

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Science de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie Alimentaire
Santé**

Thème

**Suivi de la croissance des ferments lactiques et des
caractéristiques physicochimiques des fromages frais de
chèvre conservés dans l'huile d'olive et dans le
lactosérum.**

Réalisé par :

Mlle : ALOUACHE Zhira

Mlle : YAHIA CHERIF Imane

Devant le jury

Président : M^{lle} BENDALI F.

Examineur : Mme MOUCI - MASSAOUDI K

Examineur : Mme LOUAILACHE- TITELLI F

Promotrice : Mme BENACHOUR K.

MCA

MCB

MAA

MAA

Année : 2013 / 2014

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Partie théorique

I. Bactéries lactiques

I.1. Généralités	03
I.2. Habitat et origine	03
I.3. Taxonomie	03
I.4. Caractéristiques des principaux genres	04
I.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	04
I.4.2. Le genre <i>Lactococcus</i>	05

II. Lait de chèvre et ses dérivés

II.1. Lait de chèvre

II.1.1. Définition	05
II.1.2. Composition et caractéristique	06
II.1.3. Microbiologie	07

III. Fromage de chèvre

III.1. Généralités sur les fromages	07
III.1.1. Fromage frais	08
III.1.1.1. Différents types	08
III.1.1.2. technologie de fabrication	08

IV. Lactosérum

IV.1. Définition.....	09
IV.2. Différents types.....	09
IV.2.1. Lactosérum doux.....	09
IV.2.2. Lactosérum acide	09
IV.3 Intérêt industriel	09

V. Huile d'olive

V.1. Définition.....	10
V.2. Classification	10
V.2.1. Huile d'olive vierge apte à la consommation	10
V.2.2. Huile d'olive vierge inapte à la consommation.....	10
V.3. Effets thérapeutiques	10

Partie pratique

I. Matériels et méthodes

I.1. Objectif du travail.....	13
I.2. Souches utilisées.....	13
I.3. Revivification et vérification de la pureté des souches <i>Lc. lactis</i> et de <i>Lb. plantarum</i>	13
I.4. Le lait de chèvre utilisé	14
I.5. Standardisation des souches bactériennes.....	14
I.6. Mise au point d'un fromage frais au lait de chèvre stérile.....	15
I.6.1. Appréciation de la qualité hygiénique du lait cru de chèvre	15
I.6.1.1. Test d'ébullition.....	15
I.6.1.2. Mesure du pH et détermination de l'acidité Dornic.....	15
I.6.1.3. Analyse microbiologique du lait de chèvre	15
I.6.2. Analyses physicochimiques de l'huile d'olive.....	17
I.6.3. Fabrication des différents fromages frais	18
I.6.3.1. Préparation des préferments	19
I.6.3.2. Ensemencement et emprésurage.....	19

I.6.3.3. Egouttage et moulage.....	20
I.6.3.4. Découpage et conservation du fromage frais obtenus	20
I.7. Suivi de l'évolution de la croissance de <i>Lc. lactis</i> et <i>Lb. plantarum</i> dans les fromages frais fabriqués.....	21

II. Résultats et discussion

II.1. Vérification de la pureté des souches.....	25
II.2. Standardisation des souches bactériennes.....	25
II.3. Mise au point d'un fromage frais de chèvre	25
II.3.1. Evaluation de la qualité hygiénique du lait de chèvre	25
II.3.1.1. Test d'ébullition.....	25
II.3.1.2. Mesure du pH et titration de l'acidité Dornic.....	26
II.3.1.3 Analyse microbiologique du lait de chèvre cru.....	26
II.3.2. Fromage frais au lait de chèvre stérile	28
II.3.3. Cinétique d'acidification et de croissance des souches en culture pure et mixte de <i>Lc. lactis</i> et <i>Lb. plantarum</i> dans les différents fromages	30
II.3.3.1. pH et acidité Dornic des fromages témoins.....	30
II.3.3.2. pH et acidité Dornic des fromages conservés dans le lactosérum.....	32
II.3.3.3. pH et acidité Dornic des fromages conservés dans l'huile d'olive	34
II.3.3.4. Taux d'humidité des fromages.....	36
II.3.3.5. Evolution de croissance des souches <i>Lc. lactis</i> et <i>Lb. plantarum</i> et leurs association, dans les fromages frais à base de lait de chèvre stérile.....	39
Conclusion	40

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

- **Tableau I:** Caractéristique du lait de chèvre.....06
- **Tableau II :** Composition du lait de chèvre.....06
- **Tableau III :** Analyse microbiologique du lait de chèvre.....15
- **Tableau IV :** Caractères des souches utilisées.....22
- **Tableau V :** Critères microbiologiques du lait cru (J.O.R.A) en comparaison avec les résultats obtenus.....24
- **Tableau VI :** Qualité microbiologique du lait de chèvre stérilisé.....25
- **Tableaux VII :** Résultats de l'analyse physicochimique de l'huile d'olive.....25

Liste des tableaux en annexe

- **Tableau I :** Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre (UFC/ml)
- **Tableau II:** pH des fromages témoins ensemencé en cultures pure et mixte de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*
- **Tableau III :** pH des fromages ensemencés en cultures pure et mixte de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans lactosérum.
- **Tableau IV :** pH des fromages ensemencés en cultures pure et mixte de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans l'huile d'olive..
- **Tableau V :** Taux d'humidité des fromages témoins ensemencés en cultures pures et mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*
- **Tableau VI :** Taux d'humidité des fromages ensemencés en cultures pures et mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans lactosérum
- **Tableau VII :** Taux d'humidité des fromages ensemencés en cultures pures et mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans l'huile d'olive
- **Tableau VIII :** Résultats des dénombrements (UFC/ml) des souches de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* présentes dans les fromages témoins.
- **Tableau IX :** Résultats des dénombrements (UFC/ml) des souches de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* dans les fromages conservés dans l'huile d'olive.

- **Tableau X :** Résultats des dénombrements des souchesensemencés en cultures pure et mixte de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, dans les fromages conservés le lactosérum.
- **Tableau XI:** Acidité Dornic (°D) des fromages témoinsensemencés en cultures pures ou mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*.
- **Tableau XII :** Acidité Dornic (°D) des fromagesensemencés en cultures pures et mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans le lactosérum.
- **Tableau XIII :** Evolutions d'acidité Dornic (°D) des fromagesensemencés en cultures pure ou mixtes de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*, conservés dans l'huile d'olive.

Liste des figures

- **Figure 01** : Revivification et vérification de la pureté des souches de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*.....13
- **Figure 02** : Egouttage et moulage des caillés obtenus après coagulation du lait de chèvre.....19
- **Figure 03** : Résultat de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre24
- **Figure 04** : Fromage frais (*Lc. lactis*) obtenu après égouttage.....26
- **Figure 05** : Conservation des fromages fabriqués dans l'huile d'olive et dans le lactosérum.....27
- **Figure 06** : Evolution du pH des trois fromages frais fabriqués témoin.....28
- **Figure 07** : Evolutions de l'acidité Dornic des fromages frais de chèvre témoin.....28
- **Figure 08** : Evolution du pH des trois fromages frais fabriqués conservés dans le lactosérum.....30
- **Figure 09** : Evolutions de l'acidité Dornic des fromages frais conservés dans le lactosérum.....30
- **Figure 10** : Evolution du pH des trois fromages frais fabriqués conservés dans l'huile d'olive.....31
- **Figure 11** : Evolutions d'acidité Dornic des fromages conservés dans l'huile d'olive.....32
- **Figure 12** : Evolution de l'humidité des fromages frais de chèvre témoin33
- **Figure 13** : Evolutions de l'humidité des fromages frais de chèvre conservés dans l'huile d'olive.....34
- **Figure 14** : Evolutions de l'humidité des fromages frais de chèvre conservés dans le lactosérum.....35
- **Figure 15** : Evolution des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* en culture pure et mixte dans les fromages frais de chèvre témoins.....36
- **Figure 16** : Evolution des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* en culture pure et mixte dans les fromages de chèvre conservés dans l'huile d'olive.....37
- **Figure 17** : Evolution des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* en culture pure et mixte dans les fromages de chèvre conservés dans le lactosérum.....38

Liste des abréviations

- **DLC** : Date limite de consommation.
- **EMB** : Eosine Methylen Bluo
- **FTAM** : Flore Totale Aérobie Mésophile.
- **GC** : Giolitti Contoni.
- **GNO**: Gélose nutritive ordinaire.
- **MRS** : de Man, Rogosa et Sharpe.
- **Lb.** : *Lactobacillus*.
- **Lc.** : *Lactococcus*.
- **PCA** : Plat count Agar.
- **pH** : Potentiel d'Hydrogène.
- **SS** : Salmonella- shigella.
- **SFB** : Selenite F Broth
- **UFC** : Unité Formant Colonie.
- **VF** : Viande –Foie.
- **VRBG** : Violet Red Bile Glucose .



REMERCIEMENT

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

On adresse nos plus vifs remerciements à notre promotrice M^{me} BENACHOUR, pour nous avoir proposé ce sujet, pour ses conseils scientifiques judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier vivement M^{elle} BENDALI qui nous a fait un immense honneur d'avoir accepté de présider le jury.

Nos reconnaissants remerciements s'adressent également à M^{me} MOVICI-MESSAOUDI et M^{me} LOUAILACHE TITELI qui ont accepté d'évaluer et d'examiner ce travail et de faire part de leurs remarques, reconnues, judicieuses, qui ne feront que rehausser la qualité de ce travail.

Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos parents, nos familles (ALOUACHE et YAHIACHERIF) et à tous nos amis pour leurs encouragements et leur compréhension.

Finalement, nous ne pourrions pas terminer, sans remercier toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie Appliquée et particulièrement, nos camarades pour leurs esprit d'équipe et tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.



DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma mère qui m'a entouré d'amour, de tendresse et d'affection, elle a fait tout pour ma réussite, que Dieu la garde pour nous.

Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que Dieu le garde et le protège et lui donne la santé pour nous réunir et nous remplir d'amour.

Mon cher mari, Samir, qui m'a toujours soutenu durant toute la période de mon cursus grâce à lui j'ai réussi à dépasser toutes les difficultés, que Dieu nous garde l'un près de l'autre.

Mes frères Yazid, et Mokrane et à son épouse.

Mes nièces (Nassira, Salima et Werdia) et tous mes neveux,

A toute ma famille (Alouache et Benmeziane) et belle-famille (Mouhoubi) qui m'ont encouragé et aimé.

Ma très chère amie et soeur, Imane, symbole de tendresse et de fidélité ; je te souhaite tout ce que tu désires le plus.

*A tous mes amis surtout Ziani leila qui m'a toujours soutenu
Tous mes camarades de classe je vous souhaite toutes et tous la réussite dans vos vies professionnelle et personnelle.*

A toute la promotion « 2013-2014 »

« ZHIRA »



DEDICACES

A ma merveilleuse maman qui est la femme la plus gentille du monde qui a toujours été la pour moi et m'a toujours encouragé et soutenu avec tout le sens du terme, je t'aime maman

A mon père adoré la prunelle de mes yeux qui a consacré sa vie pour qu'on ne manque de rien que Dieu le garde

A mon cher et tendre mari Yazid que je remercie pour le soutien qu'il m'a donné que Dieu le préserve

A mes très chères soeurs : Linda, Habiba , Farida et a mes deux frères Habib et Tarik

Surtout ma très chère et douce soeur Hanane qui a un coeur en or tu es ma complice ma moitié tu m'a toujours poussé vers le meilleur tu ma toujours protégé je te serais toujours reconnaissante, je t'aime

*A mes adorables nièces et neveux : Anaïs, Serena, Elena, Rayane et Matias.
A mes beaux frères : Farouk, Massinissa et Mourad et à toute ma belle famille*

A ma meilleure amie Zahra la fille la plus forte de caractères que je connaisse qui m'a jamais laissé tombé et qui a toujours les mots pour me soulager et me faire sourire, je t'adore.

A toutes mes amies et à tout mes camarades de la promotion de microbiologie alimentaire et santé 2013 /2014.

« *IMANE* »



Introduction

INTRODUCTION

En 2003, le cheptel caprin Algérien englobe environ 2,5 millions de chèvres (**Feliachi, 2003**). Il représente 14% du cheptel global et vient après le cheptel ovin qui représente 26% (**Badis et al., 2005**).

Malgré une progression de 4,7% en 2003, la production laitière en Algérie demeure encore insuffisante pour combler un déficit estimé à 3 milliard de litre (**Ghozlane et al., 2006**) alors que le lait frais collecté (dont 80% issus du bovin) n'atteint pas 1 milliard de l/an. Dans cette proportion, le lait de chèvre représente environ 5% de cet apport malgré la rusticité et l'adaptation de la chèvre aux conditions qu'offre notre pays (**Badis et al., 2005**).

Les produits dérivés du lait de chèvre sont artisanaux et traditionnels, le plus souvent, fabriqués par les femmes à la maison et destinés à l'autoconsommation surtout au niveau des régions de la Kabylie et du Sahara (**Medouni et al., 2005**), le surplus pouvant être vendu (**Bencharif, 2001**).

Par ailleurs, la consommation habituelle de lait de chèvre ou de ses dérivés procure des avantages et des bienfaits pour la santé humaine, il augmente la sécrétion biliaire, diminue la concentration plasmatique du cholestérol et triglycérides et son effet sur le métabolisme des lipides est similaire à l'huile d'olive (**Lopez- Aliaga et al., 2005**).

Le goût âcre et puissant du lait de chèvre n'est pas toujours apprécié chez les consommateurs, à l'inverse sa transformation en fromage le rend plus digeste et très apprécié tant du point de vue organoleptiques, nutritionnel que sanitaire (**Mozzi et al., 2010**).

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans les technologies fromagères surtout les lactocoques et les lactobacilles qui sont capable de produire lors de leur croissance des composés actifs à savoir les acides organiques qui acidifient le milieu et procure une saveur typique au fromage par production de di-acétyle et d'acétaldéhyde (**Privat et Thonart, 2011**).

La transformation de lait en fromage se traduit par la production d'un important dérivé : le lactosérum, il renferme près de la moitié de la teneur en matière sèche originelle et représente 90% du volume de lait (**Molleta, 2002**). Il est riche en protéines et en lactose ce qui le rend nuisible aux écosystèmes aquatiques (**Ghaly et al., 1989 ; Linden et al., 1994**).

INTRODUCTION

Malgré les nombreux travaux réalisés en Algérie, apportant de nouvelle connaissance sur la valorisation du lactosérum, aucune mise en valeur de ce sous-produit n'a été pratiquée par les unités fromagères. Les quantités de lactosérum rejetées dans la nature sont sans cesse en progression (**Lachebi, 2008**).

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Très présente dans l'alimentation Algérienne et préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place essentielle dans la recherche sur ses propriétés thérapeutiques et cosmétiques. Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable (**Boskou, 1996**).

Afin de valoriser le lactosérum et d'exploiter les valeurs nutritionnelles l'huile d'olive on a entamé cette étude qui a comme objectif :

- l'évaluation des caractéristiques physicochimiques des fromages frais au lait stérile de chèvre conservés ou non dans le lactosérum ou dans l'huile d'olive.
- le suivi de l'évolution de la croissance des ferments lactiques inoculés en culture pure ou mixte.

Ce mémoire est subdivisé en trois chapitres

- Le premier chapitre rappelle l'ensemble des connaissances sur le lait de chèvre, le lactosérum, l'huile d'olive et les techniques de fabrication de fromages frais de chèvres. Les caractéristiques et la classification des bactéries lactiques y compris les genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* ont été également étudiés dans cette partie.
- Le second chapitre s'intéresse aux approches méthodologiques et à la description des techniques qui ont servi la concrétisation de ce travail.
- Le troisième chapitre reflète comme première partie les résultats obtenus des différentes analyses physicochimiques et microbiologiques des fromages frais fabriqués tandis que la deuxième partie comporte la discussion des résultats et leurs comparaisons avec les différents travaux traitant le même contexte.

En terminant avec une conclusion générale qui englobe les résultats de ce travail.

Partie théorique

I. Les bactéries lactiques

I.1. Généralités

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005).

Elles sont, à Gram positif généralement immobiles, non sporulées, à catalase et oxydase négative et à nitrate réductase négatives, anaérobies facultatives (Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005). Elles ont des exigences nutritionnelles très complexes en : acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et minéraux (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994) et utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres : homo-fermentaire ou hétéro-fermentaire (Atlan et al., 2008).

Les bactéries lactiques ont une large gamme d'applications à l'échelle industrielle (Streit et al., 2007), notamment alimentaire et laitière (Axelsson, 2004 ; Streit et al., 2007). Elles sont utilisées pour la production d'acide lactique, d'exo-polysaccharides, de bactériocines et des peptides thérapeutiques (Rodriguez et al., 2003).

I.2. Habitat et origine

Les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires (lait, viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale buccale, intestinale et génitale des mammifères (Salminen, 2004). Elles se développent également dans le vin, la bière et le pain) et peuvent être retrouver naturellement dans le sol, les fourrages et sur les mamelles des animaux (Leveau et Bouix., 1993 ; Hassan et Frank, 2001).

I.3. Taxonomie

La classification des bactéries lactiques selon les critères phylogénétiques, phénotypique ou biochimique classique demeure pratique comme identification préliminaire, ainsi que la composition en G+C de l'ADN et en acides gras, sont également utilisés pour l'étude des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al., 2007).

