

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'Obtention du Diplôme de Master en

Microbiologie Alimentaire Santé

Thème

Mise au point d'un fromage de chèvre frais conservé dans de l'huile d'olive

Réalisé par :

M^r BOUFEKHED Takfarinas
M^r LACHI Billal

Membres de jury. Grade

Présidente : M^{me} BENACHOUR K. MAA

Promotrice : M^{elle} BENDALI F. MCA

Examinatrice : M^{me} FARADJI S. MCB

Examinatrice : M^{elle} TETILI F. MAA

2013-2014

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes parents qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études. Que Dieu vous garde toujours près de moi.

Mes grands parents, Que Dieu vous garde toujours en bonne santé.

Mes oncles **Nourdine** et **Nacerdine**, leurs femmes et tous mes cousins et cousines.

Je ne peux oublier mon cher oncle **Boualem**, sa femme **Mimi** et ses deux fils **Maçyl** et **Fares**.

Mes tantes **Fatima**, **Drifa** et **Hayette**

Mon frère **Samir**, ma belle sœur **Souad**, mes adorables nièce et neveu **Manel** et **Fouad**.

Mes sœurs **Souhila**, **Daouia**, mes neveux **Larbi**, **Lamine**, **Yacine**, **Ali**

et ma nièce **Maissa**.

Ma précieuse sœurlette **Siham**.

Mon Binôme et ami **Taktak** ainsi sa famille.

Spécialement à toute la promotion MAS 2014, en particulier **Salima** et **Sassi**.

Merci beaucoup.

Tout mes amis : **Salim**, **Tarik**, **Abdesalem**, **Abderzak** , **Sid Ali**, **Lyes**.

BILLAL

Dédicaces

Je dédie ce travail à la mémoire de mon cher Grand père **Houcine** qui aurait été fier de ma réussite. Que Dieu vous accueille en son paradis inchaAllah

A ma grande mère que j'aime beaucoup, je t'aime Nana

A mes parents qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études. Merci beaucoup **Papa** et **Maman** je vous aime beaucoup

A mes deux chers oncles **dada hamid** et **dada Mustapha** ainsi qu'à mes deux adorables
maman

Sousoutte et Daouia

La plus Grande dédicace à une personne chère à mon cœur ma fiancée « **Sabiha** » qui m'a beaucoup soutenu et ça depuis toujours, Merci et mille Merci.

Je le dédie à vous mes précieux frères : **Izem, Idir, Massi et Nabil**. Que Dieu vous garde toujours à mes côtés et qu'il nous garde toujours unis

Chères sœurs : **Chabha, Diana, Lamia, Kenza, Ninou et Rosa**

A mes belles sœurs : **Soffy et Wassila**

A vous mes adorables neveux et nièces : **Assinet, Céllina, Fatima, Massyl, Nilia et Pipou**

A Mon camarade et ami **Billal** ainsi qu'à sa famille

Je ne peux oublier ma belle famille en particulier mes beaux parents ; **Azedine et Khoukha** ainsi qu'à **Joe et Kahina**. Que Dieu vous garde toujours à mes côtés et qu'il nous garde toujours unis.

Spécialement à toute la promotion MAS 2014, en particulier **Salima** et **Sassi**, Merci beaucoup

A tout mes amis : **Abdesalem, Tarik, Salim, Boualem, Said, Samir, Lyes, Nadjib, Karim** bien sur sans oublier le maestro d'équipe **Billal** que j'adore

TAKFARINAS

Remerciements

Dieu merci de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et de nous avoir guidé vers le droit chemin tout au long de nos études et pour bien réaliser ce travail.

Nous exprimons nos remerciements très particuliers et notre gratitude à notre promotrice **M^{lle} BENDALI F.**, Maitre de Conférences A, à l'Université A. Mira de Bejaïa, pour nous avoir proposé ce thème et guidé dans la réalisation de ce travail. Nous vous souhaitons que du bonheur dans votre vie.

Nous tenons également à présenter nos vifs remerciements à **M^{me} BENACHOUR K.** qui nous a fait un immense honneur de présider le jury d'examen et d'évaluer ce travail.

Nous remercions vivement **M^{me} FARADJI S. et M^{elle} TETILI F.** qui ont accepté d'évaluer notre étude en faisant part de leurs remarques et suggestions.

Un profond remerciement à **M^{elle} AIT CHAIT Yasmina**, étudiante en deuxième année de la première Post-Graduation au laboratoire de Microbiologie Appliquée, pour son aide et ses précieux conseils durant la réalisation de la partie pratique, bon courage à toi aussi pour ta soutenance de Magister (Juin 2014).

Nous remercions aussi toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie et tout particulièrement nos camarades pour leur soutien et leur esprit d'équipe.

Merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ainsi que ceux qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment; qu'ils trouvent ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Enfin, nous remercions chaleureusement nos familles et nos proches, particulièrement nos parents pour leur soutien moral et matériel qu'ils nous ont apporté tout au long de nos études.

Liste des abréviations

C.O.I : Conseil Oléicole International

°D: Degré Dornic.

DLC: Date Limite de Consommation.

EMB: Eosine Methylene Blue

FTAM: Flore Totale Aérobie Mésophile.

F.A.O: Food and Agriculture Organization.

GN: Gélose Nutritive.

G.R.A.S: Generally Recognized As Safe.

J.O.R.A: Journal Officiel de la République Algérienne.

Lc: *Lactococcus*.

Lb: *Lactobacillus*.

MRS: de Man Rogosa and Sharpe.

Meq : milli-équivalent.

N: Normalité.

O.N.S: Organisation Nationale de la Santé.

pH: Potentiel d'Hydrogène.

S-S : Salmonelle-Shigella

supsp: subspecies.

ssp: sous espèce.

UFC: Unité Formant Colonie.

UHT: Ultra Haute Température.

VF: Viande -Foie.

LISTE DES FIGURES

Figure 01	Répartition des fractions azotées du lait de chèvre	6
Figure 02	Standardisation des <i>inocula</i> des trois souches lactiques dans le lait UHT	13
Figure 03	Croissance et pouvoir acidifiant des souches lactiques dans du lait de chèvre pasteurisé	16
Figure 04	Protocole de fabrication du fromage de chèvre frais	18
Figure 05	Présentation des boxes d'analyse sensorielle	21
Figure 06	Présentation des échantillons de fromages pour dégustation	21
Figure 07	Schéma comparatif de la qualité microbiologique du lait de chèvre cru et pasteurisé.....	26
Figure 08	Aspect du coagulum obtenu par coagulation mixte après 18 h à 30°C	29
Figure 09	Aspect du fromage obtenu après 24 h de moulage et d'égouttage	29
Figure 10	Evolution de la qualité microbiologique du fromage frais au cours de la conservation dans l'huile d'olive	30
Figure 11	Evaluation des notes générales données aux trois échantillons de fromage frais.....	32
Figure 12	Résultats de l'analyse sensorielle (aspect textural et flaveur) des trois fromages frais	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Evolution de quelques productions animales en Algérie	3
Tableau II	Composition moyenne comparée des laits de vache et de chèvre	4
Tableau III	Tests de vérification de la pureté des souches bactériennes	12
Tableau IV	Analyses microbiologiques du lait cru de chèvre	14
Tableau V	Analyses microbiologiques du fromage frais	19
Tableau VI	Caractéristiques des souches lactiques.....	22
Tableau VII	Acidification du lait UHT à 30° C par les trois souches lactiques	23
Tableau VIII	Qualité microbiologique du lait cru de chèvre	24
Tableau IX	Qualité microbiologique du lait de chèvre pasteurisé	25
Tableau X	Composition chimique du lait de chèvre pasteurisé comparés aux données bibliographiques	27
Tableau XI	Résultats de la croissance des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé	27
Tableau XII	Pouvoir acidifiant des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé ...	28
Tableau XIII	Résultats de l'analyse physicochimique de l'huile d'olive	31

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Synthèse bibliographique

I. Lait de chèvre

I. 1. Production en Algérie.....	03
I. 2. Définition du lait.....	04
I. 3. Caractéristiques	04
I. 4. Composition chimique	04
I. 4. 1. Lactose	04
I. 4. 2. Matière grasse	05
I. 4. 3. Matière protéique	05
I. 4. 4. Minéraux et Vitamines.....	06
I. 5. Microflore du lait de chèvre	07

II. Flore lactique

II. 1. Caractères généraux	07
II. 2. Habitat	07
II. 3. Principaux genres.....	08
II. 3. 1. <i>Lactococcus</i>	08
II. 3. 2. <i>Lactobacillus</i>	08

III. Fromage de chèvre

III. 1. Définition du fromage.....	09
III. 2. Différents types de fromage.....	09
III. 3. Procédé de fabrication de fromages frais.....	10
III. 3. 1. Coagulation	10
III. 3. 2. Egouttage.....	10

IV. Huile d'olive

IV. 1. Production.....	10
IV. 2. Composition	11
IV. 3. Activité antimicrobienne de l'huile d'olive.....	11

I. Matériel et méthodes

I. 1. Origine des souches utilisées.....	12
I. 2. Revivification et vérification de la pureté des souches.....	12
I. 2. 1. Test de production de gaz.....	12
I. 2. 2. Croissance à 45°C.....	12
I. 3. Standardisation des <i>inocula</i> des souches dans du lait UHT.....	13
I. 4. Pré-culture dans du lait UHT.....	13
I. 4. 1. Croissance dans le lait UHT.....	14
I. 4. 2. Etude du pouvoir acidifiant dans du lait UHT	14
I. 5. Culture dans du lait de chèvre	14
I. 5. 1. Mesure du pH.....	14
I. 5. 2. Analyse microbiologique.....	14
I. 5. 3. Pasteurisation du lait cru de chèvre.....	15
I. 5. 4. Analyses microbiologiques du lait de chèvre pasteurisé.....	15
I. 5. 5. Analyse physicochimique du lait de chèvre pasteurisé.....	15
I.5.6. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé.....	16
I. 6. Fabrication fromagère	17
I. 6. 1. Protocole de fabrication.....	17
I. 6. 2. Analyse microbiologique du fromage frais	17
I. 6. 3. Prélèvement des fromages immergés dans l'huile d'olive	17
I. 7. Analyse de l'huile d'olive	19
I.7.1. Origine.....	19
I. 7. 2. Analyse physicochimique.....	19
I. 8. Analyse sensorielle.....	20

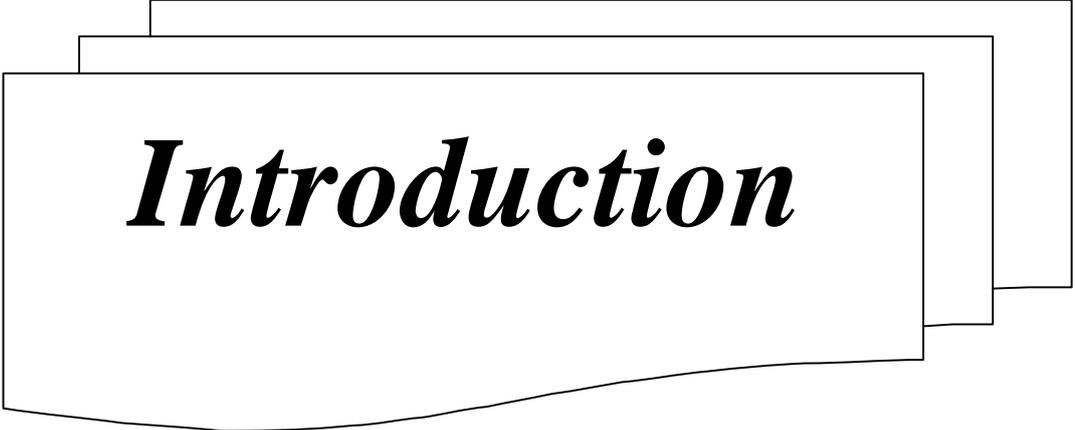
II. Résultats et discussion

II.1. Vérification de la pureté des souches.....	22
II.3. Standardisation des <i>inocula</i> dans du lait UHT.....	22
II.2. Croissance et pouvoir acidifiant des trois souches lactiques dans le lait UHT.....	23
II.4. Qualité microbiologique du lait cru de chèvre.....	23
II.4.1. Mesure du pH.....	23
II.4.2. Analyse microbiologique.....	23
II.5. Analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé.....	25

II.6. Qualité physicochimique du lait de chèvre pasteurisé.....	26
II.6.1. Acidité et pH.....	26
II.6.1.Composition chimique.....	26
II.7. Croissance des souches dans le lait de chèvre pasteurisé.....	27
II.8. Pouvoir acidifiant des trois souches dans le lait de chèvre pasteurisé.....	27
II.9. Fabrication de fromages frais.....	28
II.9.1.Maturation.....	28
II.9.2.Coagulation.....	28
II.9.3. Egouttage et moulage.....	29
II.10. Qualité microbiologique du fromage de chèvre frais	29
II.11. Analyse physicochimique de l'huile d'olive.....	31
II.12. Analyse sensorielle du fromage frais conservé dans l'huile d'olive.....	31
Conclusion	34

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

En Algérie, la production de lait de chèvre a longtemps été marginalisée, développée à l'échelle familiale dans les régions montagneuses, le lait de chèvre est consommé à l'état cru ou fermenté. Dans le Monde, une plus grande importance est donnée à l'élevage caprin (**Manallah et Dekhili, 2011**).

