2013. Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxines infections alimentaires en Algérie .Thèse doctorat. Université d'Oran.

McMahon DJ, Brown RJ, Ernstrom CA. 1984. Enzymatic coagulation of milk casein micelles. *Journal of Dairy Science*, **67**: 745-748.

McMahon D.J., Richardson, G.H. and Brown, R.J. (1984). Enzymic milk coagulation: Role of equations involving coagulation time and curd firmness in describing coagulation. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1185–1193.

Medouni, Y., Boulahchiche, N., et Brahimi, R. (2005). Rôle de la femme rurale dans le système de production agropastorale. Cas de la fraction Ouled-Baida de la zone d, El Guedid Région de Djelfa (steppe centrale). Option : *Méditerranéennes*, Série A, n°70.

Mietton B., Desmazeaud M., DE Roissard H. et Weber F. (1994). Transformation du lait en fromage ; in : « Bactéries lactiques II » Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

Montilla A., Balcones E., Olano A. and Calvo M.M. (1995). Influence of heat treatments on whey protein denaturation and rennet clotting properties of cow's and goat's milk. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1908–1911.

Moutilla A, Balcones E, Olano A, Calvo MM. 1995. Influence of heat treatments on whey protein denaturation and rennet clotting properties of cow's and goat's milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **43**: 1908-1911.

Nouani A., Belhamice N., Slamani R., Belbraouet S., Fazouane F. and Bellal M.M. (2009). Extracellular protease from *Mucor pusillus*: purification and characterization. *Int. J. Dairy Technol.*, **62**, 112–117.

Ouadghiri, M., Vancanneyt, M., Vandamme, P., Naser, S., Gevers, D., Lefebvre, K., Swings, J., et Amar, M., 2009. Identification of lactic acid bacteria in Moroccan raw milk



and traditionally fermented skimmed milk 'Iben'. *Journal of Applied Microbiology* 106: 486-495.

Ouiam El Galiou, Said Zantar, Mohammed Bakkali, Amin Laglaoui, Juan A. Centeno, Javier Cabrillo. Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco, 2015, Vol. 129, pp. 108–113.

Patel RS, Reuter H. 1986. Effect of sodium, calcium and phosphate on Properties of rennet coagulated milk. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, **19**: 288-291.

Psoni.L; Tzanetakis.N; Litopoulou-Tzanetak.E., 2003. *Food Microbiology* 20, 575–582pp.

Ramet J-P (1985) La fromagerie et les variétés de fromages du bassin Méditerranéen. Etude FAO Production et Sante Animales 48. Rome, Italie. 222p.
<http://www.fao.org/docrep/004/X6551F/X6551F00.HTM>

Ramet J.P. (1990). Processing of Dairy Production from Camel Milk. Mission Report, FAO.

Ramet J.P. (1993). La Technologie des Fromages au Lait de Dromadaire (Camelus dromedarius). Etude FAO, production et santé animale, 113, Rome.

Ramet, J.P., (1997). Les agents de transformation du lait; la présure et les enzymes coagulantes In: Le Fromage. Ed., A. Eck, 3ème Ed., Tec Et Doc, Lavoisier, P.101-107, 539p.

Rayanatou Issa Ado, 2017. Etude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de Calotropis procera en réponse au contexte laitier dans la région de Maradi au Niger. Thèse de Doctorat, Université Bretagne Loire. pp. 32.

Scriban R.,(1993). Biotechnologie. 5e Edition. Tech Et Doc. Lavoisier. Paris.

Seifu L.,Souza A.M.L ., Lopes PV.,Nunes A.C et Nicoli R.J 2007 . Comparaison of antagonistic ability against enteropathogen by G+ and G- anaérobique dominant component of human fecal microbiota. *Folia Microbiol.* 51141-145.

Senoussi. A.2013. Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel algérien « Bouchezza » M de magister. Université Constantine.



Smith J.L, Billings G.E. and Yada R.Y. (1991).Chemical modification of amino groups in *Mucor miehei* Aspartyl proteins, porcine pepsin and Chymosine. 1. Structure and function. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2009–2016.