Cependant la morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classer les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries elles peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques

(Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007). Des genres nouveaux ont été également décrits, comme *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, ...etc, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (Axelsson, 2004 ; Broadbent, 2001).

I.4.Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

I.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, non sporulés, catalase négative, micro-aérophiles ou strictement anaérobies (Rochat et al., 2006). Les bactéries de ce genre se développent à un pH compris entre 5,5 et 6,2 avec un optimum de température situé entre 30 et 40°C, leurs pourcentage en GC se situe entre 36 et 47(de Roissard et Luquet 1994 ; Drider et Préost, 2009

Les lactobacilles ont été subdivisés par Orla-Jensen, en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Guiraud et Rosec, 2004 ;Tamime, 2002) :

- **Groupe I** « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires, thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans les aliments (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.
- **Groupe II** « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires, mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans les aliments sont *Lb casei*, *Lb curvatus*, *Lb sake* et *Lb plantarum*.
- **Groupe III** « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

➤ *Lactobacillus plantarum*

Lb. plantarum est une bactérie non pathogène, à croissance positive à 15°C mais pas à 45°C. Naturellement existante dans la salive humaine et au niveau du tractus gastro-intestinal et dans différentes niches écologiques particulièrement d'origine végétale, souvent utilisée comme probiotique et dans les aliments fermentés, son application dans le domaine bio-thérapeutique a été reconnu (de Roissard et Luquet 1994).

Aérotolérante, elle peut convertir l'oxygène en peroxyde d'hydrogène (voie de manganèse dépendante) ce qui lui confère une grande tolérance à l'H₂O₂. En absence

d'oxygène elle est capable de fermenter les sucres en acide lactique et alcool (hétérofermentaire) (Sirulun, 2010)

I.4.2. Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques sont des bactéries anaérobies facultatives, en forme de coque en paire ou en chaînes de longueur variable, homofermentaires, ne produisant que de l'acide lactique L(+). Leur température optimale de croissance est de 30°C, capables de se développer à 10°C mais pas à 45°C et d'être cultivé à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002). Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al., 2005).

➤ *Lactococcus lactis*

Parmi les lactocoques, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus étudiée et la plus fréquemment détectée dans les laits crus (Corroler et al., 1999 ; Dalmasso et al., 2008).

C'est une bactérie, aérotolérante, a une taille allant de 0,5 à 1,0 µm. Leur température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C (de Roissard et Luquet, 1994).

Sa capacité métabolique de conversion des sucres en acide lactique est exploitée pour assurer le caillage du lait et la formation de la matrice fromagère (Pitt et al., 2000). En outre, certaines souches de *Lc. lactis* sont capables de synthétiser des bactériocines, qui jouent un rôle important dans la sécurité alimentaire en évitant la prolifération des microorganismes indésirables (Galvez et al., 2007) et de produire des exo-polysaccharides et des arômes qui contribuent respectivement à la texture ainsi qu'à la qualité organoleptique des produits alimentaire (Ayad et al., 2001 ; Dabour et al., 2006).

II. Lait de chèvre et ses dérivés

II.1. Lait de chèvre

II.1.1. Définition

Le lait de chèvre est un liquide blanc opaque, caractérisé par une saveur douceâtre et peu sucrée et agréable (Duteurtre et al., 2005 ; Melo et al., 2013). Il donne une impression bien homogène : ni trop fluide ni trop épais (Bosset, 2000 ; coulin, 2003) et il est caractérisé par une saveur particulière et un goût plus relevé que le lait de vache (Jooyandeh et Abroumand, 2010; Zaller, 2005)

Du point de vue de ses qualités nutritives, le lait de chèvre possède une valeur de premier ordre. Il est moins allergène (Bosset *et al.*, 2000 ; Montel, 2003) et plus digestible (Mahe, 1997 ; Barrionuevo *et al.*, 2001), il constitue ainsi une source importante d'énergie, de vitamines et de sel minéraux (Desjeux, 1993 ; De La Torre *et al.*, 2008), cependant il est particulièrement pauvre en vitamine A et de β carotène, ce qui lui donne une coloration plus blanchâtre que le lait de vache (Chilliard, 1997 ; Zaller, 2005).

II.1.2. Composition et caractéristiques

Les différentes caractéristiques et la composition du lait de chèvre sont présentées dans les tableaux I et II.

Tableau I : Caractéristiques du lait de chèvre.

Critères	Lait de chèvre	Références
pH	6,5 -6,8	(Bosset <i>et al.</i> , 2000).
Densité	1,031/15°C	(Bonnassi <i>et al.</i> , 1998).
Acidité	13 à 17°D	(Veinoglou <i>et al.</i> , 1982)
Energie	710 Kcal/l	(De la torre <i>et al.</i> , 2008 ; Desjeux, 1993 ;)
Facteurs de variation	Environnement, race, stade et longueur de lactation, saison, nutrition, état sanitaire...	(Carnicella <i>et al.</i> , 2008 ; Goetsch <i>et al.</i> , 2011)

Tableau II : Composition du lait de chèvre (Amiot *et al.*, 2002 ; Brugère, 2003).

Composition (g/l)	Lait de chèvre	Lait de vache
Eau (%)	86,8	87,5
lactose	48	48
Matière grasse	34,4	40,4
Calcium	1,25	1,25
Caséine	30-35	27-30
Extrait sec total	140	125-135
Matière protéique	30,8	32

II.1.3. Microbiologie

La teneur élevée du lait en nutriments et en eau fait de lui un biotope favorable au développement des micro-organismes dont certains peuvent être nuisibles à la santé du consommateur, et à la conservation ainsi à la fabrication de produits laitiers (**Bosset et al., 2000 ; Coulin et al., 2003**).

Les microorganismes du lait de chèvre sont repartis en deux microflore :

➤ **Microflore indigène ou originelle**

Ces microorganismes dépendent de l'alimentation, de la race et d'autres facteurs, les genres dominant en sont principalement *Micrococcus* sp., *Lactobacillus*, *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif (**Lamontagne et al., 2002**).

➤ **Microflore contaminante**

C'est l'ensemble de microorganismes ajoutés au lait de la récolte jusqu'à la consommation (**Lamontagne et al., 2002**), elle est répartie essentiellement en deux grands groupes :

- ✓ **Flore d'altération** : qui est responsable de diverses dégradations du produit. Les principaux micro-organismes d'altérations sont : *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., coliformes principalement *E. coli*, les sporulés tel que *Bacillus* sp., et *Clostridium* et certaines levures et moisissures (**Lamontagne et al., 2002**).
- ✓ **Flore pathogène** : sa présence dans le lait est due à l'animal, à l'environnement ou à l'Homme, elle est responsable des infections chez les manipulateurs et les consommateurs, on distingue: les bactéries infectieuses et les bactéries toxigènes (**Lamontagne et al., 2002**).

III. Fromage de chèvre

III.1. Généralités sur les fromages

Le fromage correspond à un véritable moyen de conservation des principaux composants du lait (**Irlinger et Mounier, 2009**). Sa définition est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Jeantet et al., 2006**).

III.1.1. Fromages frais

Les fromages frais sont des fromages non affinés qui, lorsqu'ils sont fermentés, ont subi une fermentation à prédominance lactique combinant souvent l'action des ferments lactiques à celle de la présure, et doivent renfermer une flore vivante au moment de la vente au consommateur. Ils sont traditionnellement des fromages à égouttage lent, avec une DLC de 24 jours (Mahaut *et al.*, 2000 ; Luquet et Corrieu, 2005).

III.1.1.1. Différents types

Les diverses technologies employées permettent de distinguer deux types de fromages frais (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Simon *et al.*, 2002)

- ✓ Les fromages blancs moulés.
- ✓ Les fromages blancs frais à structure homogène.

III.1.1.2. Technologie de fabrication

Le processus général de fabrication des fromages frais se résume en deux grandes étapes essentielles : la coagulation et l'égouttage (Randazzo *et al.*, 2002).

✓ Coagulation

La coagulation du lait peut se faire selon deux voies : acide ou mixte.

- **La coagulation par voie acide**

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique par acidification bactérienne (ferments lactiques) à pH 4.1.

- **La coagulation enzymatique**

Elle présente la même finalité puisqu'elle consiste en transformation du lait en gel par l'action d'enzymes protéolytiques qui vont préférentiellement hydrolyser les caséines k.

- **La coagulation mixte**

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et des ferments lactiques (Raynaud *et al.*, 2003 ; Jeantet *et al.*, 2007).

✓ Egouttage

Cette étape consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique. Elle commence dans les cuves de coagulation, puis se poursuit dans les moules et enfin en hâloirs (Jeantet *et al.*, 2007 ; St-Gelais *et al.*, 2002).

IV. Lactosérum

IV.1. Définition

Le lactosérum peut être défini comme étant la partie liquide restant après la séparation du caillé qui résulte de la coagulation acide ou enzymatique du lait. Il représente environ 85-95% du volume de lait (**Muller et al., 2003**).

IV.2. Types de lactosérum

Selon le degré d'acidité Dornic inférieur ou supérieur à 1,8 g d'acide lactique par litre, on peut distinguer deux types de lactosérum (**Schuck et al., 2004**) :

IV.2.1. Lactosérum doux

Résultant de la coagulation des laits non acides, par la présure, ayant un pH d'environ 6,5 à 6,7 et une acidité inférieure à 18° D, issu de la fabrication de fromages à pâte pressée ou à pâte cuite.

IV.2.2. Lactosérum acide

Résultant, de la fabrication des fromages à pâtes fraîches, à pâtes molles ou de la caséines, et ayant un pH de 4,5 à 5, l'acidité étant supérieure à 18 °D (**Linden et al., 1994 ; Pedro et al., 2010**).

IV.3. Intérêt industriel

Représentant 80% du lait, le lactosérum est un produit encombrant pour les industries laitières. Cependant, des recherches ont mis en évidence sa valeur nutritive et ses applications dans différents domaines : alimentaire, médical et biotechnologique (**Alais, 1981**). En effet, le lactosérum est utilisé dans l'alimentation animale, les régimes pauvres en protéine et diététique (**Dryer, 2001**).

V. Huile d'olive

V.1. Définition

Selon le conseil oléicole international « **COI** » (**2003**), « l'huile d'olive est une huile obtenue à partir du fruit de l'olivier par des procédés physiques sans intervention de solvant, à l'exclusion des huiles obtenues par extraction avec des solvants ou par n'importe quel mélange avec d'autres types d'huiles. A la différence des autres huiles végétales, l'huile d'olive ne requiert aucune étape de raffinage ni aucune transformation chimique ».

V.2. Classification

Conformément à la norme **COI/T.15/NC Rev.1 du 5** décembre 2003 du conseil oléicole International, le classement des huiles d'olive est le suivant :

V.2.1 Huile d'olive vierge apte à la consommation ou « naturelle » :

Définie comme produit obtenue de l'olive par des moyens physiques et dans des conditions thermiques n'entraînant pas l'altération. On distingue trois types :

- ❖ Huile d'olive vierge « extra » : acidité < 0.8%
- ❖ Huile d'olive vierge « fine » : acidité < 2 %
- ❖ Huile d'olive vierge « courante » : acidité de 3,3% maximum.

V.2.2. Huile d'olive vierge inapte à la consommation :

Sous sa forme d'origine, d'acidité supérieure à 3.3%, elle est destinée à la consommation après raffinage ou à l'industrie.

V.3. Effets thérapeutiques

Le rôle de l'huile d'olive dans la santé humaine est lié à sa composition riche en acide gras mono-insaturés, en composés phénoliques, en vitamine E, et en caroténoïde qui sont des anti-oxydants et qui démontrent des effets considérables dans la prévention de certaines maladies (**Visioli et al., 2002 ; Huang et al., 2008 ; Bouhadjra, 2011**).

L'huile d'olive diminue le risque des maladies cardiovasculaires, tout en abaissant le taux des niveaux de cholestérols de la lipoprotéine de faible densité (LDL) et en augmentant celui des cholestérols à haute densité de la lipoprotéine (HDL) et empêche la motilité gastrique et mobilisent également l'absorption de divers minéraux tel que le calcium, le fer et le magnésium (**Jones et al., 2007**)

On a signalé que la consommation d'huile d'olive en tant qu'élément de régime méditerranéen diminue la tension artérielle systolique et diastolique et réduit le risque de cancer du sein, certaines tumeurs malignes de la prostate, de l'endométriome, et de la région digestive. (**Harwood et Aparicio, 2000**), l'huile d'olive augmente également la sensibilité d'insuline efficace pour les diabétiques (**Rosa et al., 2004**).

Partie pratique

I. Matériels et méthodes

I. Méthodes

I.1. Objectif du travail

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de l'Université de A/Mira de Bejaia durant la période Février – Mai 2014.

L'objectif de ce travail consiste d'une part à étudier les caractéristiques physicochimiques des fromages frais fabriqués à base de lait de chèvre stérile conservée ou non dans de l'huile d'olive et dans du lactosérum et d'autres parts à réaliser un suivi de la croissance des ferments lactiques utilisés, en culture pure ou en culture mixte, durant la conservation des fromages fabriqués afin d'étudier l'influence de cette conservation sur leur évolution et leur survie en fonction du temps.

I.2. Souches utilisées

Les souches utilisées dans ce travail sont des bactéries lactiques du genre *Lactococcus* (*Lactococcus lactis*) et du genre *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*). Ce sont deux souches de la collection des souches du Laboratoire de Microbiologie Appliquée groupe du Lait et Probiotiques.

- *Lactobacillus plantarum* isolé à partir des olives.
- *Lactococcus lactis* isolé à partir du lait de chèvre.

I.3. Revivification et vérification de la pureté des souches de *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus plantarum*

Deux souches de bactéries lactiques, *Lc.lactis* et *Lb.plantarum* conservés dans la gélose MRS à 4°C, sont repiquées sur bouillon MRS.

Une deuxième revivification pour *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* est réalisée sur gélose MRS à 30°C pendant 48h (**figure 01**)

La vérification de la pureté des souches repiquées est réalisée par des 4 repiquages successifs et des observations macroscopiques (aspect taille et forme des colonies) et microscopiques (coloration de Gram) additionné à un test de la Catalase.

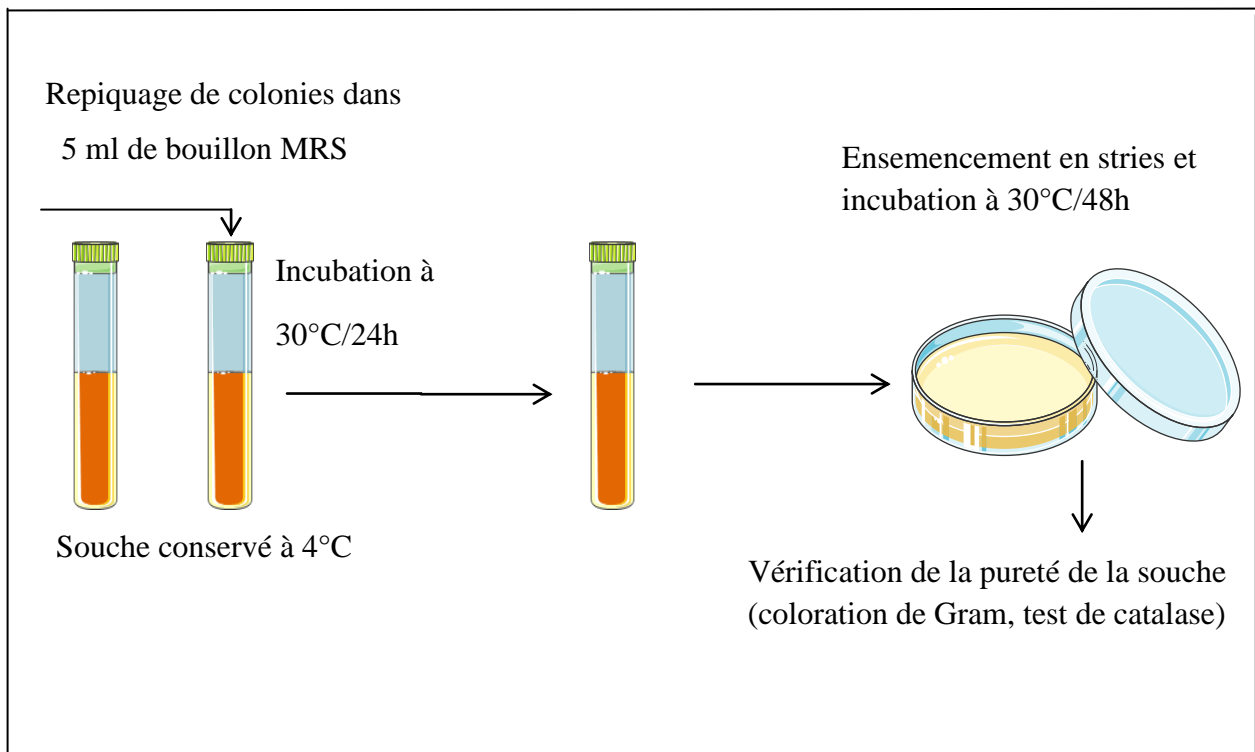


Figure 01 : Revivification et vérification de la pureté des souches de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*.