Le lait de chèvre de par son goût âcre n'est pas toujours apprécié par les consommateurs, à l'inverse, sa transformation en fromages le rend plus digeste et très apprécié tant du point de vue organoleptique que nutritionnel. Les bactéries lactiques sont des microorganismes dotés de propriétés technologiques et antimicrobiennes qui expliquent leur utilisation dans la fabrication et la conservation de nombreux produits alimentaires (**Alomar, 2007 ; Gerez et al., 2009**). Parmi ces bactéries, l'espèce *Lactococcus lactis* est largement utilisée en biotechnologie fromagère. Elle est reconnue comme étant inoffensive (caractère GRAS, *generally recognized as safe*) présentant une innocuité totale pour la santé des consommateurs (**El-Shafie et al., 2008 ; Dortu et Thonart, 2009**).

L'huile d'olive a toujours été utilisée pour se nourrir, s'éclairer et se soigner avec (**Karleskind et al., 1992**). Elle est aussi utilisée pour la conservation de diverses denrées alimentaires depuis que des études récentes ont montré que l'huile d'olive est la seule huile végétale comestible douée d'une activité antimicrobienne, cette capacité est due à sa richesse en acides gras et en composés phénoliques.

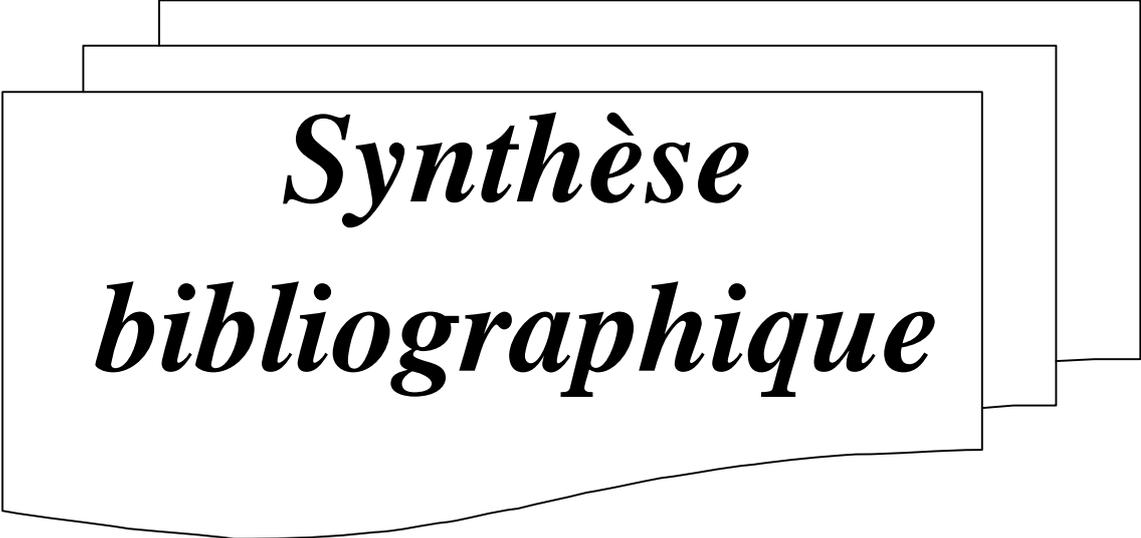
Les procédés de fabrication des fromages reposent sur l'emploi de la présure et/ou des bactéries lactiques comme agents coagulants. La première partie de cette étude consiste en la mise au point d'un fromage frais de chèvre, en utilisant une coagulation par l'action combinée de la présure et des ferments lactiques (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* et *Lactobacillus plantarum*).

Vu que les fromages frais ont une date limite de consommation (DLC) de 24 jours maximum (**Mahaut et al., 2000 ; Luquet et Corrieu, 2005**) et doivent être conservés au frais (6°C), nous allons essayer dans la seconde partie de cette étude de vérifier la possibilité de conserver le fromage à température ambiante en augmentant la DLC à 30 jours et ce en utilisant une macération dans de l'huile d'olive.

En fin une analyse sensorielle est envisagée pour évaluer l'appréciation de ce fromage par un ensemble de dégustateurs.

Le mémoire est présenté en deux parties: une synthèse bibliographique ciblée sur le lait et le fromage de chèvre ainsi que sur les bactéries lactiques et l'huile d'olive et une partie pratique relatant la méthodologie adoptée et les résultats obtenus.

Enfin, les principales conclusions auxquelles les résultats nous ont amené sont rapportées et des perspectives sont proposées.



*Synthèse
bibliographique*

I. Lait de chèvre

I. 1. Production en Algérie

Le cheptel caprin algérien est peu connu, il est représenté par la chèvre arabe, la plus dominante en terme d'effectif et qui comprend deux types (race Makatia dans les hauts plateaux et la race Arabia localisée dans la région de Laghouat), la naine de Kabylie et la chèvre du Myzab (**Commission nationale AnGR, 2003**).

L'Algérie a été classée en 15^{ème} position dans la production mondiale de lait de chèvre avec un chiffre de 160 millions de litres pour l'année 2005 (**F.A.O., 2006**). Cependant, l'Algérie ne couvre pas les besoins croissants de sa population et depuis une dizaine d'années cette situation a poussé l'état à importer des chèvres performantes: la Saanen et l'Alpine (**Manallah et Dekhili, 2011**).

La production animale est en nette progression et le cheptel caprin est classé en deuxième position après l'ovin puis vient le bovin, l'équin et le camelin. L'effectif caprin, est considérablement accru depuis 2002 et il a atteint 3,8 millions de têtes en 2010 (tableau I)

Tableau I. Evolution de quelques productions animales en Algérie (**Carnicella et al., 2008 ; Goetsch et al., 2011**).

Cheptel	2002	2004	2005	2006	2010
Bovin	1 551 562	1 613 700	1 590 249	1 607 890	1 650 000
Ovin	17 587 742	18 293 300	18 825 141	19 615 730	20 000 000
Caprin	3 280 540	3 450 580	3 626 268	3 754 590	3 800 000
Camelin	249 690	273 140	279 004	286 670	290 000
Equin	261 720	245 780	/	/	/
Référence	O.N.S. (2005)	O.N.S. (2005)	D.S.A.S.I. (2006)	D.S.A.S.I. (2006)	F.A.O. (2012)

/ : Absence de données

I. 2. Définition du lait

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière, bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. Le lait de chèvre ne contient pas de β -carotène ce qui lui confère sa couleur blanchâtre mâte avec une odeur assez neutre dite caprine et une saveur douce et agréable (Melo et al., 2013).

I. 3. Caractéristiques

Le lait de chèvre a une composition et des caractères physicochimiques particuliers qui le différencient nettement du lait de vache. La production, la qualité et la composition du lait de chèvre varient en fonction de nombreux facteurs : le système de production, le stade de lactation, la saison, la longueur de la lactation, l'état physiologique, la santé, la génétique, l'environnement et les pratiques nutritionnelle et alimentaire (Carnicella et al., 2008; Goetsch et al., 2011).

I. 4. Composition chimique

Le tableau II illustre la composition comparée des laits de vache et de chèvre.

Tableau II. Composition moyenne comparée des laits de vache et de chèvre (Allais, 1984 ; Amiot et Lapointe-Vignola, 2002).

Composants chimiques	Lait de vache (g/L)	Lait de chèvre (g/L)
Eau	900-910	900
Matière protéique	30-35	35-40
Matière grasse	30-35	45
Lactose	40-50	40-45
Extrait sec total	125-135	140
Matière minérale	7,5-8,2	8-10
Caséines	27-30	30-35
Protéines solubles	4-5	6-8

I. 4. 1. Lactose

C'est le sucre spécifique du lait, Il est présent à environ 48 g/l de lait. Son principal rôle est de servir de substrat aux bactéries lactiques dans la fabrication des fromages utilisant un caillage lactique et diminuer le pH du lait. L'acidité ainsi obtenue est responsable de la déminéralisation des micelles de caséines, la formation du caillé, l'inhibition de la croissance de certains micro-organismes indésirables et l'augmentation de la synérèse du caillé (St Gelais et Tirard-Collet, 2002). La quantité d'acide lactique produite dépend d'une part du type de bactérie utilisé et d'autre part de la quantité de lactose disponible (St Gelais et Tirard-Collet, 2002).

I. 4. 2. Matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de petits globules suspendus dans l'eau. Chaque globule est entouré par une couche de phospholipides qui empêche leur agrégation (**Raynal-Ljutovac et al., 2008**).

De point de vue quantitatif et qualitatif, la matière grasse de lait de chèvre est l'élément le plus variable, dépendant du stade de lactation, de la saison et de l'alimentation. Elle se caractérise par une proportion élevée en acides gras à courtes et moyennes chaînes, dont l'acide palmitique est le plus abondant, suivi de l'acide oléique, stéarique, caprique, laurique et myristique, représentant 83,5% des acides gras totaux (**Raynal-Ljutovac et al., 2008**).

La matière grasse contribue au rendement, à la fermeté, à la couleur, au développement de l'arôme et de la saveur. Elle sert de véhicule de transport des composés aromatiques liposolubles et des vitamines A, D, E et K (**Ribeiro et Ribeiro, 2010**).

I. 4. 3. Matière protéique

Le lait de chèvre contient en moyenne 30,8 g/kg de protéines totales alors que le lait de vache en contient 32 g/kg, ce paramètre est appelé taux protéique ou TP. Il est intéressant de le quantifier car il est le reflet de la concentration en caséines qui intervient dans la coagulation du lait. En effet, les caséines forment de petits coagglomérats avec le calcium et le phosphore, appelés micelles, qui vont ensuite se lier les uns aux autres et ainsi former le caillé du lait lors de la fabrication du fromage. On comprend aisément que le but est d'obtenir un TP maximum, pour un rendement fromager maximum (**Grappin et al., 1981**).

On trouve 68 à 70% de caséines au sein des protéines totales dans le lait de chèvre. Mais toutes les caséines ne forment pas de micelles, une partie est éliminée dans la phase aqueuse du lait, c'est pourquoi le pourcentage de caséines dans le lait est légèrement supérieur au pourcentage de protéines coagulables à proprement dit. Ainsi, par rapport aux matières azotées totales (MAT) dans le lait de chèvre, on a 75,6% de caséines dont 70,9% de protéines coagulables, comme nous le montre la figure 1 (**Grappin et al., 1981**).

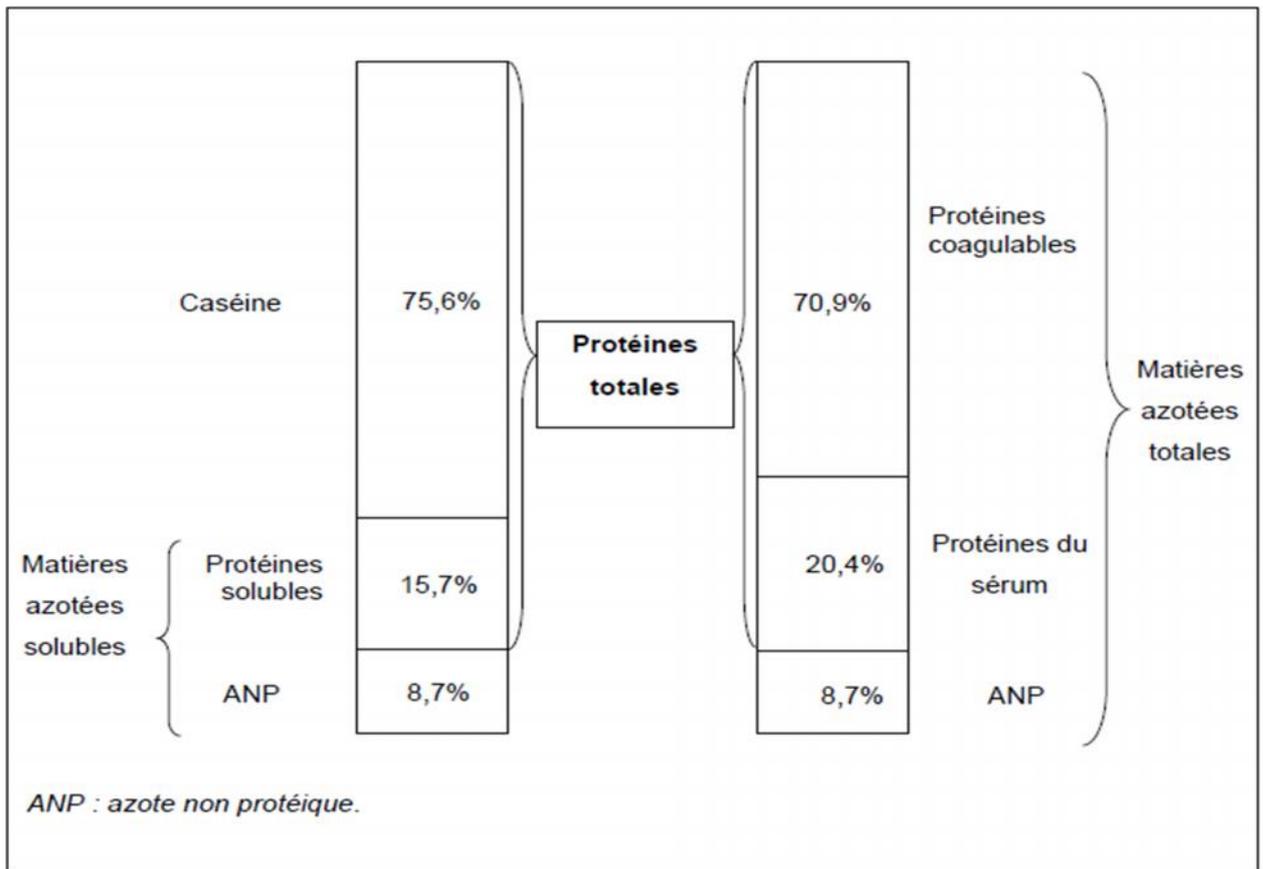


Figure 1. Répartition des fractions azotées du lait de chèvre (Grappin et al, 1981).