St-Gelais, D. and P. Tirard-Collet, Fromage, in *Science et technologie du lait: transformation du lait*, C.L. Vignola, Editor. 2002, Presses internationales Polytechnique: Montréal, Qc, Canada.

Talantikite, KS., (2015). Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie. Thèse de Doctorat, Université M'Hamed Bougara. Boumerdes.

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

Tantaoui El Araki, A., et El Marrakchi, A., 1987. Study of Moroccan dairy products *Lben* and smen. *Journal of Applied Microbiology* 3: 211-220.

Tchamba C.N. 2007. Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal: cas de la zone des Niayes. Thèse de doctorat. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar. Pp16.

Van Hooydonk ACM, Walstra P. 1987. Interpretation of the kinetics of the renneting reaction in milk.*NetherlandsMilk Dairy Journal*, 41: 19-47.

Vilain A-C. (2010) Qu'est-ce que le lait ? *Revue française d'allergologie* N° 50 (2010) pp 124-127.

Vignola CL. 2002. *Science et Technologie du Lait. Transformation du Lait.* Fondationet Technologie Laitière du Québec.Presses Internationales Polytechnique:Québec; 600 p.

Wigley R.C., (1996). Cheese and whey in industrial enzymology.Second edition.Chapitre 27. Ed.Godfrey and Wiest., 135 N° 142.

Yamashita T., Higashi S., Higashi T., Machida H., Iwasaki S., Nishiyama M. and Beppu T. (1994).Mutation of a fungal aspartic protease, *Mucorpusillus* rennin, to decrease thermo stability for use as a milk coagulant. *J. Biotechnol.*, 32, 17–28.



Yegin S. et Dekker P. (2013). Progress in the field of aspartic proteinases in cheese manufacturing: structures, functions, catalytic mechanism, inhibition, and engineering. *Dairy Sci. & Technol.*, DOI 10.1007/s13594-013-0137-2.

Zbikowska A, Szerszunowicz I, Smyk B. 2004. Effect of pH on the composition and surface hydrophobicity of proteins forming the gel matrix during enzymatic coagulation of heated milk reconstituted from nonfat dry milk. *Milchwissenschaft*, **59**(7/8): 417-420.

Zoon P, Van Vliett T, Walstra P. 1989. Rheological properties of rennet- induced skim milk-gels. IV: The effect of pH and NaCl. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, **43**: 17-34.

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bacillus>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylocoques>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Selmonella>



ANNEXES



ANNEXE 1

Composition des milieux de cultures

Composition des diluants (g/l).

Eau peptonée

Peptone	1g
Chlorure de sodium	8,5g
Eau distillée	1000 ml

Eau peptonée tomponné

NaCl	5g
Peptone	10g
Na ₂ Hpo ₄ ,H ₂ o.....	9g
Kh ₂ po ₄	0.3g

2-Composition des milieux de cultures (g/l).

I. GELOSES

○ Gélose/Bouillon MRS : (De Man-Rogosa-Sharpe, 1960)

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose	20g
MgSO ₄	25g
MnSO ₄	0,05g
KH ₂ PO ₄	2g
Agar-agar	15 g (uniquement gélose)
Tween 80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

○ Gélose/Bouillon M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)

Extrait de levure.....	2,5g
Extrait de viande	5g
Tryptone.....	5g



Peptone papainique.....	2,5g
Peptone pepsique de viande	5g
Acide ascorbique	0,5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Mg SO4.....	0,25g
Agar-agar	15g (uniquement gélose)
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

○ **Gélose nutritive**

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

○ **Milieu CHAPMAN**

Peptone	11g
Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	1g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar-Agar	15g
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

○ **Gélose Viande–Foie (VF)**

Base VF déshydraté	20g
Glucose	2g
Amidon	2g
Aga-Agar	11g
Eau distillée q.s.p.	1000 ml



○ **Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A)**

Hydrolysât tryptique de caséine	2,5g
Extrait de viande	5g
Glucose	1g
Extrait de la levure	2,5g
Agar	15g
Eau distillé q.s.p	1000 ml