I.4. Le lait de chèvre utilisé

Le lait utilisé pour la standardisation des deux souches de bactéries lactiques et la fabrication du fromage frais, est un lait de chèvre de race kabyle, provenant de la localité Tala Hamza (Béjaia). Il est acheminé directement, après la traite, dans une glacière au laboratoire. Ce lait est collecté au début de mois de Mars. Une fois au laboratoire, des analyses physicochimiques et microbiologiques et un traitement thermique à 100°C /10min ont été effectués.

I.5. Standardisation des inocula bactériens de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*

Afin d'avoir le même nombre de cellules bactériennes dans un 1 ml de culture durant toute l'expérimentation une standardisation dans un lait de chèvre stérile est effectuée.

A partir des cultures fraîches de 18h, obtenues dans 9 ml de bouillon MRS, un ensemencement est réalisé sur gélose MRS. Après 48 h d'incubation à 30°C, 4 colonies de

Lc. lactis, 2 colonies de *Lb. plantarum* bien isolées et bien distinctes sont repiquées dans un tube de 9 ml de lait de chèvre stérile, puis incubées à 30°C pendant 18h. Au terme de la période d'incubation, des dilutions décimales sont réalisées dans de l'eau physiologique (10^{-1} jusqu'à 10^{-9}). A partir des dernières dilutions préparées (10^{-4} jusqu'à 10^{-9}), 1 ml de chaque dilution est ensemencé en masse dans une gélose MRS, puis incubé à 30°C pendant 48 h. Après 48 h les colonies sont dénombrées.

I.6. Mise au point d'un fromage frais au lait de chèvre stérile

I.6.1. Appréciation de la qualité hygiénique du lait cru de chèvre

Afin de s'assurer de la qualité hygiénique du lait cru de chèvre, des analyses physicochimiques et microbiologiques sont réalisées.

I.6.1.1. Test d'ébullition

Un tube contenant 5ml du lait cru de chèvre est porté au bain marie à 100°C / 5min. Un lait de mauvaise qualité coagule à l'ébullition.

I.6.1.2. Mesure du pH et détermination de l'acidité Dornic

- ✓ La mesure du pH du lait de chèvre est effectuée à l'aide d'un PH-mètre de type (HANNA) étalonné par les solutions tampon à pH=4 et pH=7.
- ✓ L'acidité titrable du lait de chèvre est déterminée comme décrite par (Tantaoui-Elraki et al., 1983) et (AFNOR, 1986) avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), N/9 en présence d'un indicateur coloré (phénophtaléine à 1 %).
- ✓ L'acidité est exprimée en degré Dornic °D ($1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ g d'acide lactique/ litre}$). Pour 10 ml de l'échantillon à analyser, on ajoute une à deux gouttes de phénophtaléine à 1 %. L'acidité est titrée à l'aide de soude N/9 contenu dans une burette de Mohr à robinet et versée goutte à goutte en agitant constamment jusqu'au virage vers une couleur rose pâle persistante (10 secondes environ).

I.6.1.3. Analyses microbiologiques du lait de chèvre

La recherche ou le dénombrement des flores du lait est effectué pour le lait cru ainsi que le lait stérilisé afin de s'assurer de l'efficacité de la stérilisation réalisée (**Tableau VI**).

Tableau VI : Analyse microbiologique du lait de chèvre (**Guiraud, 2003**)

Indicateur de la qualité hygiénique			
Flores	Dénombrement	Milieu utilisé	Durée et T°C d'incubation
FTAM	Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-6} à 10^{-9} .	PCA	72h à 30°C.
Coliformes totaux	Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-3} à 10^{-6} .	VRBG	24 h à 37°C
Coliformes fécaux	Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-1} à 10^{-2} .	EMB	24 h à 44°C
Flore d'intérêt industriel			
Bactéries lactiques	Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-1} à 10^{-9} .	MRS	48 h à 30°C
Recherche et dénombrement des Flores pathogènes			
Staphylocoques	Milieux d'enrichissement : ensemencement de 1 ml du lait dans 9 ml du milieu de Giolitti Contoni (+Telurite de potassium)	GC	24 à 48 h, 37°C
	Milieux d'isolement : Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-1} à 10^{-3} .	Chapman	24 à 48 h, 37°C
Salmonelle	réalisé un enrichissement	SFB	24 h à 37°C
	Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-1} à 10^{-3} .	SS	24 h à 37°C

1.6.2. Analyses physico-chimiques de l'huile d'olive

❖ Acidité

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation.

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres contenus dans un corps gras, par convention, elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique pour les huiles d'olives.

La détermination de l'acidité de l'huile utilisée dans cette étude a été effectuée selon la norme AFNOR NF T60-204 de Décembre 1985 (Veillet, 2010) dont le principe est le suivant :

On met en solution 2 g de l'huile d'olive en présence de 50 ml de solvant organique (25 ml d'éthanol à 95% et 25ml d'éther diéthylique) et on titre à l'aide d'un indicateur coloré (phénolphtaléine). La solution vire au rose persistant pour un volume de KOH correspondant à l'équilibre acido-basique L'acidité libre a ensuite été exprimée en pourcentage d'acide oléique libre selon la formule suivante :

$$\% \text{ acide oléique} = (V_{\text{KOH}} \times N \times 28,2) / m$$

Soit :

m : masse de la prise d'essai en gramme ;

V : volume de titrage en ml ;

N : normalité de la solution d'hydroxyde de potassium (0,1 N) ;

28,2 g/mol : masse molaire de l'acide oléique.

❖ Valeur de peroxyde :

La valeur peroxyde a été déterminé par la méthode d'acide acétique et chloroforme selon la norme AOCS CD 8-53 (Veillet, 2010) .5g d'huile d'olive ont été dissous dans 30 ml d'un mélange acide acétique -Chloroforme la réaction est déclenchée dans l'obscurité puis 0,5 ml d'une solution saturée d'iodure de potassium ont été ajoutés au mélange, puis enfin 30 ml d'eau distillée après exactement une minute d'agitation. Après un temps de repos l'ion libéré (O₂) a été dosé par un titrage avec du thiosulfate de Sodium à 0,01N en utilisant de l'amidon

comme indicateurs coloré, la valeur peroxyde est exprimée en milliéquivalents peroxyde par 1000gd'huile selon la formule suivante ;

$$VP \text{ (meq.O}_2\text{/Kg)} = [(V_{ech} - V_{blanc})] \times 0,1 \times 1000/m_{huile}$$

Soit :

VP : valeur du peroxyde en milliéquivalents peroxyde par 1000g d'huile. ;

V_{ech} : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en ml ;

V_{blanc} : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

m : masse de la prise d'essai en gramme.

❖ Teneur en eau

La teneur en eau est déterminée dans 100 g de l'huile d'olive met auparavant dans un flacon stérile, séché dans une étuve à une température de 105°C pendant 2h au maximum.Le résultat obtenu est déterminé selon la formule suivante :

$$H\% = (M_1 - M_2/P) \times 100$$

Soit :

H% : humidité ;

M_1 : masse de flacon+ échantillon avant étuvage ;

M_2 : masse de flacon+ échantillon après étuvage ;

P : masse de la prise d'essai.

I.6.3. Fabrication des différents fromages frais

La fabrication du fromage frais nécessite deux étapes essentielles : la coagulation et l'égouttage (Corcy, 1991), dans cette étude on a utilisé un lait de chèvre stérilisé à 100°C/10minutes, le fromage est obtenu après avoir effectué les étapes suivantes :

I.6.3.1 Préparation des préferments

Un total de 1,9 L de lait de chèvre stérile est reparti dans 3 flacons en verre de 500 et 700ml. Le lait est stérilisé au bain marie à 100°C pendant 10 min. Le refroidissement est assuré à température ambiante.

Les préferments sont préparés de la façon suivante :

En total, trois tubes contenant 9 ml de lait de chèvre stérile sontensemencés comme suit :

- ❖ $6,3 \times 10^8$ UFC/ml de *Lc. lactis* de 24h à 30°C sontensemencés dans un tube de 9 ml du lait de chèvre stérilisé.
- ❖ $3,4 \times 10^8$ UFC/ml de *Lb. plantarum* de 24h à 30°C sontensemencés dans un tube de 9 ml du lait de chèvre stérilisé
- ❖ $6,3 \times 10^8$ UFC/ml de 24h à 30°C de *Lc lactis* et $3,4 \times 10^8$ UFC/ml de 24h à 30°C de *Lb. plantarum* sontensemencés dans le tube du lait de chèvre stérilisé.

Les trois tubes sont incubés à 30°C/24h.

I.6.3.2. Ensemencement et emprésurage

Trois types de fromages frais sont fabriqués :

➤ **Fromage à partir du lait stérile de chèvre + *Lactobacillus plantarum* :**

Dans le 1^{er} bocal de 695 ml on a ajouté 5 ml du préferment *Lb. plantarum* (10^8 UFC/ml) et on a incubé à 30°C/ 6h,

➤ **Fromage à partir du lait stérile de chèvre + *Lactococcus lactis* :**

Dans le 2^{ème} bocal de 496 ml, 3.5 ml du préferment *Lc. lactis* (10^8 UFC/ml) sont ajoutés et le bocal est incubé à 30°C/ 6h.

➤ **Fromage au lait stérile de chèvreensemencé avec la culture mixte (*Lb. plantarum*+ *Lc. lactis*)**

Dans le 3^{ème} bocal (695ml), on aensemencé 5 ml d'une culture mixte contenant les deux préferments. L'incubation est à 30°C/6h

L'emprésurage est réalisé après 6 heures d'incubation à 30°C, en ajoutant la présure (Caglifici cleria) à raison de 80µl/1L, cette opération dure 30min jusqu'à 2h.

I.6.3.3. Egouttage et moulage

L'égouttage permet de séparer la phase solide caillé de la phase liquide (lactosérum). Il se fait à l'aide de compresse (stérile). Le moulage a été réalisé dans des moules en plastique poreux contenant environ 100g de caillé, ensuite gardés 24 heures à 20°C. Des retournements ont été effectués pour accomplir l'égouttage (**figure 02**). Le pH des 3 lactosérums obtenus est mesuré.



Figure 02: Egouttage et moulage des caillés obtenus après coagulation du lait de chèvre.

I.6.3.4. Découpage et conservation des fromages frais obtenus

Après 24heures d'égouttage on a obtenus des fromages frais, pour lesquels on a réalisé une mesure de pH, détermination de l'acidité Dornic. Un découpage est fait d'une manière à obtenir 3 morceaux pour chaque fromage en aura comme résultat finale 9 échantillons dont :

- ❖ Un morceau de chaque fromage est laissé comme témoin et sont conservés à 4°C dans du papier aluminium.
- ❖ Un morceau de chaque fromage est conservé dans l'huile d'olive et mis à 4°C.
- ❖ Le dernier morceau est conservé dans le lactosérum stérile obtenue lors de la fabrication du fromage puis porté à 4° C.

Les bocaux de conservation étaient d'un volume de 250 ml et remplis jusqu'à 150 ml.

I.7.Suivi de l'évolution de la croissance de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* dans les fromages frais fabriqués

Le suivi de la croissance des bactéries lactique a été réalisé selon les techniques décrites par **Guiraud et Galzy (1998)**, et **Guiraud (2003)** :

La croissance des bactéries lactiques des 9 échantillons est suivie par des dénombrements sur gélose MRS aux J0 (jour avant la conservation à 4°C), 7^{ème} jours, 14^{ème} jours, 21^{ème} jours, enfin 28^{ème} jours.

1g de fromage de chaque échantillons est prélevé stérilement à l'aide d'une spatule stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Après une forte agitation par le vortex, la dilution 10^{-1} est obtenue, à partir de cette dernière des dilutions décimales sont préparés jusqu'à 10^{-8} .

1 ml des dilutions 10^{-6} jusqu'à 10^{-8} estensemencé en masse sur gélose MRS (deux boites de Pétri /dilution). L'incubation s'effectue à 30°C pendant 48 h. Seulement les boites contenant entre 30 à 300 colonies sont prises en compte.

Le dénombrement de colonies obtenues après incubation est réalisé par la méthode qui permet de dénombrer le nombre d'unités formant colonies (UFC) sur la totalité de la boîte (entre 15 et 300 UFC pour chaque micro-organisme). En outre, elle permet de distinguer les colonies en fonction de leur taille, de leur pigmentation, de leur aspect, et de constater immédiatement l'existence d'une éventuelle contamination. La concentration en cellules viables est donnée par la relation :

$$N = \frac{\sum_{i=1}^X C_x \times 10^{-d} \times F}{V}$$

- N: concentration en cellules viables (UFC/ml),
- d : dilution par rapport à la suspension de départ,
- C_x : nombre de colonies compté pour la boîte x,
- V : volume de solutionensemencée (ml).
- F : facteur de dilution du prélèvement initial (=10).

Des analyses physicochimiques (mesure de pH, d'acidité Dornic, et de taux d'humidité) sont effectuées en parallèle pour les 9 échantillons de fromage frais

La mesure des taux d'humidité s'effectue en immergeant la tête du thermo- hygromètre (HANNA) dans chaque échantillon du fromage, le taux d'humidité s'affiche automatiquement.

II. Résultats et discussion

II.1.Vérification de la pureté des souches

Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique réalisés sur les souches *Lb. plantarum* et *Lc. lactis* utilisées au cours de cette étude montrent qu'elles sont pures et non contaminées (**tableau V**)

Tableau IV : Caractères des souches utilisées.

Caractères souches	Aspect des colonies sur gélose	Observation microscopique	Catalase
<i>Lc. lactis</i>	Petites colonies blanchâtres bombées	Coques en chaînette à Gram positif	Négative
<i>Lb. plantarum</i>	Petites colonies lenticulaires blanchâtres	Bacilles en chaînette à Gram positif	Négative

II.2.Standardisation des inocula bactériens

Le nombre de cellules viables obtenu après dénombrement des coloniesensemencées dans le lait de chèvre stérile est de l'ordre de $1,2 \times 10^8$ UFC/ml de *Lc. lactis* et $6,3 \times 10^8$ UFC/ml de *Lb. plantarum* et $3,4 \times 10^8$ UFC/ml de *Lc. lactis*+ *Lb. plantarum*.

II.3.Mise au point d'un fromage frais de chèvre

II.3.1.Evaluation de la qualité hygiénique du lait de chèvre

II.3.1.1.Test de l'ébullition

Le résultat de test de l'ébullition obtenus été négatif, cela signifie que le lait est normal. Les laits anormaux ou acidifiés coagulent à l'ébullition.

II.3.1.2. pH et acidité Dornic

Les valeurs de pH et d'acidité Dornic du lait cru de chèvre sont de 6,58 et 16 °D. Ces valeurs sont en concordance avec celle rapportés par **Imran (2008)** qui enregistre un pH de 6,59 pour le lait caprin et **Drackova et al (2008)** a révélé un pH de 6,63.

Les bas pH du lait à la traite peuvent résulter de l'infection de la mamelle de l'animal (**Morgan, 1999**), mais aussi du facteur génétique qui, à lui seul, a une grande influence sur les variations du pH du lait caprin (**Remeuf, 1993 ; Remeuf et al., 2001**).

Demazeaud (2006) précise que le pH du lait est une propriété physique importante qui influence la fermentation lactique.

Kalantzopoulos (1993) et **Le Jaouen (2000)** stipulent qu'un lait de chèvre doit avoir des valeurs de pH et d'acidité Dornic qui varient respectivement entre (pH 6,45 à pH 6,75) et (12 à 21°D).

Selon ces résultats on déduit que l'échantillon du lait de chèvre analysé est de bonne qualité physico-chimique donc on peut l'utiliser comme matière première pour la fabrication de notre fromage frais.

II.3.1.3. Analyses microbiologiques du lait de chèvre cru

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait de chèvre cru destiné à la fabrication des fromages frais sont résumés dans le **tableau V** et la **figure 03**.

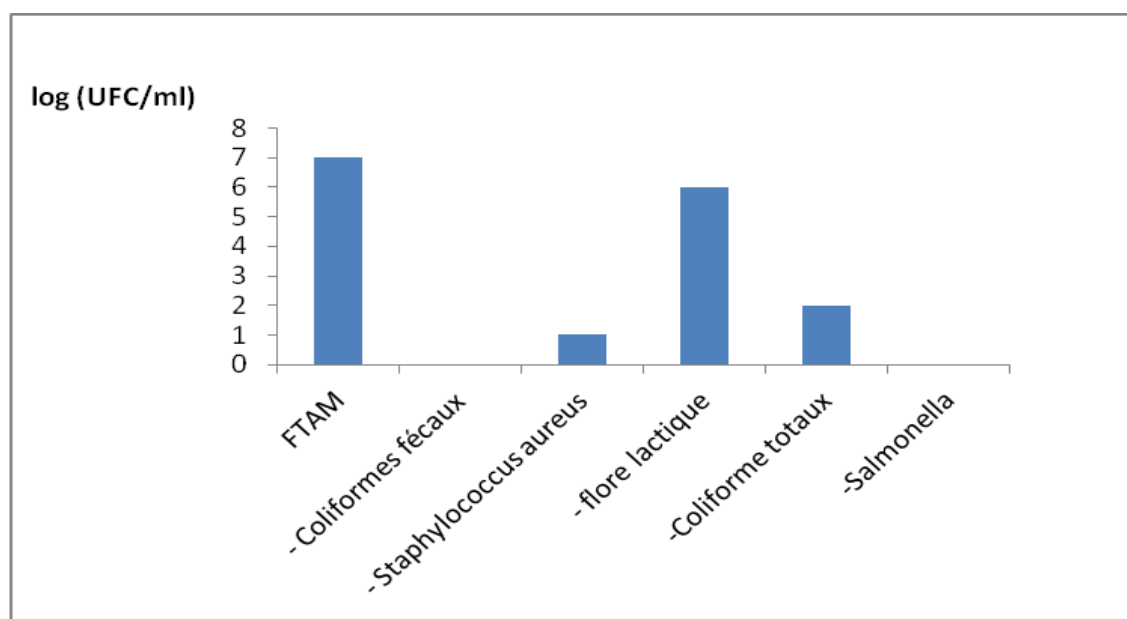


Figure 03: Résultat de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre.