I. 4. 4. Minéraux et Vitamines

Une des raisons de l'importance du lait dans l'alimentation est son contenu minéral. Les quantités de Ca, P, Mg, Fe et Cu dans les cendres de lait de chèvre sont significativement plus importantes que celles du lait de vache (Ceballos et al., 2009).

Le phosphore (P), sous forme de phosphates, et le calcium (Ca) influencent directement la fabrication du fromage. En effet, ils sont présents dans le lait sous deux formes principales : libres, dans la phase aqueuse, et liés aux caséines dans la phase micellaire. Il existe un état d'équilibre entre ces deux formes qui peut être modifié par des changements physico-chimiques du milieu : variations de température du lait, de son pH ou encore l'ajout de Ca et/ou de P (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

La quantité de minéraux dans les fromages dépend de leurs solubilités et de la technologie de fabrication. Ainsi la quantité de Ca et P dans les fromages frais semble être la même, cependant elle est plus élevée dans les fromages de type présure (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

Pour ce qui est des vitamines, le lait de chèvre est particulièrement plus pauvre en acide folique et vitamine E et le β -carotène est entièrement transformé en rétinol (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

I. 5. Microflore du lait de chèvre

En général, le lait contient trois catégories de micro-organismes: bactéries, levures et moisissures. Certains sont utiles et même nécessaires à la fabrication fromagère, d'autres sont nuisibles voire dangereux (**Corcy, 1991**).

Les micro-organismes du lait se répartissent, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminante. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes: la flore d'altération et la flore pathogène (**Lamontagne et al., 2002**).

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans les équilibres microbiens du lait. Ainsi, leur développement excessif ou insuffisant peut induire des défauts de texture et de goût des fromages. Elles constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments, du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des micro-organismes nuisibles (**Caridi et al., 2003**).

II. Flore lactique

Plusieurs micro-organismes; bactéries, levures et moisissures sont présents dans le lait de chèvre formant ainsi un écosystème microbien complexe.

II. 1. Caractères généraux

Le groupe de bactéries lactiques comprend des bactéries phylogénétiquement diversifiées. Elles sont Gram positives, immobiles, catalase négative, non sporulantes, de forme coccoïde ou bacillaire, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des glucides. Lorsque l'acide lactique est le seul produit terminal, il s'agit des bactéries lactiques homofermentaires. Parfois, en plus de l'acide lactique, d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits : c'est le cas des hétérofermentaires (**Dellaglio et al., 1994 ; Badis et al., 2005**).

Leur intérêt consiste en la production de métabolites issus de la fermentation des sucres, en agissant comme agents de saveur en libérant le diacétyl, agents texturant ou conservateurs en abaissant le pH (**Flambard et al., 1997; Wessels et al., 2004; Izquierdo, 2009**).

II. 2. Habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquistes très répandues dans la nature. Elles se retrouvent dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales ainsi que dans le tractus digestif, ce qui explique leurs températures de croissance hétérogènes. Ces bactéries présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications à l'échelle industrielle (**Makhloufi, 2011**).

II. 3. Principaux genres

Les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie fromagère regroupent plusieurs genres dont les principaux sont *Lactococcus* et *Lactobacillus*.

II. 3. 1. *Lactococcus*

Lactococcus est représenté par six espèces (*Lc. garviae*, *Lc. lactis*, *Lc. piscium*, *Lc. plantarum*, *Lc. raffinolacti* et *Lc. xylosus*), trois sous-espèces (*Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae*) et un biovar (*Lc. lacti* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*) (Raynaud, 2006).

Ces espèces présentent un métabolisme homolactique et sont mésophiles puisque leur température optimale de croissance est aux alentours de 30°C (Casalta et Montel, 2008).

Les souches de *Lactococcus lactis* sont fréquemment utilisées dans la fabrication de produits laitiers et ont pour intérêt une acidification correcte et une génération de saveurs et d'arômes. En fermentant le lait, elles donnent ainsi au produit fini des caractéristiques organoleptiques particulières et permettent une conservation plus longue (Drouault *et al.*, 1999).

II. 3. 2. *Lactobacillus*

Les bactéries appartenant à ce genre sont, des bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, se développant à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth, 1990).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Groupe I « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans les aliments (lait, yaourt et fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* et *Lb. acidophilus*.

Groupe II « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakei* et *Lb. plantarum*.

Groupe III « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte entre autres les espèces : *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

Les lactobacilles sont des agents importants de la flaveur des fromages pendant l'affinage (**Beresford et al., 2001**). Leur rôle est limité à des propriétés comme la protéolyse et la lipolyse (**Chamba et Irlinger, 2004**) et plus récemment à un potentiel probiotique (**Bernardeau et al., 2008**)

Dans cette étude l'espèce *Lactobacillus plantarum* est utilisée comme culture supplémentaire (non-ferment). Cette espèce existe naturellement dans la salive humaine et au niveau du tube digestif. Elle est mésophile, à croissance positive à 15°C mais pas à 45°C et hétérofermentaire facultative, fermentant les pentoses et/ou le gluconate (**Sirulin et al., 2010**).

III. Fromage de chèvre

Le fromage de chèvre est le plus ancien de tous les fromages et il existe sous de nombreuses sortes.

III. 1. Définition du fromage

Le fromage est obtenu par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. On peut aussi faire appel à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles similaires à celles du produit défini (**St-Gelais et al., 2002**).

III. 2. Différents types de fromage

Selon le mode d'élaboration, il existe plusieurs types de fromage (**G.E.M.R.C.N., 2009**):

- Les fromages frais.
- Les fromages fondus.
- Les pâtes molles à croûte fleurie.
- Les pâtes molles à croûte lavée.
- Les pâtes pressées cuites.
- Les pâtes pressées non cuites.
- Les pâtes persillées

Fromage frais

Les fromages frais sont traditionnellement à égouttage lent, fabriqués à partir de lait ou de crème propre à la consommation humaine. Ils résultent de la coagulation à prédominance lactique du lait, combinant souvent l'action des ferments lactiques à celle de la présure et ils ne sont pas affinés. Tous les fromages frais ont une date limite de consommation (DLC) de 24 jours (**Mahaut et al., 2000 ; Luquet et Corrieu, 2005**).

III. 3. Procédé de fabrication de fromages frais

La fabrication d'un fromage à pâte fraîche comprend principalement deux étapes successives : La coagulation et l'égouttage (**Ramet et Scher, 1997**).

III. 3. 1. Coagulation

La coagulation du lait peut se faire selon deux voies : acide ou mixte. La coagulation par voie acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique par acidification bactérienne (ferments lactiques) qui aboutit à la déstructuration des micelles de caséines avec une réorganisation de ces protéines en gel. La coagulation enzymatique présente la même finalité puisqu'elle consiste en la transformation du lait en gel par l'action d'enzymes protéolytiques qui vont préférentiellement hydrolyser les caséines, désorganisant ainsi les micelles et permettant ensuite leur réticulation. La coagulation mixte résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. Selon la méthode utilisée, le gel présente des propriétés différentes, par exemple lorsqu'il est obtenu par coagulation acide il est très friable et peu élastique, il résistera donc moins bien aux traitements mécaniques que le gel issu d'une coagulation enzymatique. Les coagulums mixtes présentent des caractères intermédiaires entre les caillés purement présure ou acide (**Raynaud et al., 2003 ; Jeantet et al., 2006**).

III. 3. 2. Egouttage

L'égouttage se traduit par une élimination importante du lactosérum et s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel. Il est généralement admis que le phénomène dans sa globalité résulte à la fois d'un processus actif appelé synérèse.

L'égouttage spontané d'un gel lactique est lent et limité, il conduit à un caillé hétérogène. Cependant, celui d'un gel présure est un caillé compact et solide (**St Gelait et al., 2002**).

Pour un fromage de bonne présentation (faces régulières, sans trous), un retournement 7 à 8 heures après moulage est pratiqué, favorisant ainsi l'égouttage dans le moule (**Gobin, 1991**).

IV. Huile d'olive

L'huile d'olive, est obtenue par extraction mécanique à partir du fruit de l'arbre *Olea europaea* L. appartenant à la famille de l'olivier qui comprend 400 espèces, et se développe dans les régions tempérées et les climats tropicaux (**Fristone, 2005**).

IV. 1. Production

En Algérie, l'olivier (*Olea europaea* L.) occupe 2,3% de la superficie totale du pays ; avec plus de 32 millions d'oliviers, couvrant approximativement quelques 300.000 hectares. Cependant, l'Algérie ne produit qu'un tiers de ses capacités.

Les pays du bassin méditerranéen concentrent 98% des plantations d'oliviers et fournissent 90% de la production mondiale d'huile d'olive.

En plus des caractéristiques relatives à l'aspect et à l'arôme, c'est le taux d'acidité qui est le plus pris en compte pour apprécier la qualité de l'huile d'olive. Un taux inférieur à 1% serait l'idéal, mais rares sont les huiles qui répondent à ce critère de sélection car certains paramètres liés à la cueillette, à l'entreposage des olives et au conditionnement de l'huile influent sur sa qualité (**Louadj et Giuffré, 2010**).

IV. 2. Composition

Selon la norme internationale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive, les constituants chimiques des huiles d'olive peuvent être subdivisés en deux catégories : la fraction saponifiable (triglycérides, phospholipides, etc.) et la fraction insaponifiable (stérols, alcools tri-terpénique, etc.) (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

IV. 3. Activité antimicrobienne de l'huile d'olive

Plusieurs études attestent du rôle incontestable des composés phénoliques de l'huile d'olive dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes. Ils sont considérés comme étant des agents antibactériens promoteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro-intestinaux ou du système respiratoire (**Romero et al., 2007**).



***Matériel et
méthodes***

I. 1. Origine des souches utilisées

Dans cette étude, les souches utilisées sont des souches appartenant à la collection du laboratoire de Microbiologie Appliquée (équipe de Microbiologie de lait et probiotiques). Il s'agit de deux souches de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (S1 et S2) isolées à partir de lait de vache et de lait de chèvre respectivement et une souche de *Lactobacillus plantarum* (S3) isolée à partir des olives vertes de table.

I. 2. Revivification et vérification de la pureté des souches

A partir des bouillons de culture conservés à 4°C (MRS), 5 ml de bouillon MRS (Pronadisa) stérile sont inoculés avec 100 µl de chaque souche puis incubés à 30°C pendant 18 h. Des isolements sont par la suite effectués sur gélose MRS et après 48 h d'incubation à 30°C, la pureté des souches est vérifiée en effectuant les tests résumés dans le tableau III. Deux tests sont inclus pour vérifier le caractère mésophile et homo-fermentaire des souches (test de croissance à 45°C et de production de gaz).

Tableau III : Tests de vérification de la pureté des souches bactériennes (Guiraud, 2003).

Test	Mode opératoire	Observation dans le cas où la réaction est positive
Gram	Coloration de Gram	Cocci ou bâtonnets colorés en violet
Catalase	Une colonie +une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes (Thera Lab, Portugal)	Effervescence

I. 2. 1. Test de production de gaz

Des colonies caractéristiques sontensemencées dans du bouillon MRS muni d'une cloche de Durham puis incubés à 30°C/24-48 h. Le caractère hétéro-fermentaire est indiqué par la présence de gaz dans la cloche (Guiraud, 2003).

I. 2. 2. Croissance à 45°C

1 ml d'une culture de la souche lactique estensemencé en masse dans une gélose MRS puis incubé à 45°C/24-48 h. L'absence de colonies indique le caractère mésophile de la souche (Guiraud, 2003).

I. 3. Standardisation des *inocula* des souches dans du lait UHT

Cette étape a pour but de poursuivre l'étude en travaillant avec le même nombre de cellules par millilitre de lait (figure 2). Du lait UHT partiellement écrémé (Candia, Commerce) est utilisé.