○ **Gélose MAC CONKEY**

Peptone de caseine.....	0.17g
Peptone de viande.....	3g
Lactose	10g
Mélange des els biliaires	1,5g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	0,03g
Crystal violet.....	0,001g
Agar –Agar.....	13,5g
Eau distillée q.s.p.	1000ml

II-BOUILLONS

○ **Bouillon BLBVB (Bouillon lactosé bilié au vert brillant) .**

Lactose	10g
Peptone	10g
Bile déshydratée	20g
Vert brillant à 1%	1,3g
Eau distillée q.s.p.	1000 m



ANNEXES 2

Articles analysés



Food Microbiology 20 (2003) 575–582

FOOD
MICROBIOLOGY

www.elsevier.com/locate/jfoodmicro

Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greek cheese from raw goat's milk

L. Psoni, N. Tzanetakis, E. Litopoulou-Tzanetaki*

Faculty of Agriculture, Laboratory of Food Microbiology and Hygiene, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

Received 3 July 2002; received in revised form 4 November 2002; accepted 4 November 2002

Abstract

The changes of microbial flora in Batzos, raw goat's milk cheese, were studied during ripening, throughout the whole lactation season in nine cheese batches manufactured three in each, winter, spring and summer. High counts of *Enterobacteriaceae* and coliforms were recorded early in ripening, but their levels decreased significantly ($P < 0.05$) on ripening and storage. Lactic acid bacteria predominated over the other microbial groups throughout ripening, during the whole lactation season. It seems possible, that high NaCl content of the cheese was the main agent that regulated the microbial survival. No significant differences were observed in the counts related to the season when the cheeses were ripened and stored. However, the season affected the composition of the lactic microflora. Thus, in winter enterococci were abundant, while in spring and summer lactobacilli isolates were found more frequently. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* was the most frequently isolated species in the cheese and its use as starter seems promising.

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Batzos cheese; Microbiology; Lactic acid bacteria

1. Introduction

The emphasis on control of caloric intake by humans, especially in developed countries, has largely been responsible for the growth of low-fat cheese market. Batzos is a semi-hard, low-fat traditional Greek cheese, originating from Western Macedonia, North Greece; it was traditionally made from either raw goat's milk or raw ewe's milk as a byproduct during production of Manouri, a whey cheese, or whey butter, respectively. The real intention was to obtain fat-rich, high quality Manouri or large quality of butter from the whey. For this reason the milk was "hitted" with a thick wooden stick about 500 times during coagulation and thus a large proportion of fat was transferred to the whey (Zypoura, 1952). Nowadays, technological innovations are adopted by the milk industries to make Batzos cheese (Anifantakis, 1993; Anonymous, 1998), but its production is low and restricted in small industries of Western Macedonia and the nearby Thessaly; never-

theless, there is an increasing demand of the consumers for this cheese type, because of its low fat content and its pleasant organoleptic properties.

Until now, the influence of native flora on the sensory properties of raw milk cheeses has not been exactly established (Buchmann et al., 1996). Non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) are able to transform milk constituents into volatile compounds, which may play a critical role in the development of cheese flavour (Marley and Crow, 1993). NSLAB and mainly facultatively heterofermentative lactobacilli reach high cell densities in maturing cheeses (Ariacum et al., 1997; Nikolaou et al., 2002) and may play an important role for cheese ripening and flavour. Selected adjuncts of lactobacilli have proved to affect positively the quality of the cheese produced (Lynch et al., 1996).

The changes of the microbial flora during storage of Batzos cheese made of raw ovine milk in spring and summer in Greece has already been studied (Nikolaou et al., 2002). Our objective was to examine changes in the microbiological composition of cheese from raw caprine milk and study the evolution of its lactic microflora during cheese ripening and storage throughout the lactation season.

*Corresponding author. Tel.: +30-2-510-472622; fax: +30-2-510-472622.

E-mail address: gantzi@agri.auth.gr (E. Litopoulou-Tzanetaki).





Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco



Ouiam El Galiou^a, Said Zantar^b, Mohammed Bakkali^a, Amin Laglaoui^a, Juan A. Centeno^c, Javier Carballo^{c,*}

^a Equipe de Recherche Biotechnologies et Chimie des Biomolécules (URBCE), Science and Technology Faculty, Abdelmalek El-Abadi University, BP 416 Tangier, Morocco

^b Station d'Élevage de Boufahaj, INRA, Tangier, Morocco

^c Food Technology Area, Faculty of Sciences, University of Vigo, 22004 Ourense, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 March 2015

Received in revised form 4 June 2015

Accepted 7 June 2015

Available online 15 June 2015

Keywords:

Homemade fresh goat cheeses

Cheese composition

Microbial groups

Lactic acid bacteria

Enterococci

FFA

ABSTRACT

A chemical and microbiological survey was performed on 28 fresh raw goat's milk cheeses from Northern Morocco. Cheeses were characterized by their low pH values (3.81–4) and low dry matter contents (24.9–31.2 g/100 g). Fat, protein and ash contents were 14.4–17.1, 8.2–10.2, and 1.12–1.75 g/100 g, respectively. High levels of FFA were determined (2260–3507 mg/kg), the most abundant being oleic, stearic, palmitic, myristic and capric acid. Lactic acid bacteria (LAB) were the dominant microbiota (7.9–9.7 log cfu/g), and yeasts and total coliforms were also present in high numbers (5–7 log cfu/g). *Salmonella* spp. was not detected in any of the cheese samples. *Listeria monocytogenes* was detected in four cheeses. A total of 294 LAB isolates were identified by PCR as *Enterococcus* spp. (249 isolates), *Lactococcus lactis* (36), *Lactobacillus plantarum* (7) and *L. paracasei* (2).

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In the mountainous regions of Northern Morocco, the sectors of agriculture and stockbreeding are poorly developed and show a low productivity. The populations of the area usually live under precarious conditions. Therefore, goat's breeding has been the main occupation of many people since ancient times, and goat's milk and cheese have always been a fundamental part of their economy, diet and cultural heritage. In Northern Morocco, cheese is produced traditionally in rural households, and these artisanal products are usually sold in local open markets and supermarkets.

Due to their specific composition, organoleptic characteristics and healthy attributes, the production of goat's milk and goat cheese has attracted growing interest over recent years (Silanikove et al., 2010). Goat's milk fat and protein are more easily digestible than those of cow's milk and it contains higher levels of vitamin A, thiamine and niacin (Hamelin, 2001). In addition, the lower allergenic capacity compared to cow's milk (Gao et al., 1998) makes goat's milk an alternative for people who cannot tolerate cow's milk.

Cheeses made from goat's milk are greatly appreciated because of their particular organoleptic characteristics. The composition of the lipid fraction plays an essential role in the sensory attributes of these products. The fatty acids hexanoic (caproic), octanoic (caprylic) and decanoic (capric), together with certain branched-chain free fatty acids, are responsible for the characteristic 'goaty flavour' of goat cheeses (Salles et al., 2002). Nevertheless, fresh and soft cheeses made with raw goat's milk constitute a suitable medium for the growth of many pathogens and have frequently been associated with several foodborne diseases in many countries. It has been pointed out that food infections caused by the consumption of raw milk cheese represent a threat to public health, leading to big economic losses (Milari et al., 2014).

Manufacture of homemade North-Morocco fresh goat cheese has not yet been standardized. Raw goat's milk is obtained from indigenous breeds of low milk production. The milk is filtered through a cloth filter in order to remove undesirable particles. No starter is added to the milk, which is usually curdled without cooling after milking. Commercial calf rennet is usually employed to coagulate the milk, although in some cases vegetable rennet (crude aqueous extract from *Cynara carthagenensis* flowers) is used. The coagulation time varies between 1 and 24 h. The curd is usually cut by hand into 3–12 cm pieces, mixed and salted (usually 1–2 g salt per litre of milk) in the cheese vat. In order to remove the whey, the curd

* Corresponding author. Tel.: +34 988 887062; fax: +34 988 887001.
E-mail address: carballo@ccma.uvigo.es (J. Carballo).