Les résultats obtenus indiquent l'absence des coliformes fécaux, des salmonelles et présence des coliformes totaux (10^2 UFC/ml) et *Staphylococcus aureus* (10^1 UFC/ml) en nombre faible. Cela témoigne d'une qualité hygiénique acceptable. La charge microbienne totale du lait cru est relativement plus importante (10^7 UFC/ml). La réglementation nationale s'accorde sur le fait qu'une charge supérieure à 10^5 UFC/ml signifie une contamination importante.

II. Résultats et discussion

Par comparaison aux normes Algériennes tirées de l'arrêté interministériel issu du J.O.R.A (Journal Officiel de la République Algérienne) n°35 du 27 Mai 1998/ Aouel Safar 1419, le lait de chèvre analysé est de mauvaise qualité microbiologique (**tableau VI**).

Tableau V : Critères microbiologiques du lait cru (**J.O.R.A**) en comparaison avec les résultats obtenu

Germes	Résultats obtenus (UFC/ml)	Normes (J.O.R.A , 1998) (UFC/ml)
Germes aérobies à 30°C	10 ⁷	10 ⁵
Coliformes fécaux	Absence	10 ²
<i>S. aureus</i>	10 ¹	Absence

Les résultats de l'analyse microbiologiques du lait de chèvre présumé stérile destiné à la fabrication des fromages frais montrent l'absence de toutes les flores microbiennes (**tableau VII**)

Tableau VI : Qualité microbiologiques du lait de chèvre stérilisé.

Bactéries	Lait stérilisé
Flore aérobie totale mésophile	absence
Flore lactiques	
Coliformes totaux	
Coliformes fécaux	
Salmonelle	
Staphylocoques	
Clostridium	
Bacillus	

Le lait utilisé est stérilisé dans le but d'éliminer toute flore endogène afin d'optimiser et de faciliter l'étude de la cinétique de croissance des ferments lactiques utilisés pour la fabrication des différents fromages.

D'après les résultats obtenus dans le **tableau VI**, on constate que la stérilisation du lait de chèvre a été efficace.

II.3.2. Analyse physicochimique de l'huile d'olive

Les résultats de l'analyse physicochimique de l'huile d'olive sont illustrés dans le **tableau(VII)**

Tableau VII : Résultats de l'analyse physicochimique de l'huile d'olive (**FAO, 2001**) et (**Codex Alimentarius, 1989**)

Paramètres	Résultats	Unités	Normes
Teneur en eau	0,13	% m/m	<0,2
Acidité	0,12	% ac oléique	<3,3
Indice de peroxyde	15,1	M eq/Kg	<20

Les résultats obtenus lors de l'analyses physicochimiques de l'huile d'olive coïncides avec les normes citées par **FAO, 2001** et **Codex Alimentarius, 1989** et permet de classer cette huile dans la catégorie de huile d'olive vierge courante.

II.3.2. Fromage frais au lait de chèvre stérile

Les ferments lactiques utilisés dans cette étude, ont permis d'acidifier le lait au bout de 6 heures. Après 30 minutes d'emprésurage, un coagulum est obtenu.

Le lait de chèvre coagule plus rapidement et atteint la fermeté maximale en un temps plus court que le lait de vache (**Steinshot, 1973**). L'acidité du lait caprin réduit le temps de coagulation et accélère la synérèse du caillé (**Kouniba, 2007**).

L'égouttage du caillé permet de séparer le caillé solide, composé de caséine et de matière grasse, du lactosérum. Les fromages obtenus après cette étape possèdent des textures souples et onctueuses à pates blanches et fermes (**figure 04**).

Suite à l'action de la présure le lait de chèvre forme un caillé moins ferme et plus friable par rapport à celui de la vache (**Le Jaouen et al., 1990 ; Remeuf et al., 1989**).

Au moulage, les fromages fabriqués au lait de chèvre stérilisé s'égouttent peu rapidement mais facilement retournable.

La texture la plus ferme est observée dans le fromageensemencé en culture mixte. Cependant, le fromageensemencé avec *L.c lactis* présentent une texture lisse, humide et non ferme.



Figure 04 : Fromage frais (*Lc. lactis*) obtenu après égouttage.

La mesure du pH des trois fromages fabriqués présentent respectivement des valeurs de 5,40, 5,05 et de 5,45 pour celuiensemencé avec *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* et leur association.

Le lactosérum issu de la transformation du lait de chèvre en fromage est principalement du lactosérum acide (pH 4,3- pH 4,7) (**Cayot et Lorient, 1998**)

Après égouttage, les différents fromages obtenus sont découpés en trois portions, une sera immergée dans le lactosérum, l'autre dans l'huile d'olive, la dernière portion sera laissée comme témoin est emballée dans le papier aluminium, sa conservation s'effectue à 4°C (**figure 05**).



Figure 05 : Conservation des fromages fabriqués dans l'huile d'olive et dans le lactosérum.

II.3.3. Cinétique d'acidification et de croissance des souches en culture pure et mixte de *Lc. lactis* et de *Lb. plantarum* dans les différents fromages

II.3.3.1. pH et acidité Dornic des fromages témoins

L'activité acidifiante est l'une des caractéristiques des bactéries lactiques la plus recherchée dans le domaine agro-alimentaire. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 06 et 07. Les résultats chiffrés de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic sont résumés dans l'annexe.

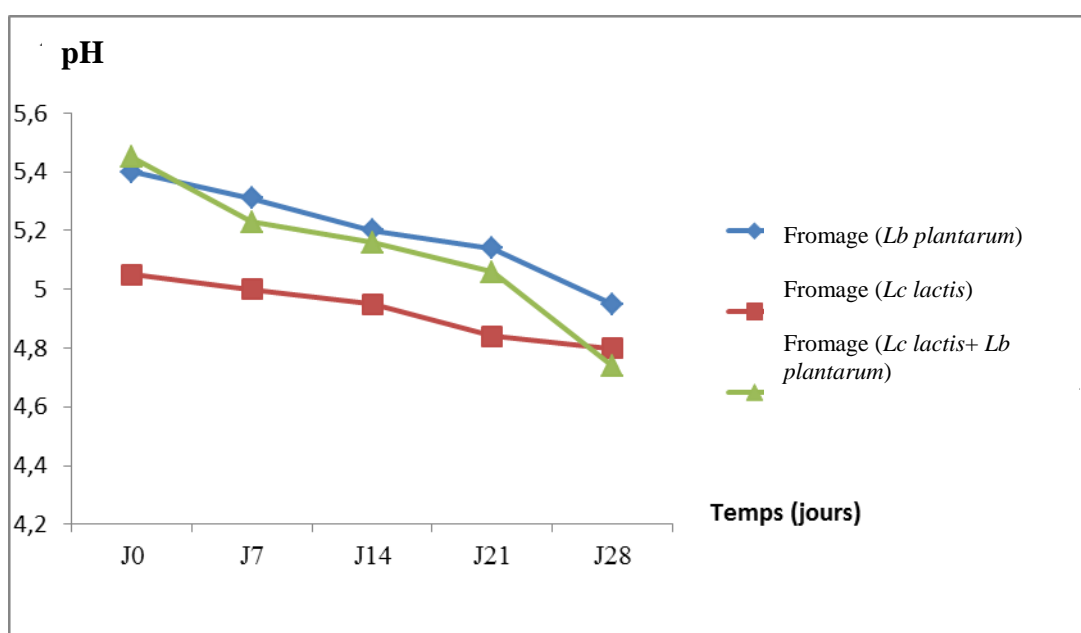


Figure 06 : Evolution du pH des trois fromages frais témoins.

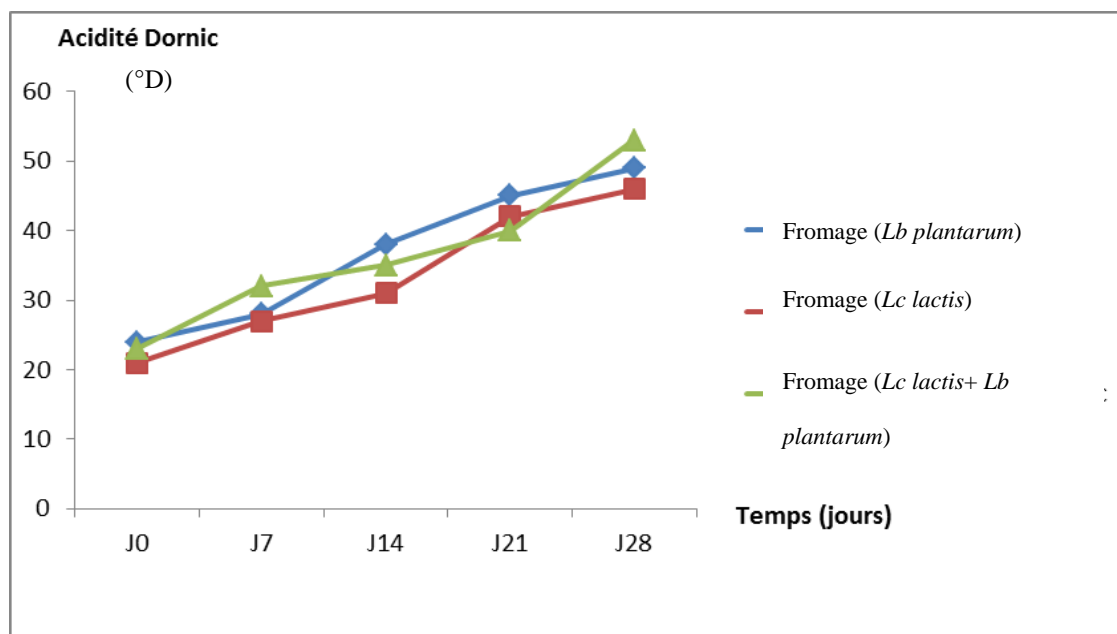


Figure 07 : Evolutions de l'acidité Dornic des fromages frais de chèvre témoins.

Les **figures 06** et **07** montrent que les diminutions de pH des fromagesensemencés avec les souches *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* en cultures pures et mixte suivent exactement les mêmes allures que le gain d'acidité Dornic.

Une diminution notable du pH pendant toute la période de conservation est notée pour les trois fromages témoins. A J₀ les valeurs de pH des fromagesensemencés avec *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* en culture pure et mixte sont respectivement 5,05 ; 5,40 et pH 5,45 et sont communes pour tous les fromages.

Du 7^{ème} au 28^{ème} jour on observe une diminution progressive qui atteint 4,95 pour *Lb. plantarum*, 4,8 pour *Lc. lactis* et 4,74 pour la culture mixte. Ces résultats coïncident avec ceux rapportés par **El Azzi et Bassal (2005)** (4,65 à 4,8)

Il s'avère important de noter que le pH est lié à la qualité du fromage : un pH de 5,0 correspond à un fromage de bonne qualité, alors qu'un pH supérieur à 5,2 correspond à un fromage qui se détériore plus rapidement qu'à un pH plus bas (**Alais, 1984**).

D'après **Gay et al (1993)** et **Martin_Hernandez et al. (1992)** un fromage frais de chèvre doit présenter des valeurs de pH comprises entre 4,6 à 4,8.

Lc. lactis produit de l'acide lactique par fermentation des glucides simple et tolère des pH acides. Cette bactérie a pour rôle essentiel d'acidifier le lait et le caillé et participe à la formation du goût (**Hermier, 1992**).

On constate que la diminution du pH en fonction du temps est dû à la production de l'acide lactique à partir du glucose présent dans le milieu (Heilig et al., 2005)

Quant à l'acidité, nous avons remarqué une augmentation progressive pendant toute la période d'analyse due à une fermentation lactique active par les souches ensemencées ce qui provoque l'acidification du milieu.

A J₀ les valeurs étaient comprises entre 21 et 24 °D pour les trois fromages. Jusqu'aux 7^{ème} jours le changement n'est pas notable, du 7^{ème} aux 28^{ème} jours on constate une augmentation majeure pour les trois fromages, pour atteindre le maximum de 53°D pour le fromage fabriqué à partir de la culture mixte, et seulement 49°D pour celui ensemencé avec la souche *Lb. plantarum* et 46°D pour le fromage ensemencé avec la souche *Lc. lactis*.

L'augmentation de l'acidité est un indicateur de la qualité de la conservation du lait ou des produits laitiers et ne peut résulter que d'un développement conséquent de la flore lactique influencé par le jeu combiné de l'augmentation de la température ainsi que la durée de leur conservation (Cassinello et Pereira, 2001)

II.3.3.2. pH et acidité Dornic des fromages conservés dans le lactosérum

Les résultats obtenus de la mesure de pH et d'acidité Dornic sont illustrés dans les figures 08, 09.

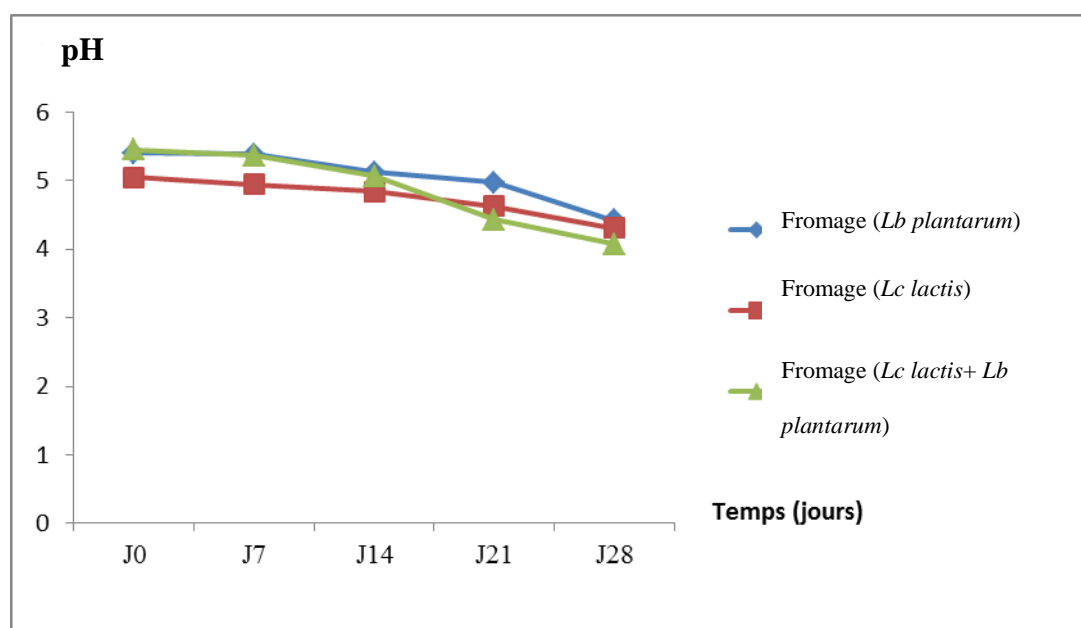


Figure 08 : Evolution du pH des trois fromages frais fabriqués conservés dans le lactosérum.

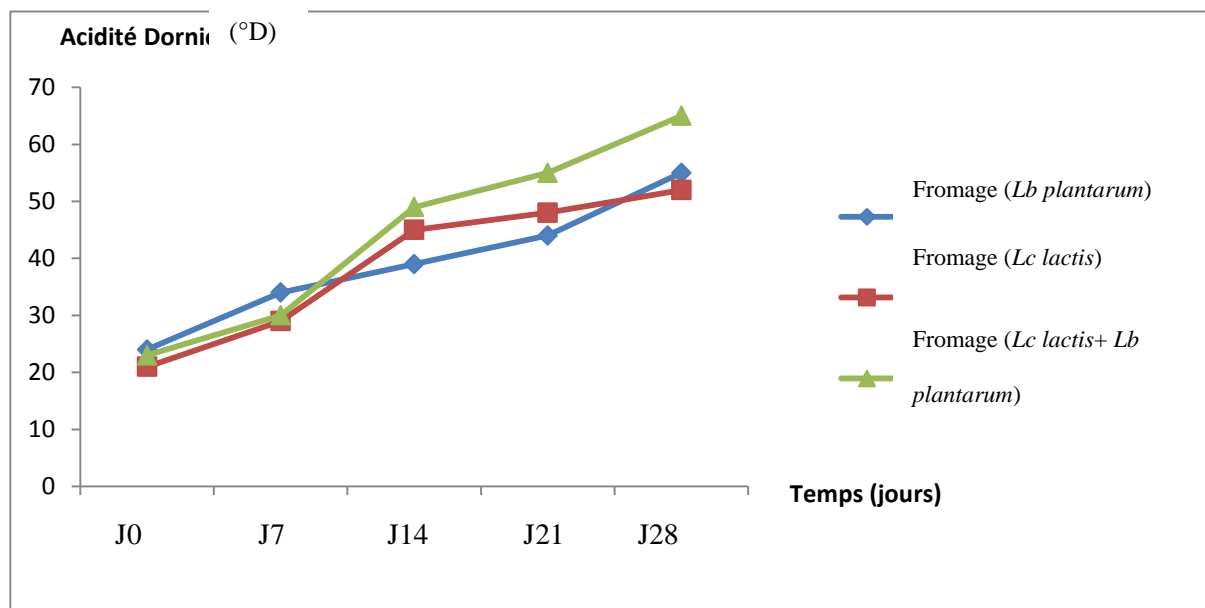


Figure 09: Evolution de l'acidité Dornic des fromages frais de chèvre conservés dans le lactosérum.