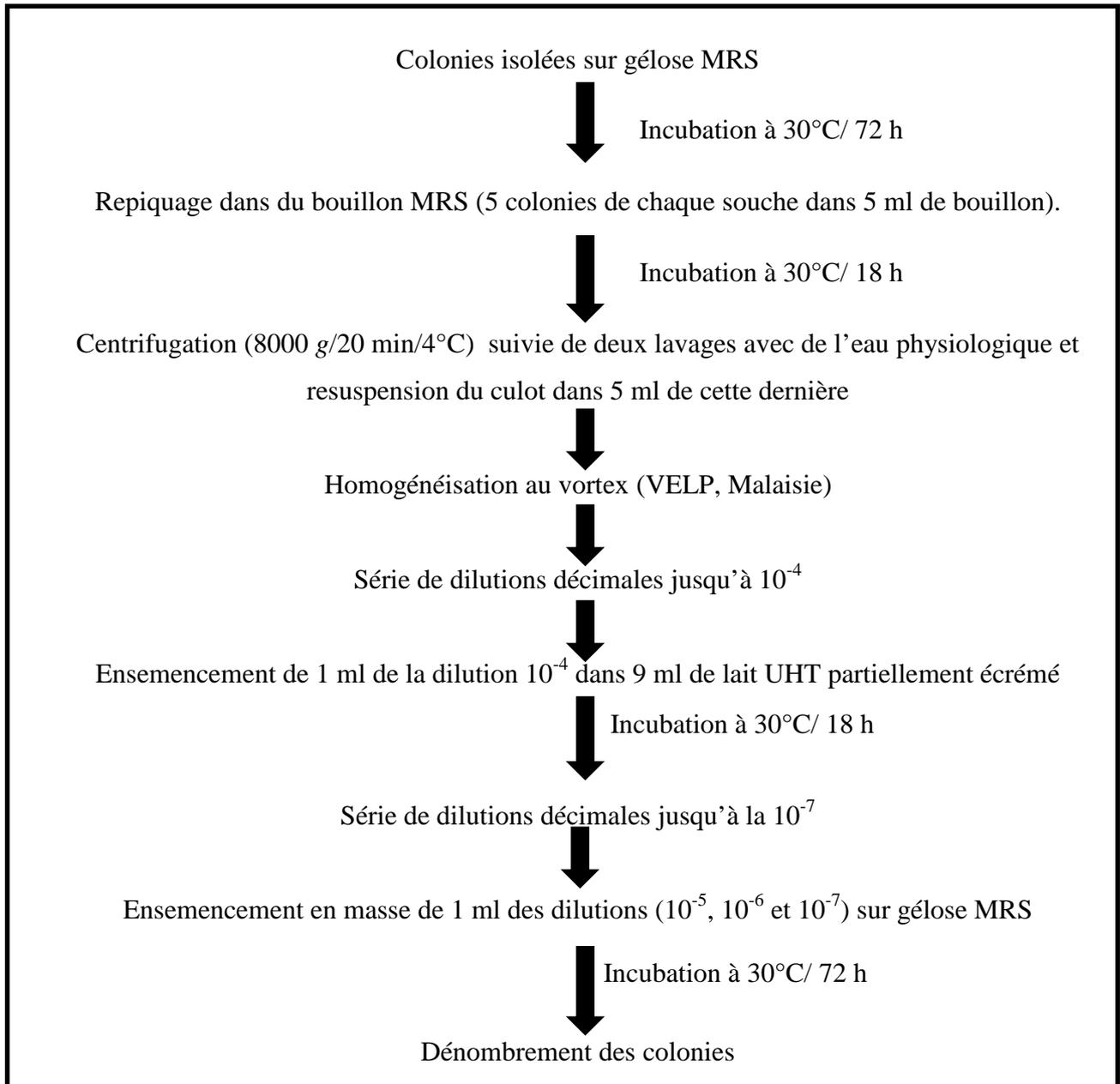


Figure 2. Standardisation des *inocula* des trois souches lactiques dans le lait UHT.

I. 4. Pré-culture dans du lait UHT

Cette étape permettra aux souches de s'adapter au milieu lait vu leur destination à produire un fromage frais de chèvre.

I. 4. 1. Croissance dans du lait UHT

9 ml de lait UHT, partiellement écrémé (Candia, commerce), sont inoculés avec cinq colonies, prélevées à partir des boîtes qui ont servi à l'isolement des différentes souches, puis incubés à 30°C pendant 18 h.

I. 4. 2. Etude du pouvoir acidifiant dans du lait UHT

Une mesure de pH des cultures réalisées dans du lait UHT partiellement écrémé (Candia, commerce) précédemment inoculé avec cinq colonies de chaque souche est effectuée avec un pH mètre (Hanna, instruments, France), après une période d'incubation de 18 h à 30°C.

I. 5. Culture dans du lait de chèvre

Le long de cette étude, le travail est effectué sur un lait de chèvre de race Saanen, (Akbou, Bejaia), collecté à 7 h du matin par l'éleveur et transporté au laboratoire dans une glacière à 4°C. A son arrivée au laboratoire, une mesure de pH et des analyses microbiologiques sont effectuées.

I. 5. 1. Mesure du pH

Le pH est mesuré directement avec un pH mètre (Hanna instruments France), par l'immersion de l'électrode dans un petit volume de lait cru de chèvre à une température de 20°C.

I. 5. 2. Analyse microbiologique

Les analyses microbiologiques réalisées sur le lait de chèvre sont résumées dans le tableau IV.

Tableau IV : Analyses microbiologiques du lait cru de chèvre (Guiraud, 2003)

Flores	Milieu	Ensemencement et incubation
Flore lactique	MRS (Pronadisa, Espagne)	Ensemencement de 1 ml (10^{-6} , 10^{-7}) en masse et incubation à 30°C/48 - 72 h.
Flore totale	GN (Fluka, Suisse)	Ensemencement de 1 ml (10^{-6} , 10^{-7}) en masse et incubation à 30°C/48 h.
Staphylocoques	Chapman (Fluka, Suisse)	Ensemencement de 1 ml (SM, 10^{-2}) en masse et incubation à 37°C/24 - 48 h.
Clostridium sulfite-réducteurs	VF+ additif (sulfite de sodium + alun de fer) (Institut Pasteur, Algérie)	- Traitement thermique à 80°C/10 min - Ensemencement de 1 ml (SM) en masse (tubes) et incubation à 46°C/24 - 48 h.
Coliformes totaux	EMB (Pronadisa, Espagne)	Ensemencement de 1 ml (SM) en masse et incubation à 37°C/24 h.
Coliformes fécaux	EMB (Pronadisa, Espagne)	Ensemencement de 1 ml (SM) en masse et incubation à 44°C/24 h.
Salmonelles	S-S (Pronadisa, Espagne)	Ensemencement de 1 ml (SM) en masse et incubation à 37°C/24 -48 h.

I. 5. 3. Pasteurisation du lait de chèvre cru

La pasteurisation est un traitement thermique à une température inférieure au point d'ébullition pendant un laps du temps, afin d'éliminer tout les microorganismes pathogènes non sporulés et réduire la flore non pathogène susceptible de provoquer des altérations de divers ordres (F.A.O. et O.M.S., 1969).

Deux essais de pasteurisation qui diffèrent par le volume de lait à pasteuriser sont réalisés:

- **Essai 1:** Chauffage de 500 ml de lait cru dans un bain Marie (GFL Allemagne) à 65°C pendant 30 min.
- **Essai 2:** Chauffage de 250 ml de lait cru dans un bain marie (GFL Allemagne) à 65°C pendant 30 min.

I. 5. 4. Analyses microbiologiques du lait de chèvre pasteurisé

Après pasteurisation (essais 1 et 2), le lait est analysé pour vérifier l'efficacité du processus de pasteurisation.

Les analyses microbiologiques effectuées consistent en le dénombrement de différentes flores : la flore lactique, flore totale, les staphylocoques, coliformes fécaux, coliformes totaux et les Clostridium sulfito-réducteurs tel qu'indiqué pour le lait cru (tableau IV). Une durée d'incubation plus prolongée (48 -72 h) est nécessaire pour le développement des différentes flores dans le lait pasteurisé.

I. 5. 5. Analyse physicochimique du lait de chèvre pasteurisé

Elle est effectuée au niveau du laboratoire d'analyses physico-chimiques à Tchîn-lait Candia (Bejaia).

I. 5. 5. 1. Mesure du pH

Le pH est mesuré directement avec un pH mètre (Mettler Toledo, U.S.A.) par l'immersion de l'électrode dans un petit volume de lait de chèvre pasteurisé à une température de 20°C.

I. 5. 5. 2- Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable est déterminée en degré Dornic, qui correspond à 0,1g d'acide lactique dans 1 l de lait. La méthode consiste à mélanger 10 ml de lait de chèvre pasteurisé avec 100 µl de phénolphthaléine (préparé à 1% dans l'éthanol) puis à titrer avec une solution de soude Dornic (1/9N)

L'acidité titrable est donnée par lecture directe du volume (en ml) de soude versé jusqu'au virage de la couleur du lait en rose, persistante quelques secondes et multipliée par 10 (Guiraud, 1998).

$$^{\circ}D= V 10$$

V : Volume de la soude versé.

I.5.5.3. Composition chimique

La détermination de la composition chimique du lait de chèvre pasteurisé (teneurs en extrait sec total, en matière grasse et en matière protéique), est réalisée en utilisant le “MILCOSCAN FT2” (FOSS, Danemark).

I.5.6. Culture dans le lait de chèvre pasteurisé

Etant donné que les souches sont destinées à la fabrication de fromage, il est donc nécessaire qu’elles s’adaptent au lait de chèvre.

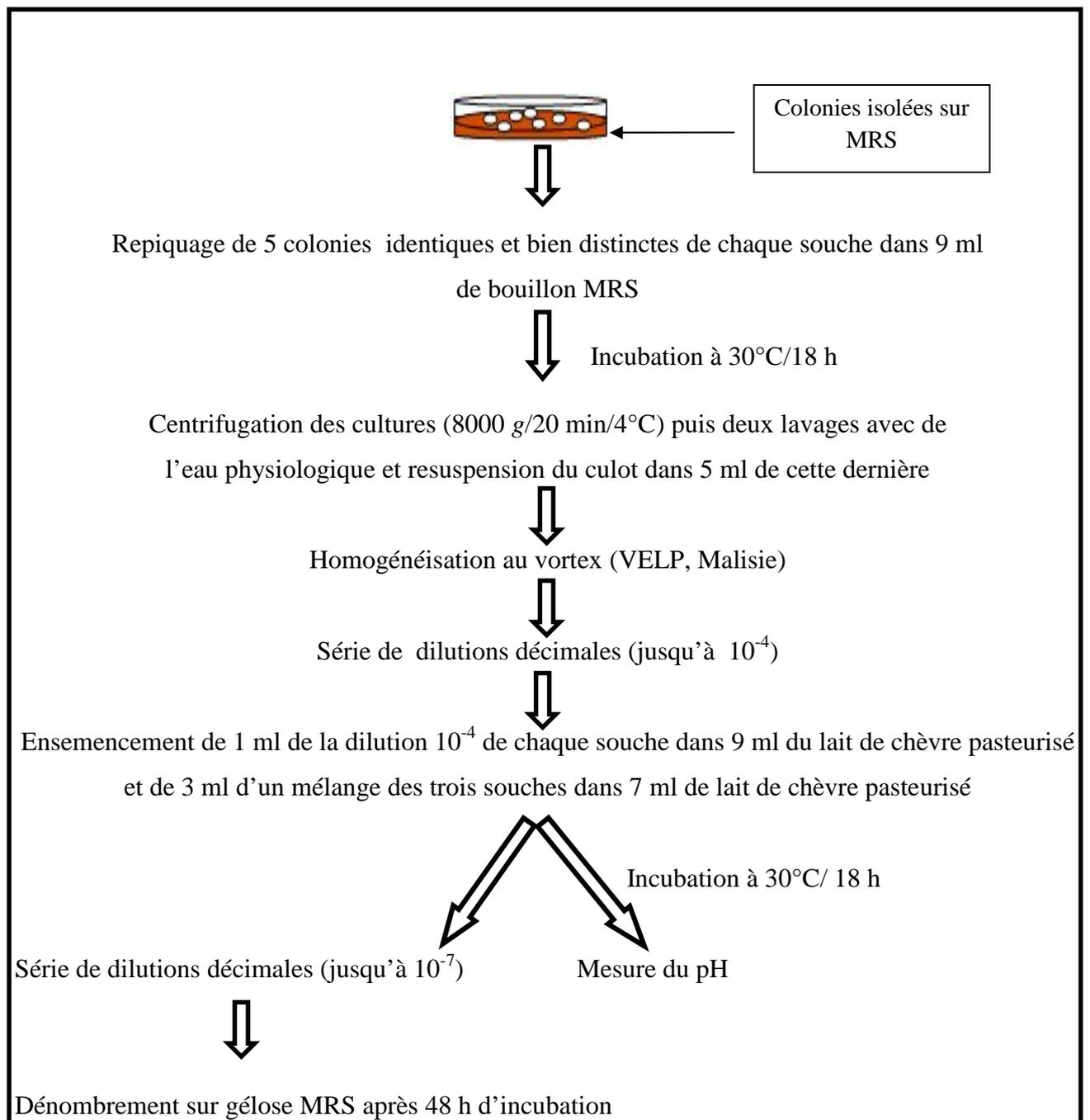


Figure 3. Croissance et pouvoir acidifiant des souches lactiques dans du lait de chèvre pasteurisé.

I. 6. Fabrication fromagère

Du fromage frais au lait de chèvre pasteurisé est mis au point au laboratoire, le protocole est schématisé sur la figure 4 et les principales étapes sont détaillées ci-dessous.

I. 6. 1. Protocole de fabrication

Du lait de chèvre pasteurisé (60°C/ 30 min) est inoculé à partir de pré-cultures réalisées dans du lait UHT à raison de 5 ml de chaque pré-culture (chaque souche) dans 35 ml de lait de chèvre. Cette suspension sert à inoculer 495 ml de lait de chèvre pasteurisé à raison de 5 ml pour avoir un volume final de 500 ml.

Le lait est par la suite incubé à 30°C/18 h et le pH est suivi durant cette période. Au pH de 6,3, 10 µl de présure (Caglifici Clerici, Caglio Liquido, Italie) de force 1/10000 sont ajoutés au lait de chèvre. Après homogénéisation, le lait est ré-incubé à 30°C pour atteindre 18 h.

Après coagulation, le caillé est récupéré à l'aide d'une louche stérile et laissé s'égoutter dans des moules perforés en plastique stériles et après 6 h, le coagulum est retourné pour assurer un meilleur égouttage.

I. 6. 2. Analyse microbiologique du fromage frais

Juste après la fabrication du fromage, des analyses microbiologiques sont réalisées, dans le but de s'assurer de l'absence d'une éventuelle contamination durant les différentes étapes de la fabrication et suivre le développement de la flore résiduelle et de la flore lactique ajoutée.

Par la suite, le fromage est découpé en cubes et conservé dans de l'huile d'olive et d'autres analyses microbiologiques sont effectuées après 7, 15 et 30 jours afin d'évaluer l'effet bio-conservateur de l'huile d'olive. La conservation est effectuée dans des bocaux en verre à température ambiante et à l'abri de la lumière.

I. 6. 3. Prélèvement des fromages immergés dans l'huile d'olive

Un cube de fromage est prélevé stérilement puis laissé s'égoutter. Ensuite, 10 g de fromage, prélevés à partir de la surface et en profondeur, sont homogénéisés dans 90 ml d'une solution de Tryptone-sel (TS) stérile et une série de dilutions décimales est réalisée afin d'effectuer le dénombrement des différentes flores.

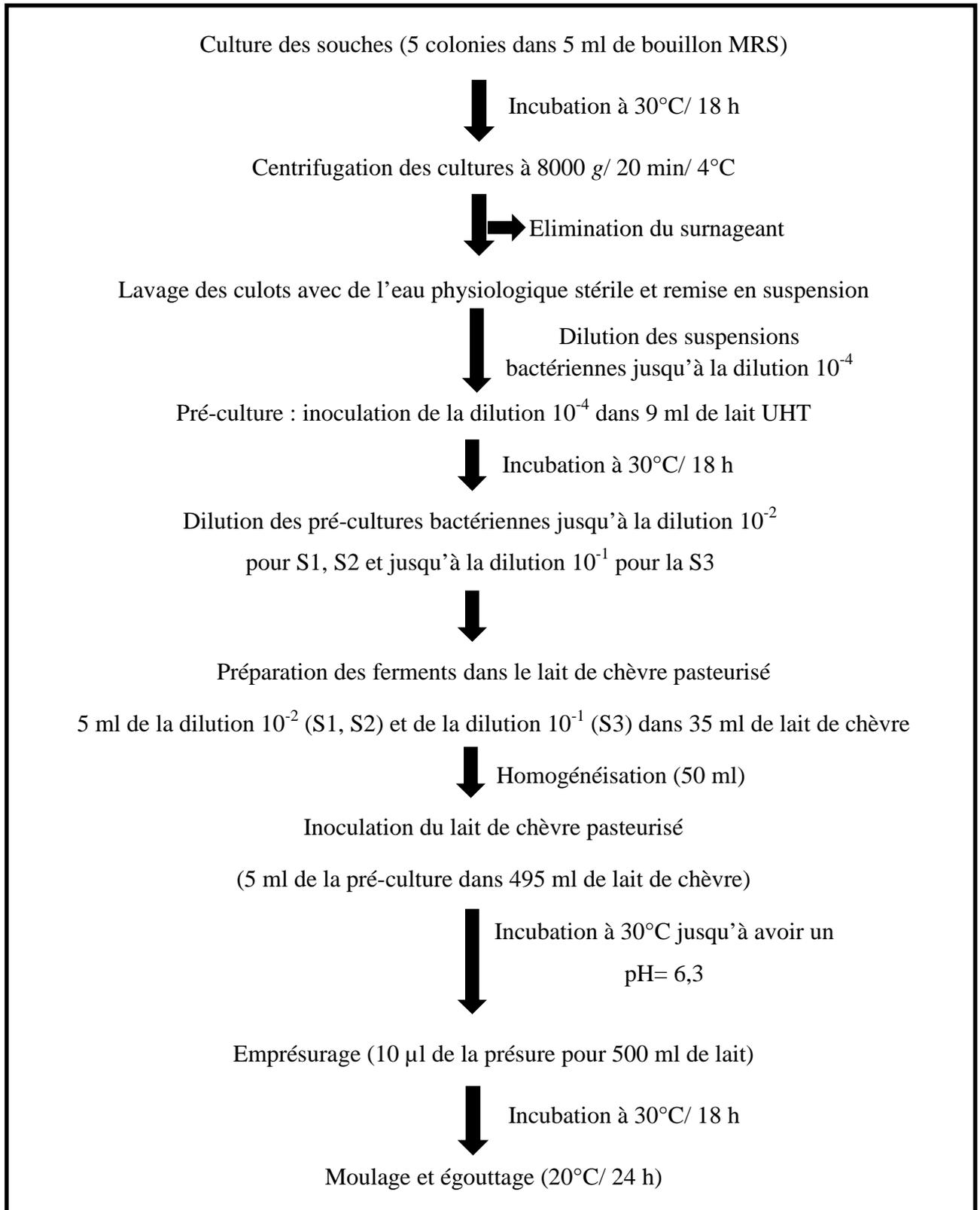


Figure 4. Protocole de fabrication du fromage de chèvre frais.

Les différentes flores dénombrées sont indiquées dans le tableau V. Tous les ensemencements sont réalisés en masse

Tableau V: Analyses microbiologiques du fromage frais.

Flore	Milieu	Incubation
Flore totale	GN (Fluka, suisse)	30°C/72 h
Flore lactique	MRS (Pronadisa, Espagne)	30°C/72 h
Coliformes totaux	EMB (Pronadisa, Espagne)	30°C/72 h
Coliformes fécaux	EMB (Pronadisa, Espagne)	44°C/72 h
Staphylocoques	Chapman (Fluka, Suisse)	37°C/72 h

I. 7. Analyse de l'huile d'olive

I. 7. 1. Origine

L'huile d'olive utilisée dans la conservation du fromage provient de la région Semaoune (Bejaia) et issue de la cueillette de la saison 2013.

I. 7. 2. Analyse physico-chimique

Effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée à l'université de Bejaia

I.7. 2. 1. Détermination de l'acidité

L'acidité est le pourcentage des acides gras libres présents dans l'huile d'olive. La détermination de l'acidité est effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-204 de Décembre 1985, (A.F.N.O.R., 2013)

Mode opératoire

- 1 g d'huile est pesé puis dissous dans 20 ml d'alcool (éthanol).
- La solution obtenue est chauffée pendant quelques minutes (5 minutes) puis 10 gouttes de phénolphtaléine (1%). (BIOCHEM, Allemagne) sont ajoutées.
- Enfin la solution est titrée avec une solution de KOH (0,1 N). (BIOCHEM, Allemagne) jusqu'à obtention d'une coloration rose persistante.

L'acidité est déterminée par la formule suivante :

$$A\% = 0,5 \cdot I_A$$

où

$$I_A = [56,1 \cdot V \cdot N] / M$$

Où V : nombre de ml de la solution KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon.

M : prise d'essai en gramme.

N : normalité de la solution KOH.

I.7. 2. 2. Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde présente la quantité des substances de l'échantillon (exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme) qui oxyde l'iodure de potassium avec libération d'iode. Il est déterminé conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de Décembre 1968, (A.F.N.O.R., 2013).

Mode opératoire

- 2g d'huile, 10 ml de chloroforme (BIOCHEM, Allemagne) et 20 ml d'acide acétique (BIOCHEM, Allemagne) sont mélangés dans un bécher, puis quelques cristaux de KI (BIOCHEM, Allemagne) sont dissouts en agitant pendant 1 min, puis 75 ml d'eau distillée sont ajoutés.
- De l'empois d'amidon est utilisé comme indicateur coloré (1ml),
- Une solution de thiosulfate de sodium (0,002N) (Thera Lab, Portugal) est utilisée pour la titration jusqu'à disparition de la couleur noire.

L'indice de peroxyde est déterminé par la formule suivante :

$$I_p = [N (V_1 - V_0) / M] \times 10^3$$

Où: V_0 : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

V_1 : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé.

M : masse de la prise d'essai.

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

I. 8. Analyse sensorielle

Elle repose sur la dégustation des fromages est sur l'analyse statistique des réponses données par les dégustateurs (questionnaire annexe 1). La séance de dégustation s'est déroulée dans une salle (figure 05) conçue pour cet usage (Université de Bejaia), par un panel de 29 dégustateurs.

La séance de dégustation s'est déroulée vers 10h00 du matin. Les dégustateurs choisis sont de différents âges, non-fumeurs et sous aucune médication, car ces facteurs influencent sur l'appréciation sensorielle des dégustateurs.

Les dégustateurs ont goûté en plus du fromage de chèvre frais conservé dans de l'huile d'olive, deux autres fromages frais: un fromage frais de chèvre conservé dans du lactosérum (fabriqué au laboratoire) et un fromage frais du commerce au lait de vache en tant que témoin. Ils sont présentés dans une assiette propre accompagnés de morceaux de pain sans sel et de tranches de pomme pour le nettoyage de la bouche entre chaque dégustation (figure 06).



Figure 05. Présentation des boxes d'analyse sensorielle

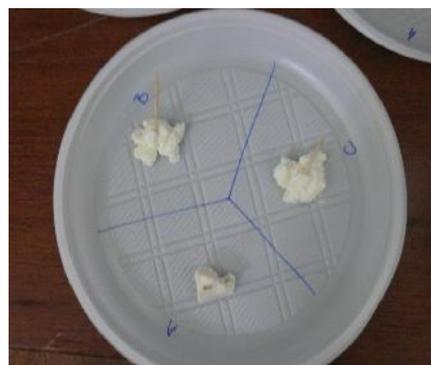
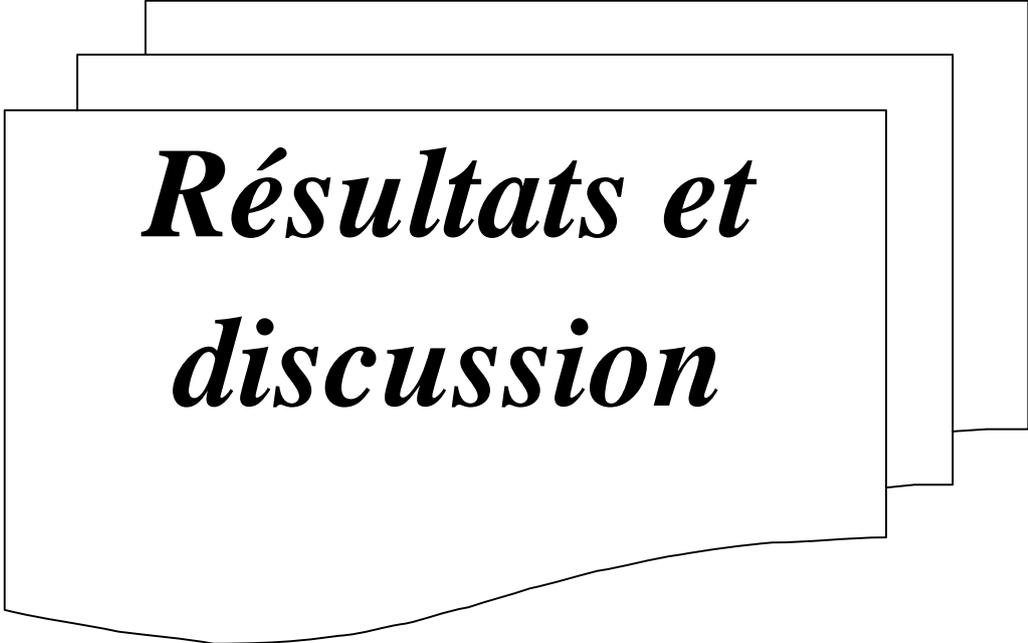


Figure 06. Présentation des échantillons de fromages pour dégustation



***Résultats et
discussion***

II. 1. Vérification de la pureté des souches

Les résultats de l'examen des caractères cultureux, l'observation microscopique et le résultat du test de la catalase confirment la pureté des souches. L'absence de croissance à 45°C et l'absence de gaz démontrent leurs caractères mésophile et homo-fermentaire (tableau VI).

Tableau VI : Caractéristiques des souches lactiques.

Caractéristiques	S1	S2	S3
Colonies	Petites, rondes, blanchâtres, bombées et à bords réguliers	Petites, rondes, blanchâtres, bombées et à bords réguliers	Grosses, blanchâtres à crémeuses, rondes, bombées et à bords réguliers
Morphologie	Cocci	Cocci	Bacilles
Disposition des cellules	Individuelles ou en diplocoques	Individuelles ou en diplocoques	Individuelles ou en chainettes
Gram	Positif	Positif	Positif
Catalase	Négative	Négative	Négative
Croissance à 45°C	Négative	Négative	Négative
Production de gaz	Négative	Négative	Négative

II. 2. Standardisation des *inocula* dans du lait UHT

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

La standardisation des *inocula* a été réalisée par la méthode de dénombrement sur milieu MRS, après avoir inoculé 5 colonies de chaque souche dans du bouillon MRS (18 h), puis dans du lait UHT tel qu'indiqué en matériel et méthodes. Des taux de 10^8 UFC/ml pour les souches S1 et S2 et de 10^7 UFC/ml pour la S3 ont été obtenus après 18 h de culture dans le lait.

Des dilutions décimales sont par la suite réalisées pour avoir les *inocula* utilisés pour les tests ultérieurs.

II. 3. Croissance et pouvoir acidifiant des trois souches lactiques dans le lait UHT

Le lait UHT partiellement écrémé inoculé avec cinq colonies de chaque souche après 18 h d'incubation a permis d'obtenir une bonne coagulation du lait avec les deux souches S1 et S2, par contre une légère coagulation a été observée avec la souche S3 et les résultats de la mesure du pH des cultures pures et de l'association S1/S2/S3 sont résumés dans le tableau VII. Le pH du lait UHT stérile a été de 6,68.

Tableau VII. Acidification du lait UHT à 30°C par les trois souches lactiques.