Dans les **figures 08** et **09** on remarque que la diminution du pH est liée avec l'augmentation de l'acidité Dornic.

Pendant toute la période de conservation dans le lactosérum on note une diminution progressive des valeurs de pH des fromages. A J₀ les valeurs de pH ont été comprises entre : 5,40 à 5,05. A J₂₈ elles atteignent les proportions les plus acides à savoir : 4,07 pour le fromageensemencé en culture mixte qui est la plus marquée, suivi de 4,31 pour celuiensemencé avec *Lc. lactis* et 4,42 pour celuiensemencé avec *Lb. plantarum*. Ces valeurs sont en concordance avec celles rapportées par (**Kouniba et al., 2007**) (4,14 et 4,08), celles rapportés par (**Hamama, 1997**) (3,70 à 4,80) et ceux de (**Rhiat et al., 2011**) (4,18 à 4,25). Les pH bas enregistrés s'expliquent par le mode de coagulation qui est à prédominance lactique.

Pour l'acidité Dornic on remarque une augmentation importante et progressive de J₀ jusqu'au J₂₈, elle est passée de 24 jusqu'à 55°D pour *Lb. plantarum*, 21 jusqu'à 52°D pour *Lc lactis*, et 23 jusqu'à 65°D pour la culture mixte, cette dernière présente les valeurs les plus élevées, ces valeurs d'acidité Dornic sont inférieures à celles rapportées par (**Rhiat et al., 2011**) (83 à 87,4 °D) celle trouvée par (**Hamama,1989**) qui est de 99° D, (**Mahi,1992**) (99,4°D), (**Aboulala,1994**) (101,23°D)

Les résultats finaux de pH et d'acidité Dornic sont plus acides dans fromages plongés dans le lactosérum par rapport à ceux observé dans les fromages non conservés.

Les substances nutritive du lactosérum constituent un bon milieu de culture pour les bactéries lactiques, qui en se multipliant consomment la matière sèche du lactosérum en particulier le lactose qui est transformé en acide lactique, ceci conduit à une augmentation de l'acidité du produit (Morel d'Arleux, 1982)

II.3.3.3.pH et acidité Dornic des Fromages conservés dans l'huile d'olive

Les résultats de l'évolution du pH et d'acidité Dornic des fromages conservés dans l'huile d'olive sont illustrés dans les **figures 10 et 11**.

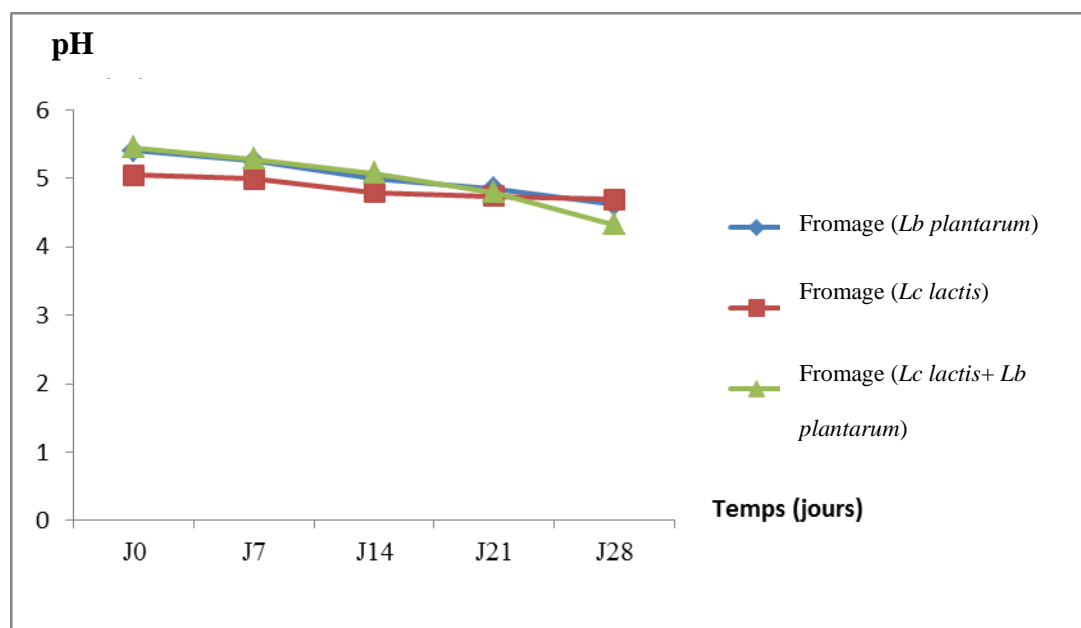


Figure 10 : Evolution du pH des trois fromages frais fabriqués conservés dans l'huile d'olive.

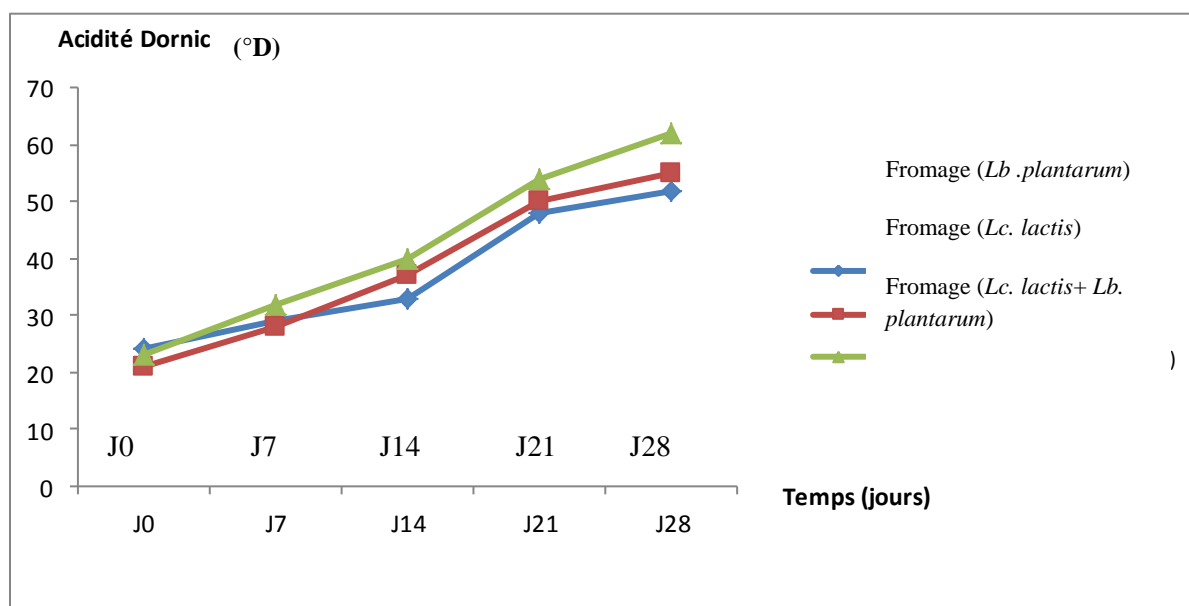


Figure 11 : Evolution de l'acidité Dornic des fromages frais de chèvre ensemencés en culture pure et mixte par les souches *Lc. Lactis* et *Lb. plantarum* conservés dans l'huile d'olive.

Pour les fromages conservés dans l'huile d'olive les valeurs de pH diminuent progressivement jusqu'au J₂₈ où ils atteignent : 4,62 pour le fromageensemencé avec *Lb. plantarum*, 4,69 pour celui de *Lc. lactis*, et 4,33 pour celui de la culture mixte qui présente les valeurs de pH les plus acides durant toute la période de conservation. Ces valeurs de pH sont proches de ceux rapportés par (**Hadef, 2012**) (pH4, 67 et pH4, 83) et moins acides par rapport à ceux avancés par (**Hamama, 1989**) (4.20), (**Kbibou, 1987**) et (**Mahi, 1992**) (4.22).

Quant à l'acidité, nous avons remarqué une augmentation progressive pendant toute la période de l'analyse. A J₀ les valeurs étaient comprises entre 21 et 24 °D pour les trois fromages. Après 28 jours (J₂₈), ces valeurs ont augmenté pour atteindre le maximum de 62°D pour le fromageensemencé en culture mixte, suivi de 55°D pour le fromageensemencé avec *Lc. lactis* et 52°D pour celuiensemencé avec *Lb. plantarum*.

La cinétique d'acidification la plus importante est celle observée dans les fromages conservés dans le lactosérum, cette dernière plus que dans les fromages non conservés. Par conséquent la fermentation est plus favorable dans le lactosérum parce qu'il est riche en facteur de croissance (protéine, sels minéraux vitamine...etc.) que peut utiliser ces bactéries comme substrats.

D'après **Cailliez-Grimal et al. (2007)**, l'activité acidifiante des bactéries lactiques conditionnent, pour une grande part, l'aptitude du lait à la coagulation, l'aptitude du caillé à l'égouttage et la composition finale du fromage.

L'acidification est une conséquence de l'accumulation du lactate dans le milieu suite à une dégradation du lactose et donc à un abaissement notable du pH et une augmentation de l'acidité titrable (**Chamba et al., 1994**).

II.3.3.4. Taux d'humidité des fromages

Les résultats de la mesure des taux d'humidité des 9 échantillons de fromages enregistrés pendant 28 jours de conservation sont illustrés dans les **figure 12, 13, 14**.

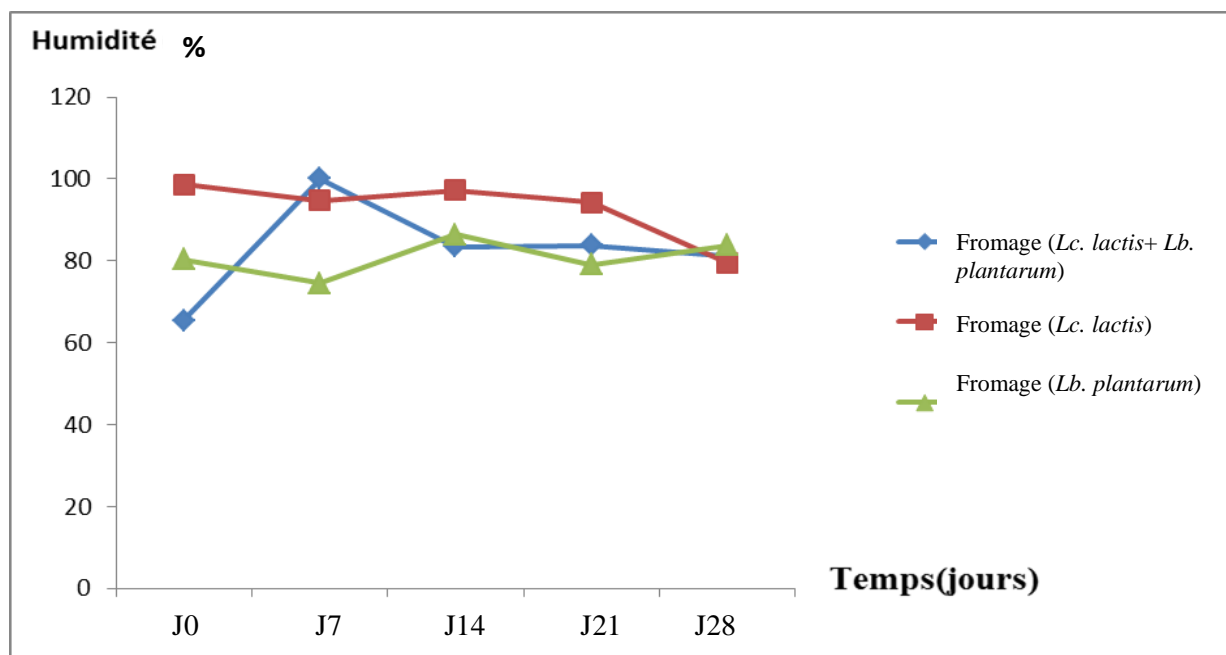


Figure 12 : Evolution des taux d'humidité des fromages frais de chèvre témoins.

A J₀ les taux d'humidité des fromages obtenus sont de l'ordre suivant : 80,3% pour le fromageensemencé avec *Lb plantarum*, 65,40% pour le fromageensemencé avec la culture mixte, et 98,7% pour le fromageensemencé avec *Lc. lactis*, ce dernier est le plus humide des trois fromages ces valeurs sont communes pour tous les fromages.

A partir du 7^{ème} aux 28^{ème} jour ces taux varient en fonction du temps et en fonctions du fermentensemencé, les taux les plus élevés sont observés dans le fromage fabriqué à partir du *Lc.lactis* avec une moyenne de (92 ,88%), suivi par le fromageensemencé avec *Lb. plantarum* (80,84%), et enfin le fromageensemencé en culture mixte avec un taux de (80,76%) durant toute la période de conservation à 4°C.

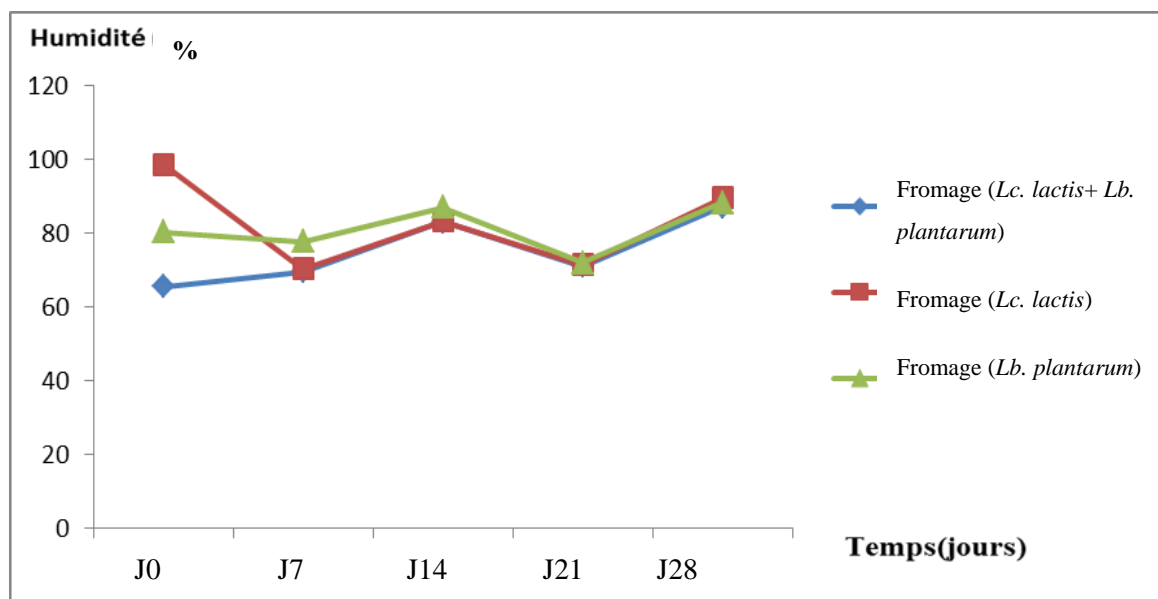


Figure 13: Evolution de l'humidité des fromages frais de chèvre conservés dans l'huile d'olive.

Aux 28^{ème} jours ces valeurs atteignent 88,2%, 89,6% et 87,1% pour les fromages fabriqués à partir de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*, et leur association respectivement.

Les moyennes des taux d'humidité observés durant toute la durée de conservation sont respectivement : 81,6 , 75,24 et 82,66% pour les fromagesensemencés avec *Lb. plantarum*, *Lb. plantarum*+ *Lc. lactis* et enfin *Lc. lactis* qui a présenté les taux les plus élevés, et sont nettement supérieures à celles rapportées par (**Kouniba et al., 2007**) (67 et 65%) et par (**Hamama, 1997**) concernant le *Jben* traditionnel (62,5%) et par (**Benkerroum et Tamime, 2004**) concernant le *jben* produit dans la zone nord (64,4%).

Les fromages à pâte fraîche sont généralement caractérisés par une humidité supérieure à 60% (**Alais et Linden, 1997**).