Souche	S1	S2	S3	S1+S2+S3	Témoin
pH	4,58	4,55	5,20	4,38	6,68

La comparaison des valeurs de pH du lait inoculé avec les souches et le pH du lait témoin (6,68) montre qu'effectivement les souches ont un pouvoir acidifiant sur le lait stérile (4,55 pH 5,20). Une meilleure acidification a été obtenue en associant les trois souches lactiques (pH=4,38).

II. 4. Qualité microbiologique du lait cru de chèvre

La détermination de la qualité microbiologique du lait cru de chèvre a consisté en la mesure du pH et en le dénombrement de certaines microflores

II. 4. 1. Mesure du pH

Le pH du lait de chèvre analysé a été de 6,65. En général, le pH d'un lait de chèvre varie entre 6,45 et 6,90 (Rameuf et al., 1989) avec une moyenne de 6,7 différant peu du pH moyen du lait de vache (Rameuf et al., 1989; Le Jaouen et al., 1990), qui varie entre 6,6 et 6,8.

Desmazeaud (2006) précise que le pH du lait est parmi les plus importantes propriétés physico-chimiques qui influencent la fermentation lactique. Un pH compris entre 6,6 et 6,8 est favorable à l'activité des ferments lactiques.

II. 4. 2. Analyse microbiologique

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait cru de chèvre sont résumés dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Qualité microbiologique du lait cru de chèvre.

	Nombre (UFC/ml)	Normes (UFC/ml) (J.O.R.A., 1998)
Flore totale aérobie mésophile	4,5.10 ⁶	10 ⁵
Flore lactique	3.10 ²	/
Coliformes fécaux	7	10 ³
Coliformes totaux	1,3.10 ²	10 ⁵
Clostridium sulfite-réducteurs à 46°C	Absence	50
Staphylocoques blancs	8	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence
Salmonelles	Absence	Absence

(/) : Absence de norme.

Le taux de la flore totale (4,5.10⁶ UFC/ml) indique que le lait cru de chèvre analysé est de mauvaise qualité hygiénique, ce taux est supérieur à celui rapporté par **El Azzi et Bassal (2005)**. Il dépasse aussi les normes Algériennes (**J.O.R.A., 1998**), qui exigent que le taux de la flore totale aérobie mésophile soit inférieur ou égal à 10⁵ UFC/ml. Ce taux élevé serait dû à de mauvaises conditions de la traite et de collecte du lait.

Staphylococcus aureus, agent pathogène intra-mammaire, est absent dans le lait de chèvre analysé répondant ainsi aux exigences de la réglementation Algérienne (**J.O.R.A., 1998**). Par contre, d'autres staphylocoques sont présents avec une moyenne de 8 UFC/ml (tableau VIII). Selon **Rosengren et al. (2013)**, les causes d'une contamination par les staphylocoques sont principalement l'ensilage mal conservé, les mains du fermier lors de la traite et l'environnement.

Dans la fabrication fromagère, la flore lactique sert d'appoint au ferment lactique, cependant elle est loin d'être dominante dans le lait cru (**Richard et Auclair, 1987**). Les résultats du dénombrement de la flore lactique confirment ces données avec une moyenne de 3. 10² UFC/ml.

Le lait cru de chèvre analysé est exempt de salmonelles et de Clostridium sulfite-réducteurs répondant ainsi à la réglementation Algérienne (**J.O.R.A., 1998**).

Afin de réduire le taux de la flore totale qui surpasse la norme Algérienne, une pasteurisation a été effectuée.

II. 5. Analyse microbiologique du lait de chèvre pasteurisé

Deux essais de pasteurisation (65°C/30 min) ont été effectués en traitant 500 ml de lait dans l'un et 250 ml dans l'autre.

Essai 1 : Les résultats obtenus après cette pasteurisation montrent que cet essai n'a pas pu réduire le taux de la flore totale aérobie mésophile au taux exigé par la réglementation Algérienne (J.O.R.A., 1998), avec un taux de 5.10^5 UFC/ml ni éliminer les staphylocoques persistant à un taux de 6 UFC/ml.

Essai 2 : Au terme de ce deuxième essai de pasteurisation (tableau XI), les résultats des analyses microbiologiques montrent son efficacité. En effet, cet essai a permis une importante réduction des différentes flores présentes dans le lait cru de chèvre analysé, notamment une élimination totale des staphylocoques et des coliformes (figure 7).

Tableau IX : Qualité microbiologique du lait de chèvre pasteurisé.

	Nombre (UFC/ml)	Normes (UFC/ml) (J.O.R.A., 1998)
Flore totale aérobie mésophile	4	3.10^4
Flore lactique	4	/
Coliformes fécaux	Absence	Absence
Coliformes totaux	Absence	1
Clostridium sulfito- réducteurs à 46°C	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	1

(/) : Absence de norme.

La différence notée entre les deux essais, est probablement due au volume du lait répartis lors de la pasteurisation (65°C/30 min). Ceci serait lié à un problème dans le transfert de chaleur étant donné que la pasteurisation a été effectuée au bain Marie. Selon les normes du **J.O.R.A. (1998)**, le lait obtenu après pasteurisation est un lait propre à la consommation et pouvant être utilisé dans la fabrication fromagère.

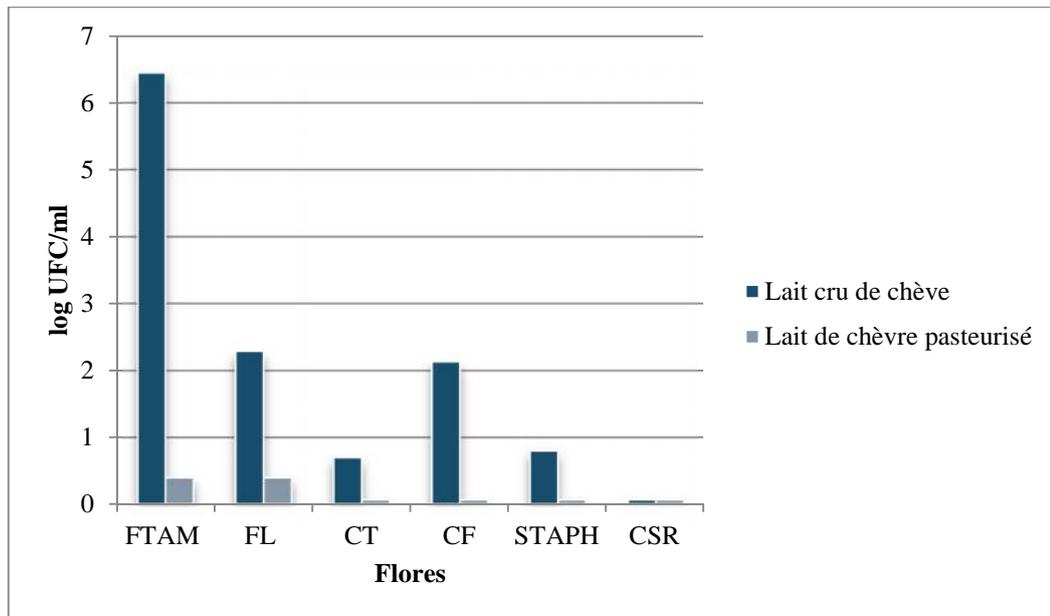


Figure 7 : Schéma comparatif de la qualité microbiologique du lait de chèvre cru et pasteurisé. FTAM : flore totale aérobie mésophile, FL : Flore lactique, CT : Coliformes totaux, CF : Coliformes fécaux, STAPH : Staphylocoques, CSR : Clostridium sulfite-réducteurs.

II. 6. Qualité physicochimique du lait de chèvre pasteurisé

La qualité physicochimique du lait de chèvre varie en fonction de plusieurs facteurs ; la saison, le stade de lactation, les pratiques alimentaires (**Carnicella et al., 2008 Goetsch et al., 2011**).

II. 6. 1 Acidité et pH

Selon **Veinoglou et al. (1982)**, l'acidité du lait de chèvre varie entre 16 et 17°D, son pH entre 6,45 et 6,90 (**Rameuf et al., 1989**). L'échantillon de lait de chèvre pasteurisé analysé est un lait normal car il présente un pH de 6,62 et une acidité Dornic de 17°D.

L'acidité est un indicateur de la qualité de conservation du lait (**Cassinello et Pereira, 2001**). Ceci indique que ce lait n'a pas subi d'altérations microbiennes provoquant une augmentation de son acidité.

II. 6. 2. Composition chimique

Le tableau X présente le taux en pourcentage des différents composants du lait de chèvre pasteurisé destiné à la fabrication fromagère.

Tableau X. Composition chimique du lait de chèvre pasteurisé comparée aux données bibliographiques.

	Lait analysé	Zeng et al. (1997)	Soryal et al. (2004)
Extrait sec total (%)	13,12	9,95±1,20	10,62±0,61
Extrait sec dégraissé (%)	9,02	7,50±0,73	-
Matière grasse (%)	4,32	2,46±0,76	3,00±0,37
Protéines (%)	3,10	2,79±0,66	2,95±0,26
Caséines (%)	2,78	-	-
Lactose (%)	4,40	4,17±0,44	4,16±0,24

- : Absence de données.

La composition chimique du lait de chèvre analysé présente des taux supérieurs à ceux rapportés par **Zeng et al. (1997)** et **Soryal et al. (2004)**.

Le rendement fromager dépend de la concentration du lait en protéines. Le lait de chèvre analysé a une concentration moyenne de 3,10 %, cette concentration est en adéquation avec celle (2,95%) utilisée par **Soryal et al. (2004)** dans la fabrication de fromage frais.

II.7. Croissance des souches dans le lait de chèvre pasteurisé

Les résultats du dénombrement des trois souches pures et en association inoculées dans le lait de chèvre pasteurisé après 18 h d'incubation à 30°C sont illustrés dans le tableau XI.

Tableau XI. Résultats de la croissance des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé.

Souche	Nombre (UFC/ml)
S1	$> 10^9$
S2	$> 10^9$
S3	5.10^8
S1+S2+S3	$> 10^9$

Le taux important de bactéries obtenu, pour les trois souches, montre qu'elles s'adaptent bien et croissent dans le lait de chèvre pasteurisé.

II. 8. Pouvoir acidifiant des trois souches dans le lait de chèvre pasteurisé

L'évolution du pouvoir acidifiant des trois souches dans le lait de chèvre pasteurisé après 18 h d'incubation à 30°C est résumée dans le tableau XII.

Tableau XII : Pouvoir acidifiant des souches lactiques dans le lait de chèvre pasteurisé.

Souche	S1	S2	S3	S1+S2+S3
pH	5,40	5,37	5,96	5,24

Ces résultats confirment le pouvoir acidifiant des souches utilisées en abaissant le pH à des valeurs comprises entre 5,24 à 5,96. Ces souches se développent dans le lait en utilisant le lactose comme source de carbone et en le métabolisant en acide lactique (**Bourgeois et Larpent, 1996**). Cette action a comme effet une augmentation de l'acidité du lait. Ainsi la mesure de pH de ce dernier donne une idée sur l'évolution moyenne de la population microbienne qu'il contient.

II. 9. Fabrication de fromages frais

La fabrication du fromage frais se fait principalement en deux étapes : le caillage, ou la coagulation du lait et l'égouttage du coagulum (**Corcy, 1991**).

Trois voies sont en usage pour faire cailler le lait en fromagerie : l'acidification, l'addition de présure et la troisième est l'action combinée des deux voies, appelée la coagulation mixte. Ces trois voies donnent des types de caillé caractéristiques dont les propriétés et le comportement de chacun d'eux diffèrent sensiblement (**Zeller, 2005**).

II. 9. 1. Maturation

La réussite de la fabrication d'un fromage frais est basée sur le temps d'acidification avant l'ajout de la présure (**Horiuchi et al., 2004**). L'acidification du lait est une étape importante dans la fabrication du fromage frais (**Pilet et al., 1995 ; Bourgeois et Larpent, 1996 ; Raynaud, 2006 ; Alomar, 2007**).

Le pH initial du lait utilisé pour la fabrication fromagère est d'une valeur de 6,62. Deux heures après l'ajout des ferments le pH a diminué jusqu'à 6,28. Ce dernier est considéré comme un pH idéal pour l'emprésurage (**Zeller, 2005 ; Floury et al., 2009**); ces derniers préconisent un pH allant de 6,2 à 6,5.

II. 9. 2. Coagulation

Une coagulation du lait de chèvre est observée après 18 h (30°C) de l'ajout de la présure (figure 8). Le coagulum obtenu est homogène, ferme, présentant une texture et une humidité convenables. En général, le temps de coagulation des fromages frais varie de 12 à 36 h (**Zeller, 2005**). Selon **Lenoir et al. (2006)**, cette coagulation est due à l'action combinée de la présure et de l'acidification.



Figure 8. Aspect du coagulum obtenu par coagulation mixte après 18 h à 30°C.

II. 9. 3. Egouttage et moulage

L'égouttage du coagulum s'est déroulé pendant 24 h. Le fromage obtenu est de bonne présentation (figure 9). Selon **Gobin (1991)**, ce bon aspect de fromage (faces régulières, sans trous) est favorisé par le retournement effectué après 7 h d'égouttage.



Figure 9. Aspect du fromage obtenu après 24 h de moulage et d'égouttage.

II. 10. Qualité microbiologique du fromage de chèvre frais

Les résultats du suivi de l'évolution de la qualité microbiologique du fromage au cours de sa conservation dans l'huile d'olive, montrent une réduction du nombre des différentes flores allant jusqu'à l'élimination totale de certaines d'entre elles (figure 10).