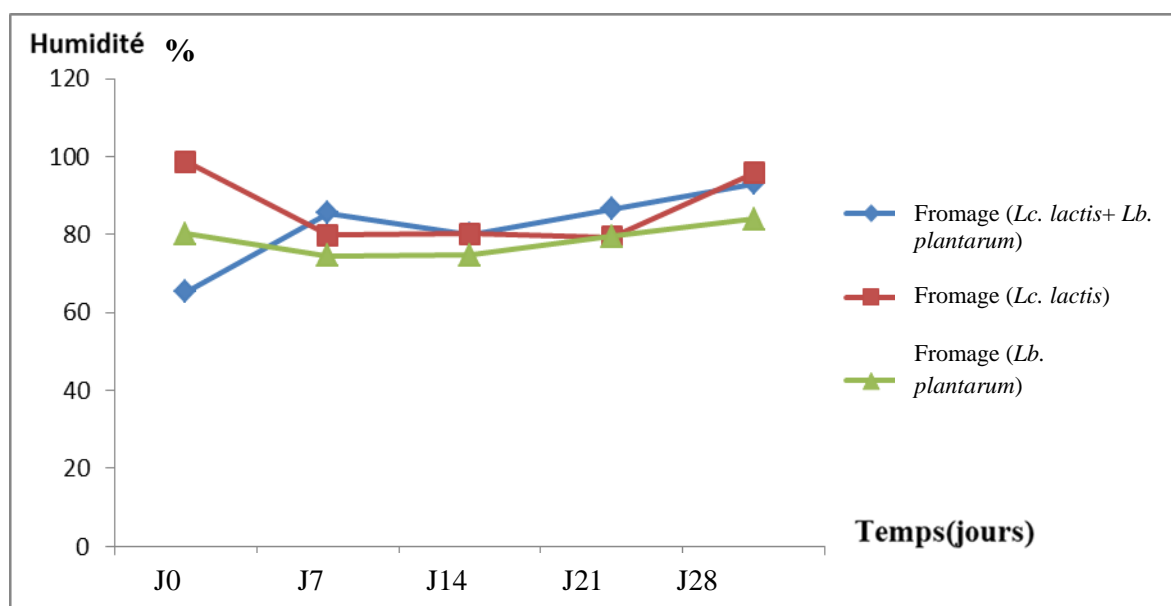


Figure 14 : Evolution de l'humidité des fromages frais de chèvre conservés dans le lactosérum.

Au début de fabrication les taux d'humidité des trois fromages varient entre 65,4%, 80,3% et 98,7% pour ceuxensemencés avec *Lb. plantarum*+ *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* et *Lc. lactis* respectivement, les résultats des mesures suivants sont variables, pour atteindre aux 28^{ème} jours 84% pour *Lb. plantarum*, 93% pour la culture mixte, et 95,9% pour *Lc. lactis* qui a présenté les taux les plus élevés d'humidité.

Les moyennes d'humidité calculées pour les trois échantillons sont les suivants : 78,66% pour le fromageensemencé avec *Lb. plantarum*, 82,08% pour celui de la culture mixte, le taux le plus élevé est noté dans le fromageensemencé avec *Lc. lactis* avec une valeur de 90,94%.

Durant toute la période de contrôle c'est le fromageensemencé avec *Lc. lactis* qui s'est révélé être le plus humide des trois fromages conservés ou non conservé, on suppose que cela est due à la durée d'égouttage.

Les résultats de mesure d'humidité des trois échantillons conservés dans le lactosérum (83,89%) sont plus au moins proches de ceux notés dans les fromages témoins (84,84%) et sont nettement supérieurs à ceux observés dans l'huile d'olive (79,83%) et ils sont plus élevés que ceux mesuré par (Hadeh, 2012) qui se situe entre (68,29 à 69,15).

On suppose que la texture et la composition du lactosérum augmentent les taux d'humidité et provoque une décomposition partielle de la structure finale du fromage.

II.3.3.5. Evolution de croissance des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, et leurs association, dans les fromages frais à base de lait de chèvre stérile

Les résultats de l'évolution de la croissance des ferments lactiques sont illustrés en fonction du temps dans les figures 15, 16, 17.

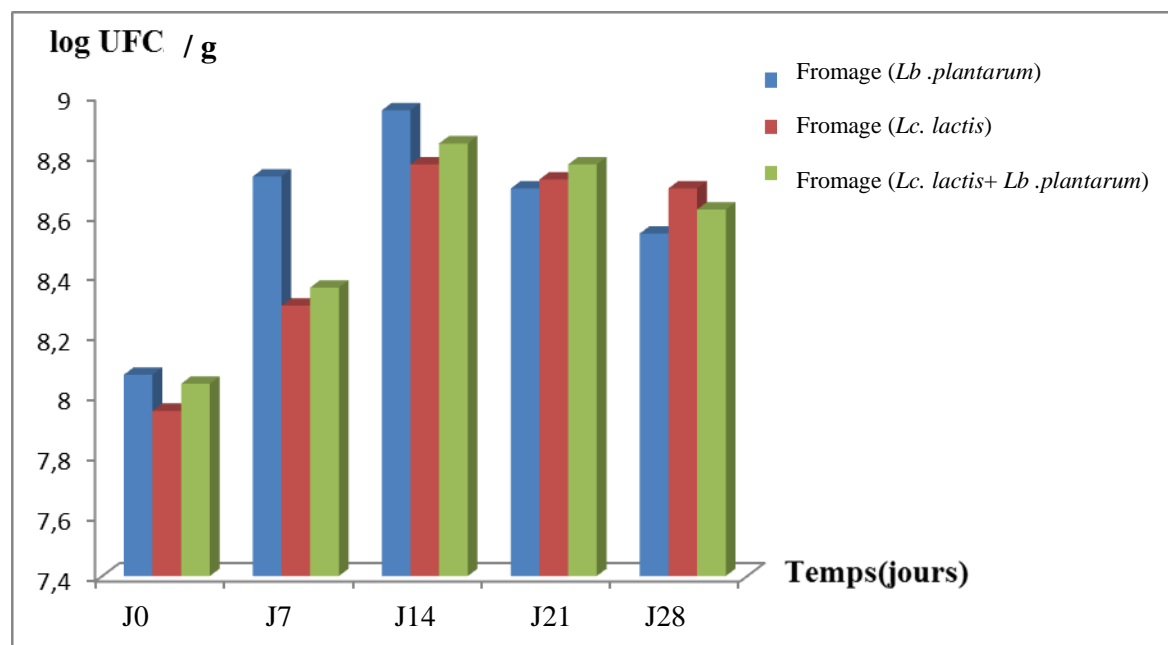


Figure 15: Evolution des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum* en culture mixte et en culture pure les fromages frais de chèvre témoins.

A J₀ le nombre de souches dénombrées était de l'ordre de $(1.2 \times 10^8 \text{ UFC/g})$ de *Lb. plantarum*, $9 \times 10^7 \text{ UFC/g}$ de *Lc. lactis* et de $1,1 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ de *Lc. lactis* + *Lb. plantarum* en culture mixte.

Au bout du 14^{ème} jour la croissance bactérienne atteint son maximum avec des valeurs allant de $9 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lb. plantarum*, $6 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lc. lactis* et $7 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour leur culture mixte.

A partir du 21^{ème} jour on note une diminution progressive du nombre des souches jusqu'au 28^{ème} jour où elle atteint les valeurs suivantes : $(5 \times 10^8 \text{ UFC/g})$ pour *Lc. lactis*, $(4,2 \times 10^8 \text{ UFC/g})$ pour la culture mixte et $(3,5 \times 10^8 \text{ UFC/g})$ pour *Lb. plantarum* qui présente le taux le plus bas. Ces résultats coïncident avec ceux rapportés par (Daoudi, 2006) ($3,9 \cdot 10^7 \text{ cellules / ml}$)

Selon Bornarel *et al* (2003), pendant 1 mois ou plus. Dans ces conditions de froid les ferments du fromage ne se multiplient pas, mais conservent néanmoins une activité métabolique.

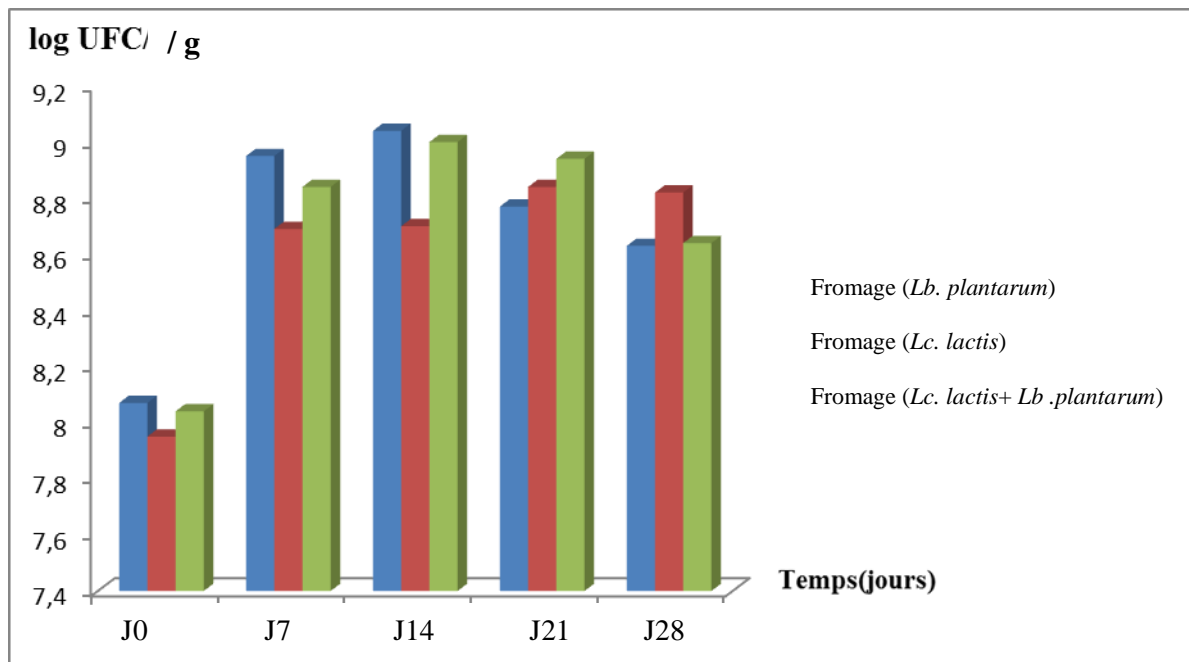


Figure 16: Evolution des souches *Lc lactis*, *Lb plantarum*, dans les fromages frais de chèvre conservés dans l'huile d'olive.

A J₀ les nombre de souches inoculées était de l'ordre de ($1,2 \times 10^8$ UFC/g) de *Lb. plantarum*, 9×10^7 UFC/g de *Lc. lactis* et $1,1 \times 10^8$ UFC/g de *Lc. lactis* + *Lb. plantarum* en culture mixte.

Aux 7^{ème} jours on remarque que *Lb. plantarum* est la souche qui pousse le mieux (9×10^8 UFC/g) par rapport à la souche *Lc. lactis* (5×10^8 UFC/g) et leurs culture mixte (7×10^8 UFC/g)

Au bout du 14^{ème} jour la croissance bactérienne atteint son maximum avec des valeurs allant (11×10^8 UFC/g) pour *Lb. plantarum*, (8×10^8 UFC/g) pour *Lc. lactis* et (10×10^8 UFC/g) pour leurs cultures mixte. A partir du 21^{ème} jour on note une diminution progressive de nombre des souches jusqu'au 28^{ème} jour où elle atteint les valeurs suivante : $6,7 \times 10^8$ UFC/g pour *Lc. lactis*, $4,4 \times 10^8$ UFC/g pour la culture mixte et $4,3 \times 10^8$ UFC/g pour *Lb. plantarum* qui présente le taux le plus bas.

On remarque que le taux de croissance est plus important dans les fromages conservés dans l'huile d'olive que dans ceux considérés comme temoins.

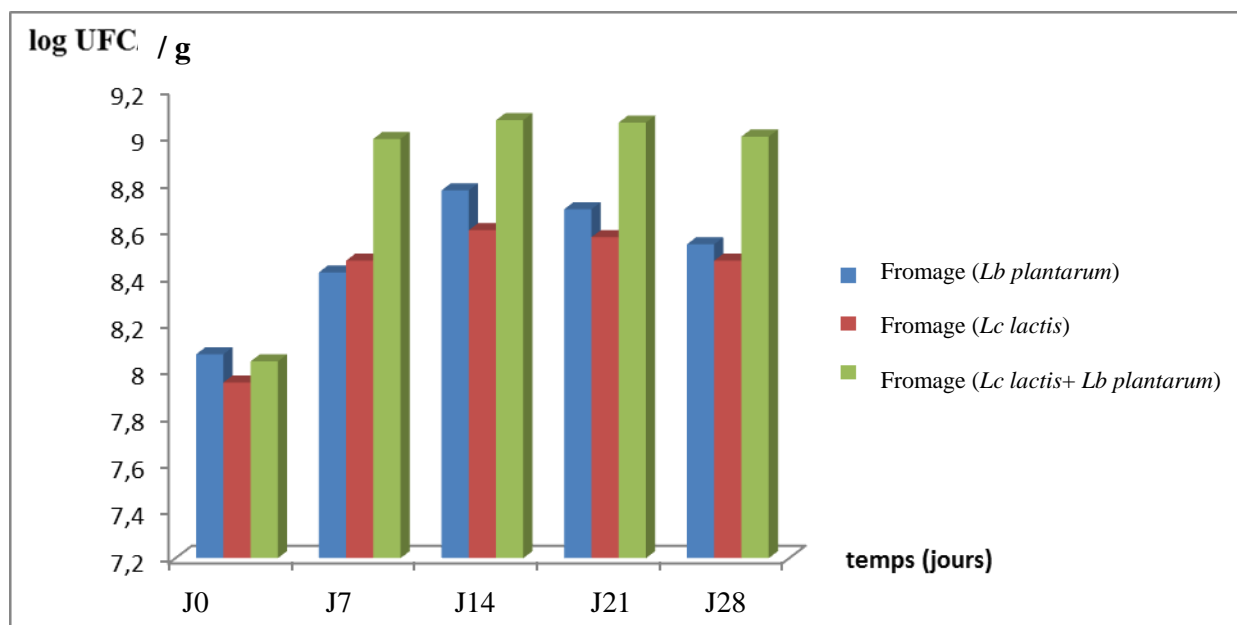


Figure 17: Evolution des souches *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, dans les fromages frais de chèvre conservés dans le lactosérum.

Après 7 jour de conservation la cinétique de croissance atteint des valeurs nettement supérieures que celles du départ qui sont de : $(2,65 \times 10^8 \text{ UFC/g})$ pour *Lb. plantarum* et $3 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lc. lactis*, la plus remarquable est celle en culture mixte qui présente une proportion de croissance de $(9,9 \times 10^8 \text{ UFC/g})$.

Au bout du 14^{ème} jour ses valeurs augmentent et atteignent les valeurs suivantes : $5 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lb. plantarum* et $3,80 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lc. lactis* et la valeur la plus élevée est celle dénombrée dans la culture mixte ($11,7 \times 10^8 \text{ UFC/g}$).

A partir du 21^{ème} au 28^{ème} jour on observe une diminution de nombre des souches de l'ordre suivants : $3,5 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lb. plantarum*, $3 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour *Lc. lactis* et $10 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ pour la culture mixte.

On remarque que c'est l'association de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* qui a la meilleure croissance dans le fromage conservé dans le lactosérum.

En comparant les résultats obtenus dans les différents échantillons on remarque que : Les cultures pures de *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* se développent mieux dans le fromage conservé dans l'huile d'olive avec un taux de cellules viables à la fin de la conservation qui est de : 6,7 et $4,3 \times 10^8 \text{ UFC/g}$ respectivement par rapport aux fromages conservés dans le lactosérum et ceux non conservés. Par contre leur association donne de meilleurs résultats dans les fromages conservés dans le lactosérum avec un taux de cellules vivantes au 28^{èmes}

II. Résultats et discussion

jours de 10×10^8 UFC/g, par rapport à $4,2 \times 10^8$ UFC/g dans le fromage non conservé et $4,4 \times 10^8$ UFC/g et dans celui conservé dans l'huile d'olive.



Conclusion

Conclusion

Le fromage de chèvre pourrait répondre aux besoins et à l'exigence des consommateurs en vue de ses qualités nutritionnelles, sa combinaison avec l'huile d'olive et le lactosérum pourrait augmenter sa durée de conservation ainsi protéger ses qualités organoleptiques.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui avait pour objectif le suivi de la croissance des ferments lactiques et des caractéristiques physicochimiques des fromages frais de chèvre conservés ou non dans l'huile d'olive et dans le lactosérum.

Neuf échantillons ont été obtenus après découpage des trois types de fromages fabriqués, dont trois ont été conservés dans l'huile d'olive, trois autres dans le lactosérum et les trois derniers sont laissés comme témoins à 4° C.

En second lieu les neuf échantillons ont subis une étude des caractéristiques physicochimiques (mesure de pH, d'acidité Dornic et de taux d'humidité) et un suivi de la croissance des ferments lactiques ensemencés par des dénombrements sur milieu MRS pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Pour ce qui est des analyses physicochimiques (pH et acidité Dornic) celles-ci marquent une différence notable entre les fromages conservés dans l'huile d'olive et dans le lactosérum et ceux considérés comme témoins, les valeurs d'acidité les plus élevées se sont celles observées dans les échantillons de fromages conservés dans le lactosérum et surtout ceux qui ont été ensemencés en culture mixte ce résultats s'explique par le pH du lactosérum acide et aussi par sa composition riche en matière sèche.