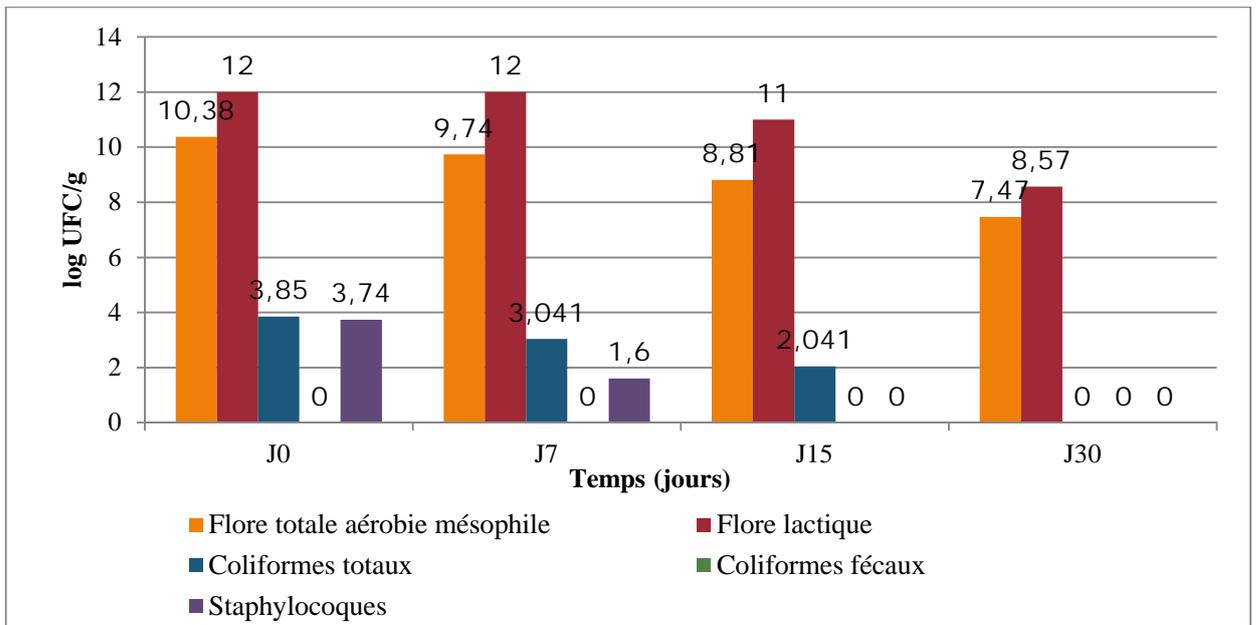


Figure 10. Evolution de la qualité microbiologique du fromage frais au cours de la conservation dans l’huile d’olive.

D’après la figure 10, le taux enregistré est supérieur à 10^{10} UFC/ml pour la flore lactique. La flore totale aérobie mésophile est présente avec un taux de 10^9 UFC/ml, les coliformes totaux sont de l’ordre de 10^3 UFC/ml et un taux de 40 UFC/ml pour les staphylocoques au 7^{ème} jour et à la fin de la période de conservation (30 jours), des taux de 10^8 UFC/ml pour la flore lactique, 10^7 UFC/ml pour la flore totale aérobie mésophile sont enregistrés ainsi qu’une élimination totale des coliformes totaux et des staphylocoques.

Cette réduction serait due à l’activité antibactérienne de l’huile d’olive qui semblerait s’exerçait différemment en fonction du groupe bactérien ou de la bactérie considérée. Cette constatation fut déjà rapportée par **Michael et al. (1982)**, qui affirment que les microorganismes ne sont pas tous sensibles de la même façon aux composés phénoliques contenus dans l’huile d’olive.

De plus, selon **Larpent (1988)**, les composés phénoliques de l’huile d’olive sont plus actifs sur les bactéries à Gram positif que sur celles à Gram négatif.

De même, cette réduction pourrait être due à l’action antagoniste des souches lactiques présentes dans le fromage, telles que *Lc. lactis* ssp. *lactis*. Ces bactéries sont connues capables de produire au cours de leur croissance, des composés inhibiteurs à large spectre d’activité comme les acides organiques ou les bactériocines (**Canteri, 2006**).

Au terme de la période de conservation, la qualité microbiologique du fromage frais répond aux normes de la réglementation Algérienne (**J.O.R.A., 1998**), qui tolère des taux de 10 UFC/ml de *Staphylococcus aureus* et de coliformes totaux et 1 UFC/ml de coliformes fécaux.

II.11. Analyse physico-chimique de l'huile d'olive

Les résultats de l'analyse de l'huile d'olive sont présentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Résultats de l'analyse physicochimique de l'huile d'olive (C.O.I., 2003)

Huile d'olive \	Analysée	Vierge extra	Vierge	Vierge courante	Vierge lampante
Acidité	1,0098	1,0	2,0	3,3	3,3
Indice de peroxyde	7	20	20	20	Non limité

En comparant les valeurs de l'acidité et de l'indice de peroxyde obtenues à celle de la norme du C.O.I., on constate que l'échantillon analysé présente une acidité de 1,0098% en acide oléique et un indice de peroxyde à 20 meq O₂/kg (7 meq O₂/kg), conforme à la norme fixée pour une huile vierge extra.

Ces faibles valeurs d'acidité et d'indice de peroxyde traduisent une faible hydrolyse et oxydation de corps gras présents dans l'huile d'olive durant son extraction et son stockage.

Une faible acidité de l'huile d'olive analysée confirme que l'effet antibactérien exercé durant la période de conservation du fromage, est dû aux composés phénoliques éliminant ainsi l'effet de l'acidité.

II. 12. Analyse sensorielle du fromage frais conservé dans l'huile d'olive

La séance de dégustation s'est déroulée aux alentours de 10 h de matin, avec 29 panélistes de différents âges. Trois échantillons de fromages ont été dégustés.

Echantillon A : fromage frais de chèvre conservé dans l'huile d'olive.

Echantillon B : fromage frais de chèvre conservé dans du lactosérum.

Echantillon C : fromage frais de vache (commerce).

D'après les notes attribuées par les 29 panélistes aux trois échantillons de fromage frais (figure 11), il apparaît que dans l'ensemble, les dégustateurs ont bien apprécié le fromage frais de chèvre conservé dans l'huile d'olive. La majorité lui a attribué la note de 6/9, comparativement au fromage frais conservé dans le lactosérum (4/9). La meilleure note étant attribuée au fromage commercial (fromage au lait de vache frais).

Les dégustateurs ont beaucoup apprécié l'aspect textural du fromage frais de chèvre conservé dans l'huile d'olive, ils l'ont trouvé plus ferme que les deux autres fromages dégustés.

Toutefois, les dégustateurs ont relevé une forte acidité du fromage frais de chèvre conservé dans l'huile d'olive avec une certaine amertume (figure 12). C'est l'un des critères que les dégustateurs n'ont pas apprécié. Cette forte acidité serait due à l'amertume de l'huile d'olive. En effet, l'amertume et l'odeur de l'huile d'olive sont aussi des critères que la majorité des dégustateurs n'ont pas apprécié.

Il est admis que seul un jury expérimenté pourrait faire la différence entre amertume et acidité d'une huile.

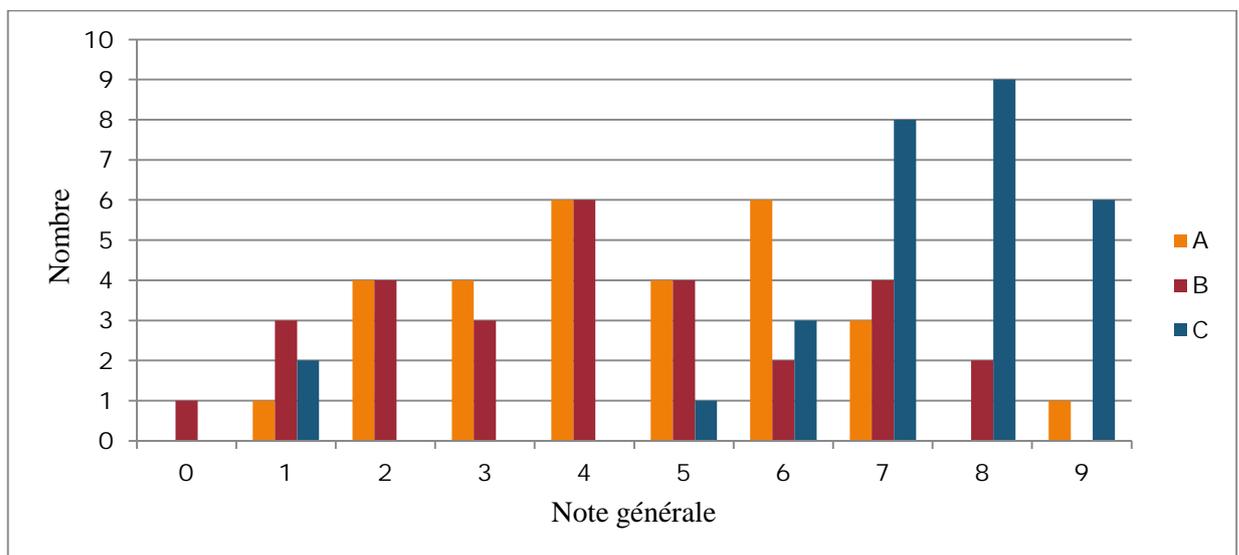


Figure 11 : Evaluation des notes générales données aux trois échantillons de fromage frais.

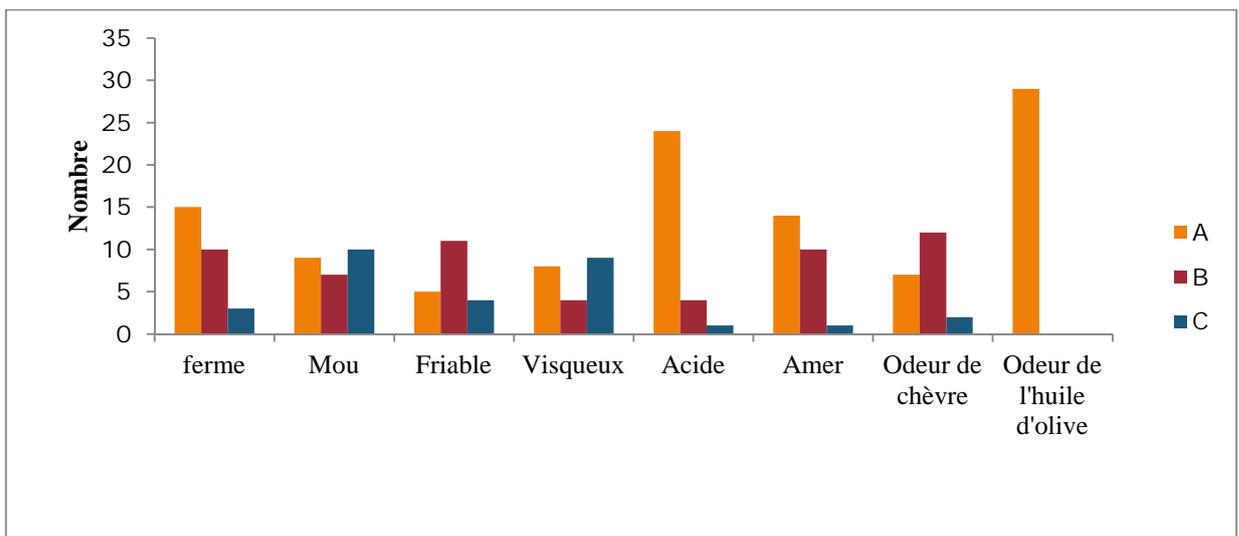


Figure 12. Résultats de l'analyse sensorielle (aspect textural et flaveur) des trois fromages frais.

Quelques dégustateurs ont signalé une présence d'odeur de chèvre, et selon **Salles et al. (1995)**, cette odeur serait due à la composition chimique particulière du lait de chèvre.

D'après les réponses des dégustateurs sur la fiche de dégustation, 89% d'entre eux sont des consommateurs de fromages frais, parmi lesquels uniquement 23% sont des consommateurs de fromage frais traditionnels (généralement au lait de vache). Ce qui explique leur préférence du fromage commercial.

De même, 82% des dégustateurs se sont révélés des consommateurs de l'huile d'olive. Toutefois une consommation autre qu'avec du fromage.



Conclusion

Conclusion

Cette étude consiste à mettre au point un fromage frais à base de lait de chèvre pasteurisé conservé dans de l'huile d'olive, dans le but d'augmenter sa durée de conservation à des températures ambiantes.

Les différentes analyses microbiologiques ont révélé une mauvaise qualité hygiénique du lait cru de chèvre destiné à la fabrication fromagère, d'où la nécessité d'une pasteurisation à fin de réduire les taux de la flore totale et des staphylocoques conformément aux exigences de la norme Algérienne.