Ainsi nous relevons des taux d'humidité relativement plus élevés dans les fromages conservés dans le lactosérum que dans ceux conservés dans l'huile d'olive et ceux considérés comme témoins. Ces variations sont liées à la durée d'égouttage, le type de ferment utilisé, le temps et la conservation mise au point.

Concernant le suivi de la croissance des ferments lactiques utilisés lors de cette étude (*Lb. plantarum*, *Lc. lactis*) ensemencés en culture pure et en culture mixte dans les différents fromages frais fabriqués, les taux de cellules viables constatés après 28 jours de conservation sont relativement élevés dans les fromages conservés dans l'huile d'olive et dans le lactosérum que dans les fromages témoins,

Conclusion

A travers les résultats obtenus il apparait que l'utilisation des ferments en culture mixte est plus favorable, on suppose qu'il y a une bonne association entre *Lc. lactis* et *Lb. plantarum* ainsi il a été révélé que le lactosérum peut être récupéré pour assurer la conservation des fromages frais et augmenter leur durée de conservation de même pour l'huile d'olive comme étant un produit de terroir et ainsi combiner ses effets thérapeutiques avec les effets nutritionnels du lait de chèvre.

Cette étude reste préliminaire, et mérite d'être suivie et reprise par d'autres études complémentaires. Pour cela nous proposons les perspectives suivantes dans le but de :

- Réaliser une étude statistique.
- Réaliser des analyses sensorielles pour les différents types de fromages frais.
- Etudier la nature de l'association qui a lieu entre les deux types de ferments utilisés et caractériser les meilleurs rapports symbiotiques.
- Essayer d'augmenter la durée de conservation des fromages frais au-delà de 28 jours.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Aboulala F., Hamama A., Zahar M., El Marrakchi A., Bent M et Aberrahman M. (1995).** Actes Institut Agronomique et Vétérinaire Maroc, 15 : 21-26.
- **AFNOR. (1986).** Méthodes d'analyses du lait et les produits laitiers. Recueil des normes Françaises, 2^{ème} édition, 580p.
- **Alais C. (1981).** La valorisation du lactosérum, les bases et les problèmes. Techniques laitières. Pp. 7-10.
- **Alais C. (1984).** Science du lait : principes des techniques laitières. 4e Ed., SEPAIP. Paris. 814
- **Alais C et Linden G. (1997).** Biochimie alimentaire. 4e Ed., Masson. Paris. pp. 185-187.
- **Amiot J, Fournier S, Leboeuf Y, Paquet P, Simpson R. (2002).** Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal. pp. 34-45
- **Atlan D, Béal C, Champonier-Vergès MC, Chapot-Chartier MP, Chouayekh H, Coccagn- Bousquet M, Deghorain M, Gadu P., Gilbert C, Goffin P, Guédon E, Guillouard I, Guzzo J, Juillard V, Ladero V, Lindley N, Lortal S, Loubière P, Maguin E, Monnet C, Monnet V, Rul F, Tourdot-Maréchal R et Yvon M. (2008).** Métabolisme et ingénierie métabolique. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271-447.
- **Axelsson L. (2004).** Classification and physiology. *In*: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 1-66.

- **Ayad EH, Verheul A, Engels WJ, Wouters JT and Smit G. (2001).** Enhanced flavor formation by combination of selected lactococci from industrial and artisanal origin with focus on completion of a metabolic pathway. *J Appl Microbiol.* 90: 59-67.

B

- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre de deux population caprines locale « Arabia et Kabyle ». *Sci. Tech.* 23 :30-37.
- **Barrionuevo M, Alferez MJM, Lopez Aliaga I, Sanz Samplelayo MR and Campos MS. (2001).** Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorbtion syndrome. *Journal of Dairy Science*, **85**, 657-664.
- **Beerens H et Luquet MF. (1987).** Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. pp. 1-144.
- **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.
- **Benkerroum N, Tamime AY. (2004).** Review: Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* 21 : 399-413.
- **Bonassi IA, Martins D et Roca R. (1998).** Composition chimique et propriétés physico-chimiques du lait de chèvre dans l'état à Sao Paulo Brésil. *Revue des ENIL.* 217 : 21-28.
- **Bornarel P, Boulbaye P, Hugoo P et Gaou K. (2003).** Etat de la situation sanitaire des produits laitiers commercialisés dans la zone préurbaine de N'jaména. *Renc Rech Rumin*, 18 : 14-36.
- **Boskou D. (1996).** Olive oil: chemistry and technology (1st edition). Champaign Illinois: American oil chemist's society. USA. 268 p.
- **Bourgeois CM et Larpent JP. (1996).** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 432-704.

- **Bosset J-O, Albrecht B, Badertscher R. (2000).** Caractéristiques microbiologiques, chimiques et sensorielles de lait, de caillé et de fromage de chèvre de type Famlaggini (buxion, robiola) et Foermagella. Péd. LAIT. -France: C N R S. **95**, Suppl 5 :546-580.
- **Bouhadjra K. (2011).** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité antioxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse de Magistère. Université Mouloud Mammeri. Tizi-ouzou.122 p.
- **Brugère H. (2003).** Cours sur Le lait et les produits laitiers, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

C

- **Cailliez-Grimal C, Edima HC, Rvol-Junelles AM et Millière JB. (2007).**
Carnobacterium maltaromaticum : the only *Carnobacterium* species in French ripened soft cheeses as revealed by polymerase chain reaction detection. *J. Dairy Sci.* 90: 1133-1138.
- **Chamba JF, Duong C, Fazel A et Prost F. (1994).** Sélection des souches de bactéries lactiques. In bactéries lactiques. (Eds), Loriga, Paris, pp. 499-519.
- **Carnicella D, DarioM, Ayres MCC, LaudadioV, Dario C. (2008).** The effect of diet, parity, year and number of kids on milk yield and milk composition in Maltese goat. *Small Ruminant Research.* 77:71-74.
- **Cassinello J et Pereira S. (2001).** La qualité du lait et du fromage dans cinq exploitations caprines de la serra do caldeirao. CIHEAM, Option Méditerranéennes. Série A séminaire méditerranéens, **46**, 157-161.
- **Cayot P et Lorient D. (1989).** Structure et technofonctions des protéines du lait. Tech et Doc Lavoisier, Paris, 363 p.
- **Chilliard Y. (1997).** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec le lait de vache et humain. Interet nutritionnel du lait de chèvre. *Anal Pharmaceutiques Françaises*, **59**, 1, 51.

- **Codex alimentarius. (1989).** Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).
- **Collins MD, Samelis J, Metaxopoulos J et Wallbanks S. (1993).** Taxonomic studies of some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. J. Appl. Bacteriol. **75**: 595-603.
- **Conseil oléicole international. (2003).** Détermination des huiles d'olive et de grignon d'olive. COI/T.15/NC num3/Rev. 1.
- **COI. (2003).** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil oléicole international.
- **Corcy JC. (1991).** La Chèvre. Edition : La Maison Rustique, pp. 180-197.
- **Corroler D, Desmasures N, Guéguen M, (1999).** Correlation between polymerase chain reaction analysis of the histidine biosynthesis operon, randomly amplified polymorphic DNA analysis and phenotypic characterization of dairy *Lactococcus* isolates. Applied Microbiology and Biotechnology. **51**, 91-99.
- **Coulin J-B; Rock E. (2003).** Caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers et variations selon leur origine. INRA. Prod. Anim. IQ: 275-278.ce: C N R S, 5 : 546-580.

D

- **Dabour N, Kheadr E, Benhamou N, Fliss I and LaPointe G. (2006).** Improvement of texture and structure of reduced-fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing lactococci. J Dairy Sci 89: 95-110.
- **Dalmaso M, Prestoz S, Rigobello V, Demarigny Y. (2008).** Behavior of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar. *diacetylactis* in a Four *Lactococcus* Strain

Starter during Successive Milk Cultures. Food Science and Technology International 14: 469-477.

- **Daoudi A. (2006).** Qualité d'un fromage locale à base de lait de chevre. Mémoire de Magistère en Biologie. Université de Hassiba Ben-Bouali chlef, Faculté des Sciences Agronomiques et Sciences Biologiques. Algérie, 187p.
- **Desjeux JF. (1993).** Valeur nutritionnelle du lait de chèvre. Lait, **73**, 573-580.
- **Dellaglio F, de Roissard H, Torriani S, Curk MC et Janssens D. (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). Loriga, Uriage. 1 : 25-116.
- **De La Torre G, Serradilla JM, Gil Extremera F and Sanz Samplayo MR.(2008).** Nutritional utilization in malaguena dairy goats differing in genotypes for the content of α S1-casein in milk. Journal of Dairy Science, **91**, 2443-2448.
- **Drackova M, Hadra L,Janstova B, Navatilova P, Pridalova H and Vorlova L. (2008).** Analysis of goat milk by near-infrared spectroscopy. Acta Veterinaria, **77**,415-422.
- **Dridier D et Préost H. (2009).** Bactérie lactique Physiologie Métabolisme Génomique et application industrielle. Edition : Economica. Paris. pp. 320-324.
- **Dryer J. (2001)** .La grande diversité du lactosérum .Dairy foods.**102** Suppl 5: 35- 41.
- **Desmazeaud M. (1998).** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières INRA. pp.1-3.
- **de Roissard H et Luquet FM. (1994).** Bactéries lactiques. 2volumes, Loriga Uriage, France. 600p par volume.

- **Duteurtre G, Oudanang MK et N’Gaba SH. (2005).** Les bars laitiers de n’djamena (Tchad) des petites entreprises qui valorisent le lait de brousse. Acte de colloques, Ressource vivrières et choix alimentaires dans le bassin du lac Tchad : 20-22 novembre, Paris X- Nante

E

- **El Azzi M et Bassal B. (2005).** Optimisation de fabrication de fromage artisanal de chèvre. Annales de recherche scientifique. 6 : 125-143.

F

- **Filiachi K. (2003).** Rapport national sur les ressources génétiques animales : Algérie. Commission National, Point Focal Algérien pour les ressources génétiques, Octobre, pp. 1-46.
- **Food and Agriculture Organization. (2001).** Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles – Annexe IV : Projet de norme pour les huiles d’olive et les huiles de grignons d’olive. Archives de documents de la FAO.

G

- **Galvez A, Abriouel H, Lopez RL and Ben Omar N. (2007).** Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. Int J Food Microbiol 120: 51-70.
- **Gay MF, Joubert G et Sabourreau S. (1993).** Incidence des traitements technologiques sur la qualité hygiénique du lait et des fromages de chèvres à pâte molle. Lait 73 :499-509.
- **Ghaly AE, Singh RK. (1989).** Pollution potential reduction of cheese whey through yeast fermentation. Art biochemistry and biotechnology. 22: 220-228.

- **Ghozlane F., Yakhlef H et Ziki B. (2006).** Performances zootechniques et caractérisation des élevages bovins laitiers de la région d'Annaba (Algérie).Rencontre Recherche Ruminants, **13**, 386p.
- **Guiraud JP et Rosec JP. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. pp. 237- 251.
- **Guiraud JP. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition : Dunod. Paris.651p.
- **Guiraud JP et Galzy P. (1998).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : Usine. Paris. 239p.
- **Goetsch AL, Zeng SS, Gipson, TA. (2011).** Factors affecting goat milk production and quality. Small Ruminant. doi:10.1016/j

H

- **Hadef S. (2012).** Evaluation des aptitudes technologique et probiotique des bactéries lactique locale. Mémoire de Magistère en Microbiologie Appliquée. Université Kasdi Merbah- Ouargla, Faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Univers, Algéries.132p.
- **Hamama A. (1997).** Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of jben (Moroccan traditional fresh cheese). In: H.A. DIRAR. Edition: Emerging Technology Series - Food Processing Technologies for Africa, UNIDO, Vienna, pp. 85-102.
- **Hamama A. (1989).** Qualité bactériologique des fromages frais marocains. Options Méditerranéennes, Série Séminaires. 6: **223-227**.
- **Hassan AN et Frank JF. (2001).** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth EH et Steele JL) 2e Ed, Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 151-205.

- **Heillig LF, D'Ambrosa R, Drake AL et Dellavalle RP. (2005).** Inhibitory Effect of Metabolites from Probiotics *Lactobacillus acidophilus* Strains of Growth of Pathogenic Bacteria. *J. Pharmacol and Toxicol*, 6: 533-540.
- **Hermier J, Lenoir J, Weber F. (1992).** Les groups microbiens d'intérêt laitier. CEPIL, Paris. 568p.
- **Ho TNT N, Tuan N, Deschamps A et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int Workshop on Food Safety and Processing Technology*. pp. 134-142.
- **Hogg T. (2005).** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. pp.188-190.
- **Huang CL et Sumpio BE. (2008).** Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health. *American College of Surgeons*, 207 Suppl 3:407-416.
- **Harwood JL et Aparicio R. (2000).** Handbook of olive oil. Analysis and Proprieties. Gaithersburg Aspen publications: pp. 1-56.

I

- **Imran M, Khan H, Hassan S and khan R.(2008).** Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Jhejang University Science B*, 9, 7:546-551.
- **Irlinger F and Mounier J. (2009).** Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology*. 20: 142-148

J

- **Jeanet R, Croguennec T, Schuck P et Brulé G. (2006).** Science des aliments : Technologie des produits alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 2 : 40-55.

- **Jones PJH, Demonty I, Chan M, Herzog Y et Pelled D. (2007).** Fish-oil esters of plant sterols differ from vegetable-oil sterol esters in triglycerides lowering, carotenoid bioavailability and impact on plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) concentrations in hypercholesterolemic subjects. *Lipids in health and disease*: pp.1-9.
- **Jooyandeh H et Abroumand A. (2010).** Physico-chemical, nutritional, heat treatment effect and dairy product aspects of goat and sheep milks. *Word Applied Science Journal*. **11**, 11:1316-1322.
- **J.O.R.A. (1998).** Arrêté international du (25 Ramadan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998) modifiant et complétant l'arrêté du (14 Safar 1415 correspondant au 23 Juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrée alimentaire. du 27-05-1998 N°035, 7p.

K

- **Kalantzopoulos G. (1993).** Etat de recherche sur le lait de chèvre en Grèce. *Lait*. **73**: 431-441.
- **Khalid NM et Marth EH. (1990).** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy Sci.* **73**: 158-167.
- **Kbibou G. (1987).** Étude bactériologique des produits laitiers traditionnels. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Filière Vétérinaire. IAV Hassan II, Rabat, Maroc.
- **Kosseva MR et al. (2009).** Use of immobilized biocatalysts in the processing of cheese whey/ *International Journal of Biological Macromolecules* **45**: 437–447.
- **Kouniba A, Berrada M et El Marakchi A. (2007).** Étude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race *locale* Marocaine et la race *alpine* et évaluation de leur aptitude fromagère. *Revue Méd. Vét.* **158**. 03 : 152-160.

L

- **Lamontagne Michel Claud P, Champagne J, Reitz A, Sylvain M, Nancy G, Maryse L, Julie J et Ismail F. (2002).** Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal.
- **Larpent JP. (1997).** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier*. Paris. pp.10-72.
- **Leclerc H, Gaillard FL et Simonet M. (1994).** Les grands groupes de bactéries. *In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN*. Paris. 445p.
- **Le Jaouen JC. (2000).** La fabrication de fromage de chèvre fermier. Institut Technique de L'élevage Ovin et Caprin (ITOVIC). Paris .207p.
- **Le jaouen JC, Remeuf F et Lenoir J. (1990).** Données récentes sur le lait de chèvre et les fabrications de produits laitiers caprins. XXIII International Dairy Congress, Octobre, Montréal, Québec. pp. 8-12
- **Linden G et Lorient D. (1994).** Biochimie agro industriel : valorisation alimentaire de la production agricole. Masson .Paris .Milan Barcelone.
- **Leveau JY et Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. pp.85-87.
- **Luquet F.M. et Corrieu G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. pp.3-37. **Lachebi S. (2009).** Valorisation des rejets de l'industrie laitière par techniques membranaires (ultrafiltration). Mémoire de Magistère. Faculté des Sciences de l'Ingénieur. Université M'hamed Bougara-Boumerdes. Algérie.151p.
- **Lopez-Aliagua I ., Alerez, MJM. ,Nestares MT., Ros P B., Barrinuevo M., Campos M.S.(2005).** Goat milk feeding causes an increase in biliary secretion of cholesterol and decreases in plasma cholesterol levels in rats. *Journal of Dairy Science* 88:1024-1030.

M

- **Mahaut M, Jeantet R et Brule G. (2000).** Initiation à la technologie fromagère. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. pp.154-180.
- **Mahe S. (1997).** Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humain. Colloques INRA, 7 novembre, Paris, France.
- **Mahi N. (1992).**Fabrication du fromage frais à partir du lait pasteurisé à l'aide de levains lactiques sélectionnés. Thèse de Doctorat Vétérinaire. I.A.V. Hassan II, Rabat, Maroc.
- **Martin-Hernandez MC, Juarez M and Ramos M. (1992).** Biochemical characteristics of three types of Goat cheese. Journal of Dairy Science.75:1747-1772.
- **Melo B, Gomes A, Moteiro M, Teixeira S, Evandro L, Pereira C, Estevez M. (2013).** Nutritional, textural and sensory proprieties of Coalho cheese made of goats, cow's milk and their mixture. LWT- Food science and technology. 50: 535-544.
- **MedouniY, 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.
- **Moletta R. (2002).** Gestion des problèmes environnementaux dans les IAA. Paris : Tech et Doc. xx-600p.
- **Montel N-C. (2003).** Pratiques d'élevage, microflore du lait et qualité des produits laitiers. Prod. Anim.-France : INRA, **16** ,4: 279-282.
- **Morel d'Arleux F. (1982).** Etude de la stabilité physico-chimique et bactériologique du lactosérum acide brut ou concentré. CRIEBB6contrôle Laitier de la Sarthe.

- **Morgan F. (1999).** Cellule somatique du lait de chèvre. Conséquence sur la composition du lait et la technologie. L'igide, n° 17, décembre.
- **Mozzi F, Raya RR et Vignolo GM. (2010).** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Blackwell. Publishing. 13p.

P

- **Pedro MR. Guimaraes et al. (2010).** Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey Biotechnology Advances 28: 375–384.
- **Pilet M.F., Magras C., Federigh M., (2005).** Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2^e Ed., Economica. Paris. pp.219-240.
- **Pitt WM, Harden TJ and Hull RR. (2000).** Behavior of *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk during fermentation with lactic acid bacteria. J Food Prot 63: 916- 20.
- **Poznanski E, Cavazza A, Cappa F. et Cocconcelli PS. (2004).** Alpine environment microbiota influences the bacterial development in traditional raw milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 92: 141-151.

R

- **Raynaud S, Perrin R, Cocaign-Bousquet M et Loubière P. (2003).** Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* in response to autoacidification and temperature downshift in skim milk. *App. Env. Microbiol.* **71**, 12: 8016-8023.
- **Remeuf F, Linoir J et Duby C. (1989).** Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimique des laits de chèvre et leurs aptitudes à la coagulation par la présure. *Lait*, **69**, 499-518.

- **Remeuf F. (1993).** Influence du polymorphisme génétique de la caséine α S1caprine sur les caractéristiques physicochimique et technologique de lait. Lait, **73**, 549-557.
- **Remeuf F, Guy R, Brignon G, F, Grosclaude F. (2001).** Influence de la teneur en caseine β sur les caractéristiques physicochimiques et l'aptitude de la coagulation enzymatique du lait de chèvre. Lait, **81**, 731-742.
- **Rhiat M, Labioui H, Driouich A, Aouane M, Chbab Y, Driouichi A, Mennane Z et Ouhssine M. (2011).** Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. Afrique SCIENCE. 3: 108 – 112.
- **Rochat T, Gratadoux JJ, Gruss A, Corthier G, Maguin E, Langella P, van de Guchte M. (2006).** Production of a heterologous nonheme catalase by *Lactobacillus casei*: an efficient tool for removal of H₂O₂ and protection of *Lactobacillus bulgaricus* from oxidative stress in milk. Applied and Environmental Microbiology **72**, 5143-5149.
- **Rodriguez JM, Martínez MI, Horn N et Dodd HM. (2003).** Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol. **80**: 101-116.
- **Rosa MLR, Gimeno E, Fito M, Castellote AI, Covas M., Carmen de la Torre-Boronat M et Carmen Lopez- Sabater M. (2004).** Interaction of Olive Oil Phenol Antioxydant Components with Low-density Lipoprotein. Biol.Res.**37**:247-252.

S

- **Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. et Benno Y., 2004.** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. pp.515- 530.

- **Schuck JP, Bouhallab S, Durupt D, Varielle P, Humbert JP et Mrin M. (2004).** Séchage des lactosérums et dérivés: rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. Dairy Science and Technologie, 84 :243-268.
- **Simon D, François M et Dudez P. (2002).** Transformation des produits laitiers frais à la ferme. Educagri. pp. 73-90.
- **Sirulun S, Chaiyasut C, Kantachote D et Luxananil P. (2010).** Characterisation of non-human origin probiotic *Lactobacillus plantarum* with cholesterol-lowering property. African Journal of Microbiology Research.4, suppl 10: 994-1000.
- **St-Gelais D., Tirard-Coller P., Bélanger G., Couture R. et Drapeau R. (2002).** Fromage. In : Science et technologie du lait : transformation du lait (Vignola CL) Presse. Int. Polytechnique. pp: 349-407.
- **Stiles ME et Holzapfel WH. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36: 1-29.
- **Streit F, Corrieu G et Béal C. (2007).** Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. *J. Biotechnol.* 128 : 659-667.
- **St-Gelais D, Baba Ali O, Turcot S. (2002).** Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation, [en ligne]. Site du ministère de l'agriculture et agroalimentaire du Canada. URL : < http://res2.agr.gc.ca/crda/pubs/chevre200-goat2000_f.htm > (page consultée le (09/05/2014)).

T

- **Tamime AY. (2002).** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. pp. 261-366.
- **Tantaoui-Elraki A, Barrada M et El Marrakchi A. (1983).** Etude sur le lben marocain. Lait, **63**, 230-245.

V

- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K. et Swings J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60: 407.
- **Veillet S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre tradition et innovation. Thèse de doctorat en science chimique. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 160p.
- **Veinoglou B, Baltadjieva M, Kalatzopoulos G, Stamenova V et Papadopoulou E. (1982).** La composition du lait de chèvre de la région de Plovdiv en Bulgarie et de Ionnina en Grèce. *Lait*, 62, 155-165.
- **Visioli F, Galli C, Galli G, Caruso D. (2002).** Biological activities and metabolic fate of olive oil phenols. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 564-573.

Z

- **Zaller B. (2005).** Le fromage de chèvre : spécificités technologiques et économiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Paul-Sabatier, Toulouse. France. 78 :31-46.



Annexes

Annexes

Annexe I : Résultats

Tableau I : Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre (UFC/ ml).

Germes	Nombre (UFC/ml)
<i>FTAM</i>	10^7
Coliformes fécaux	Absence
Staphylococcus aureus	10^1
Flore lactique	$1,6.10^6$
Coliforme totaux	10^2
Salmonella	Absence

❖ Résultat de mesure de pH des différents fromages fabriqués

Tableau II : pH des fromages témoinsensemencés en cultures pures et mixtes *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*.

Temps (j)	0	7	14	21	28
Fromage					
<i>Lb. plantarum</i>	5,40	5,31	5, 20	5, 14	4,95
<i>Lc. lactis</i>	5,05	5	4,95	4,84	4,8
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	5,45	5, 23	5,16	5,06	4,74

Tableau III : pH des fromages ensemencés en cultures pures et mixtes de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* conservés dans le lactosérum.

Temps(j)	0	7	14	21	28
Fromage					
<i>Lb. plantarum</i>	5,40	5,39	5,12	4,97	4,42
<i>Lc. lactis</i>	5,05	4,95	4,84	4,63	4,31
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	5,45	5,37	5,07	4.43	4,07

Annexes

Tableau IV: pH des fromagesensemencés en cultures pures et mixtes de *Lb plantarum*, *Lc lactis* conservés dans l'huile d'olive.

Temps(j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	5,40	5,25	4,99	4,85	4,62
<i>Lc. lactis</i>	5,05	4,99	4,8	4,74	4,69
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	5,45	5,28	5,08	4,80	4,33

❖ Résultats de la mesure de l'humidité des fromages

Tableau V : Humidité (%) des fromages témoinsensemencés en cultures pures et mixtes de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*.

Temps (j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	80,3	74,5	86,5	79,1	83,8
<i>Lc. lactis</i>	98,7	94,8	97,2	94,2	79,5
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	65,40	90	83,5	83,7	81,2

Tableau VI : Humidité(%) des fromagesensemencés en cultures pures et mixtes *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* conservés dans lactosérum.

Temps (j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	80,3	74,6	74,8	79,6	84
<i>Lc. lactis</i>	98,7	79,8	80,2	79,3	95,9
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	65,40	85,5	80	86,5	93

Annexes

Tableau VII : Humidité (%) des fromages ensemencés en cultures pures et mixtes de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* conservés dans l'huile d'olive.

Temps (j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	80,3	77,8	87	72	88,2
<i>Lc. lactis</i>	98,7	70,3	83,3	71,4	89,6
<i>Lb. plantarum + Lc. lactis</i>	65,40	69,6	83,1	71	87,1

❖ Résultats des dénombrements

Tableau VIII : Résultat des dénombrements (UFC/g) des souches de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* présentes dans les fromages témoins.

Temps (j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	$1,2 \times 10^8$	$5,45 \times 10^8$	9×10^8	5×10^8	$3,5 \times 10^8$
<i>Lc. lactis</i>	$0,9 \times 10^8$	2×10^8	6×10^8	$5,3 \times 10^8$	5×10^8
<i>Lb. plantarum + Lc. lactis</i>	$1,1 \times 10^8$	$2,33 \times 10^8$	7×10^8	6×10^8	$4,2 \times 10^8$

Tableau IX : Résultat des dénombrements (UFC/g) des souches de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* présentes dans les fromages conservés dans l'huile d'olive.

Temps (j) Fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	$1,2 \times 10^8$	9×10^8	11×10^8	6×10^8	$4,3 \times 10^8$
<i>Lc. lactis</i>	$0,9 \times 10^8$	5×10^8	8×10^8	7×10^8	$6,7 \times 10^8$
<i>Lb. plantarum + Lc. lactis</i>	$1,1 \times 10^8$	7×10^8	10×10^8	$8,3 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$

Annexes

Tableau X : Résultat des dénombrements (UFC/g) des souches de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* (UFC/g) présentes dans les fromages conservés dans le lactosérum.

Temps (j)	0	7	14	21	28
Fromage					
<i>Lb. plantarum</i>	$1,2 \times 10^8$	$2,65 \times 10^8$	6×10^8	5×10^8	$3,5 \times 10^8$
<i>Lc. lactis</i>	$0,9 \times 10^8$	3×10^8	4×10^8	$3,80 \times 10^8$	3×10^8
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	$1,1 \times 10^8$	$9,9 \times 10^8$	12×10^8	$11,7 \times 10^8$	10×10^8

➤ **Résultats de l'acidité Dornic des fromages**

Tableau XI : Acidité Dornic (°D) des fromagesensemencés en culture pure ou mixte de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*.

Temps (j)	0	7	14	21	28
Fromage					
<i>Lb. plantarum</i>	24°D	28°D	38°D	45°D	49°D
<i>Lc. lactis</i>	21°D	27°D	31°D	42°D	46°D
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	23°D	32°D	35°D	40°D	53°D

Tableau XII : Acidité Dornic (°D) des fromagesensemencés en cultures pures ou mixtes de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* conservés dans le lactosérum.

Temps (j)	0	7	14	21	28
fromage					
<i>Lb. plantarum</i>	24 °D	34°D	39°D	44°D	55°D
<i>Lc. lactis</i>	21 °D	39°D	45°D	48°D	52°D
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	23 °D	30°D	49°D	55°D	65°D

Annexes

Tableau XIII : Acidité Dornic (°D) des fromagesensemencés en cultures mixte ou pures de *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* conservés dans l'huile d'olive.

Temps (j) fromage	0	7	14	21	28
<i>Lb. plantarum</i>	24 °D	29°D	33°D	48°D	52°D
<i>Lc. lactis</i>	21°D	28°D	37°D	50°D	55°D
<i>Lb. plantarum</i> + <i>Lc. lactis</i>	33 °D	32°D	40°D	54°D	62°D

Annexes

Annexe II : Milieux de cultures

(Guiraud et Galzy, 1998) ; (Guiraud, 2003)

➤ **EMB (gélose lactose)**

Composition	Quantités (g/l)
Peptone	10g
Lactose	10g
Phosphate bipotassique	2g
Eosine	0,4g
Bleu de méthylène	65mg
Agar	15g

pH 7,1 autoclavage pendant 20 minutes à 120°C

➤ **Chapman**

Composition	Quantités (g/l)
Extrait de viande	1g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	25mg
Agar	15g

pH 7,4 autoclavage pendant 15 minutes à 120°C.

Annexes

➤ Eau physiologique

Composition	Quantités (g/l)
Chlorure de sodium (Nacl)	9g
Eau distillée	1 L

pH 7 autoclavage : 20 minutes à 120° C

➤ MRS (bouillon)

Composition	Quantités (g/l)
Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Phosphate di-potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate triammonique	2g
Sulfate de magnésium	0,2mg
Sulfate de manganèse	5g

pH 6,5, autoclave 15 minutes à 120 °C

Ce milieu peut être préparé à double concentration en multipliant par deux les valeurs ci-dessus.

Annexes

➤ MRS (gélose)

Composition	Quantités (g/l)
Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Phosphate bipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0,2mg
Sulfate de manganèse	0,05g
Agar	15g

pH 6,5 autoclave 15 minutes à 120 °C.

➤ SFB: Selenite F Broth

Composition	Quantités (g/l)
KH ₂ PO ₄	7g
Lactose	4g
Na ₂ HPO ₄	3g
Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	4g
Pancreatic digest of casein	5g

pH 7.0 ± 0.2 à 25°C

Annexes

➤ **V.R.B.G (milieu) gélose glucosé biliée au cristal violet et au rouge neutre**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	7g
Extrait de levure	5g
Sels biliaire	1,5g
Glucose	10g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	30mg
Cristal violet	2mg
Agar	12g

pH 7,4 stériliser pendant 15 minutes d'ébullition.

➤ **Gélose SS (Salmonella- Shigella)**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone pancréatique de viande	5g
Extrait de viande	5g
Lactose	10g
Sels biliaires	8,5g
Citrate de sodium	10g
Thiosulfate de sodium	8,5g
Citrate ferrique ammoniacal	1g
Rouge neutre	25mg
Vert brillant	0,33mg
Agar agar bactériologique	15g

pH 7,3. Autoclavage à 115°C/20min

Annexes

➤ **Gioliti Contoni (bouillon)**

Composition	Quantité (g/l)
peptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	5g
Chlorure de lithium	5g
Mannitol	20g
Chlorure de sodium	5g
Glycine	1,2g
Pyruvate de sodium	3g

Annexes

Annexe III : Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Verrerie usuelles
- Autoclave (Omron, E5C4, H2C) ;
- Bain marie (GFL) ;
- Balance (Sartorius) ;
- Etuve à 30°C et à 37°C (Memmert) ;
- Four pasteur (Heraeus) ;
- Micropipette (Poly lab)
- Microscope optique (Zein) ;
- pH mètre (HANNA) ;
- Vortex électrique (VELP) ;
- Plaque agitatrice chauffante(VELP) ;
- Thermo hygromètre (HANNA) ;

Produits chimiques et réactifs, présure et tampons :

Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

- **Les colorants** : violets de Gentiane, fushine, bleu de méthylène, phénolphtaléine à 1%.
- **Les acides et bases** : la soude Dornic N/9, Hcl.
- **Alcool et autres** : éthanol, lugol, eau oxygénée.

La réalisation de la présente étude a nécessité la présure et les tampons suivants :

- **Tampons**
 - Tampon à pH =4
 - Tampon à pH =7
 - Présure : (Caglifici cleria)

Résumé

L'objectif de cette étude a été le suivi de la cinétique de la croissance des ferments lactiques et l'évaluation des caractéristiques physicochimiques des fromages frais de chèvre conservés ou non dans l'huile d'olive ou dans le lactosérum. Pour cela trois types de fromages au lait de chèvre stérileensemencés par *Lc. lactis* et/ou *Lb. plantarum* en culture pure ou mixte, ont été mis au point au laboratoire, puis chacun est découpés en trois portions, l'une sera conservée dans l'huile d'olive, l'autre dans le lactosérum, la dernière est considérée comme témoin.

Des analyses physicochimiques et microbiologiques ont été réalisées au cours de 28 jours de conservation. Les résultats d'analyses physicochimiques révèlent que les fromages conservés dans le lactosérum montrent les valeurs les plus élevées en acidité et en humidité surtout ceuxensemencés en culture mixte. Quant au suivi de la croissance des ferments lactiques, le taux de cellules viables le plus élevé est observé dans les fromages conservés dans l'huile d'olive surtout ceuxensemencés en culture mixte, on suppose qu'il ya une bonne association entre *Lc. lactis* et *Lb. Plantarum*.

L'application de l'huile d'olive et du lactosérum dans la conservation des fromages frais fabriqués a révélée être un bon moyen d'augmenter leurs DLC.

Mots clés : *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, fromage frais de chèvre, l'huile d'olive, lactosérum, ferments lactiques.

Abstract

The aim of this study was following the kinetic of growth of lactic ferments and evaluation of physicochemical characteristics of fresh goat's cheese preserved or not in olive oil and whey. For this, three cheeses from sterile goat's milk inoculated with *Lc. lactis* and *Lb. plantarum* in pure or mixed culture were developed in laboratory, then they are divided into three portions, one of them is preserved in olive oil, one other in whey, the last portion is considered as witness.

Physicochemical and microbiological analyses were carried out for 28 days on conservation. The physicochemical analysis results reveals that cheeses preserved in the whey shows the highest values in acidity and moisture, especially those planted in mixed culture. In tracking the growth of lactic ferments rate the highest viable cells is observed in cheeses preserved in olive oil, especially those planted in mixed culture, we supposed there is a good association between *Lc. lactis* and *Lb. plantarum*.

The application of olive oil and whey in the conservation of fresh cheeses manufactured has revealed to be a good way increase the shelf life.

Key words: *Lc. Lactis*, *Lb. plantarum*, fresh goat's cheese, olive oil, whey, lactic ferment.