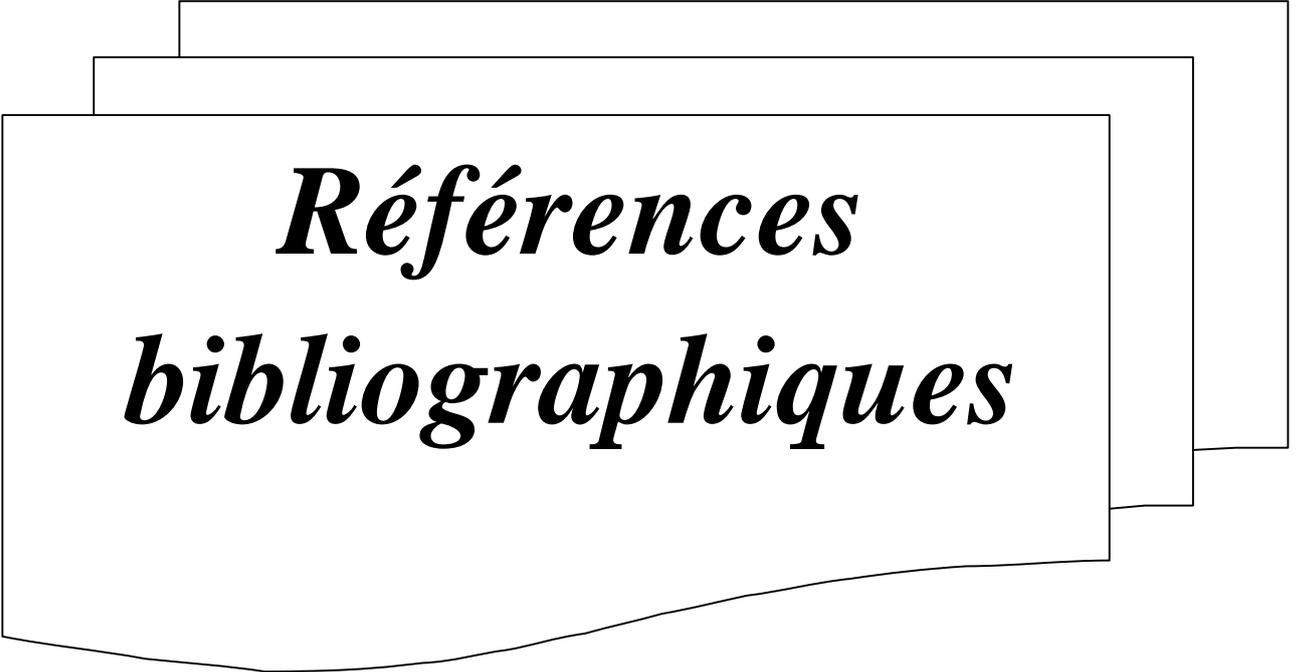
Les résultats de l'analyse physico-chimique après pasteurisation indiquent le bon rendement fromager vu sa richesse en extrait sec total (13,12 %) ainsi que sa bonne teneur en matière protéique (3,10 %).

Le fromage, obtenu par une coagulation mixte (action combinée de la présure et des ferments lactiques ; *Lc. lactis* ssp. *lactis* et *Lb. plantarum*), a présenté un aspect textural homogène et ferme.

Par la suite, le fromage frais est macéré dans de l'huile d'olive sur une période de 30 jours. L'effet antimicrobien et bioconservateur de l'huile d'olive et des ferments lactiques utilisés, sont observés le long de cette période, tels que montrés par les résultats des analyses microbiologiques effectués régulièrement qui ont révélé une réduction continue de la flore totale aérobie mésophile et une élimination totale des coliformes totaux et des staphylocoques au terme de la conservation.

Pour compléter ce travail, une évaluation sensorielle a été effectuée, dont l'ensemble des dégustateurs a signalé une forte acidité ainsi qu'une odeur forte d'huile d'olive (caractères non appréciés). Par contre, ils ont apprécié l'aspect ferme et friable de ce fromage.

En perspectives, afin d'améliorer la qualité organoleptique de ce fromage, on propose l'utilisation d'autres variétés d'huile d'olive ayant des saveurs mieux appréciables et ajouter des aromâtes (clou de girofle, épices et ail) pour relever le goût du fromage, ceci dans le but de pouvoir mettre un fromage frais à base de lait de chèvre typique à notre région sur le marché.



***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

- A.F.N.O.R. (2013). Recueil de normes Françaises. <http://www.afnor.org> (Accessed : 15 Mai 2014).
- Allais C. (1984). Science du lait, principes des techniques laitières. Edition : SEPAIC. Paris. 814p.
- Alomar J. (2007). Etude des propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de Doctorat de procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut National Polytechnique de Lorraine. 205p.
- Amiot J et Lapointe-Vignola C. (2002). Science et Technologie du lait. Transformation du lait. Edition : Presses Internationales Polytechniques. Québec. 600p.
- Avalos DA. (2007). Faisabilité de la production en Mexique de fromage de chèvre additionné de piments : aspect technologiques, sensorielles, sanitaires et économiques. Thèse de Doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Université de Nancy. Lorraine. 226p.
- Badis A, Laouabdia N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «ARABIA et KABYLE». Science et Technologie, **23**. 30-37.
- Beresford TP, Fitzimons NA et Cogan TM. (2001). Recent advances in cheese microbiology. International Dairy Journal. **11**, 259-274.
- Bernardeau M, Vernoux JP, Dubernet S et Guéguin M. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. Food Microbiology. **126**, 278-285.
- Bourgeois CM et Larpent JP. (1996). Microbiologie Alimentaire. Edition : Tec. et Doc., Lavoisier. Paris. 523p.

- Canteri C, Cretenet M, Even S et Le Loir Y. (2008). Interaction between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story new perspectives. *Food Microbiology*. **131**, 30-39.
- Caridi A, Micari P, Caparra P, Cufari A et Sarullo V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal*. **13**, 191-200.
- Carnicella E, Dario M, Ayres MCC, Laudadio V et Dario C. (2008). The effect of diet, parity year and number of kids on milk yield and milk composition in Maltese goat. *Small Ruminant Research*. **77**, 71-74.
- Casalta E et Montel MC. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms : The *Lactococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology*. **126**, 271-273.
- Cassinello J, Pereira S. La qualité du lait et du fromage dans cinq exploitations caprines de la Serra do Caldeirão. In: Rubino R., Moran d-Fehr P. Production systems and product quality in sheep and goats. Zaragoza: CIHEAM (Options Méditerranéennes: Série A) 2001. p. 157-161.
- Ceballos L, Morales ER, Adarve GT, Castro JD, Martinez LP et Sampelyo MRS. (2009). Composition of goat and cow milk product under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*. **22**, 322-329.
- Chamba JF et Irlinger F. (2004). Secondary and adjunct cultures. In: McSweeney PLH, Cogan TM, Fox FP et Guinee TP. (Eds.), *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects*. Academic Press, Londres, pp. 191-206.
- Commission Nationale AnGR. (2003). Rapport national sur les ressources génétiques animales. Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural. Alger. 45 p. http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2009_153_3_05.pdf. (Accessed: 25 mars 2014).
- C.O.I. (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. <http://www.internationaloliveoil.org/>

- Corcy JC. (1991). La chèvre. Edition : la maison Rustique. Paris. 256p.
- Dellaglio F, de Roissard H, Torriani S, Curk MC et Janssens D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : de Roissard H, Luquet FM. (Eds.), Bactéries lactiques. Lorica-Uriage, Paris, pp. 25-116.
- Desmazoud M. (2006).Le lait de fromagerie. Le fromage de la science à l'assurance qualité. Edition : Lavoisier. Paris. 212-227.
- Dortu C et Thonart P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnologie Agronomie Sociologie Environnement. **13**, 143-154.
- Drouault S, Corthier G, Ehrlich DS et Renault P. (1999). Survival physiology and lysis of *Lactococcus lactis* in the digestive tract. Applied and Environmental Microbiology. **65**,4881-4886.
- D.S.A.S.I. Direction des Statistiques Agricoles et des Systemes d'Informatique. (2006).Rapport sur la situation du secteur agricole.77p. <http://www.minagri.dz/pdf/Rapports/Rapport%20sur%20la%20situation%20du%20secteur%20agricole%202006.pdf> (Accessed : 21 Avril 2014)
- El Azzi M et Bassal A. (2005). Optimisation de la production de fromage artisanal de chèvre (fromage fermier Français). Annales de Recherches Scientifiques. **06**, 125-143.
- El-Shafie HA, Ibrahim N, Abd El-Sabour H et Mostafa YA. (2008). Purification and characterization of bacteriocin produced by isolated strain of *Lactococcus lactis*. Journal of Applied Sciences Research. **11**, 1315-1321.
- F.A.O. et O.M.S. (1969). Comité mixte FAO/OMS d'experts d'hygiène du lait. Etudes agricoles de la FAO. No 83, ROME-I et Rapports techniques OMS, No 453, (Genève). <http://www.who.int/iris/handle/10665/38104>. (Accessed: 04 Avril 2014).
- F.A.O. (2006). Major food and agricultural commodities and producers. Country by commodity. <http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=en&item=1020&year=2005>. (Accessed : 25 Mars 2014).

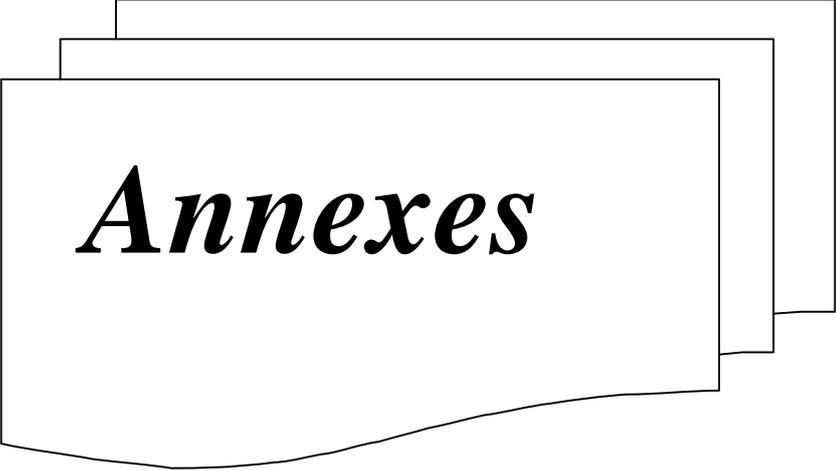
- Flambard B, Jean R et Vincent J. (1997). Interaction between proteolytic strains of *Lactococcus lactis* influenced by different Types of proteinase during growth in milk. *Applied and Environmental Microbiology*. **63**, 2131-2135.
- Floury J, Camier B, Rousseau F, Lopez C, Tissier JP et Famelart MH. (2009). Reducing salt level in food :Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure-texture relationships. *Food Science and Technology*. **42**, 1611-1620.
- Fristone D. (2005). Olive oil. United States Food and Drug Administration. **7**, 303-331.
- Gerez CL, Torino MI, Rollan G et Graciela FV. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*.**20**, 144 – 148.
- G.E.M.R.C.N. (2009).Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition, Spécification technique n° B3-07-09 destinée à l'achat public. Décision n° 2009-03 du 30 juillet 2009 du comité exécutif de l'OEAP. France. http://www.minefe.gouv.fr/directions_services/daj/guide/gpem/table.html (Accessed: 14 Mai 2014)
- Gobin M. (1991). La coagulation et l'égouttage des fromages. Réussir la chèvre. **185**, 36-38.
- Goetsch AL, Zeng SS et Gipson TA. (2011). Factors effecting goat milk production and quality. *Small Ruminant Research*. Doi : 10.1016/j.smallrumres.2011.09.025.
- Guiraud JP. (1998). *Microbiologie Alimentaire*. Edition : Dunod. Paris.652p.
- Guiraud JP. (2003) .*Microbiologie Alimentaire*. Edition : Dunod. Paris. 651p.
- Guiraud JP et Rosec JP. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Edition : AFNOR. France. 237-251.
- Grappin R, Jeunet R, Pillet R et Le Toquin A. (1981). Etude des laits de chèvre : teneur du lait de chèvre en matière grasse, matière azotée et fractions azotées. 117-133. 133p.
- Horiuchi J, Shimida T, Funahashi H, Tada K, Kobayashia M et Kanno T. (2004). Artificial neural network model with a culture database for prediction of acidification step in cheese production. *Journal of Food Engineering*. **63**, 459-465.

- Izquierdo A. (2009). Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de Doctorat de Biochimie Analytique. Faculté de Chimie Analytique et Science de l'aliment. Université de Strasbourg, Hubert Curien. France. 211p.
- Jeantet R, Croguennec T, Schuk P et Brulé G. (2006). Science des aliments : Technologie des produits alimentaires. Edition : Lavoisier. Paris. 1160p.
- J.O.R.A. (1998) Arrêté interministériel du 27 mai 1998, relatif aux spécificités microbiologique de certaines denrées alimentaires, Journal Officiel de la République Algérienne N°35. Pp. 9-25.
- Karleskind A, Wolf JP et Avenget Guthmann JF. (1992). Source et monographies des principaux corps gras. In: Manuel des Corps Gras. Tome 1. 788p.
- Khalid NM et Marth EH. (1990). Lactobacilli, their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. Review in Dairy Science. **73**, 158-167.
- Lamontagne M, Claud PC, Reitz-Ausseau J, Moineau S, Gardner N, Lamoureux M, Jean J et Fliss I. (2002). Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Edition : Ecole Polytechnique. Montréal. 90p.
- Larpent JP. (1988). Métabolisme systématique. Application industrielle. Milieu de culture et réactif. Organismes eucaryotes et procaryotes. Structure. In: Mémento Techniques de Microbiologie. Edition : Lavoisier. Paris. 1039 p.
- Leclerc H, Izard D, Husson O, Wattré P et Jakubezak. (1983). Agents antimicrobiens. In: Microbiologie générale. Doin, Paris, pp. 267-320.
- 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, Montréal. Québec. www.ummtto.dz/IM/pdf/MOUALEK-2.pdf.
- Lenoir J, Remeuf F et Schineid N. (2006). L'aptitude du lait à la coagulation par la présure. In : Eck A et Gillis JD (Eds.), Le fromage de la science à l'assurance-qualité. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris, pp. 229-253.

- Louadj L et Giuffrè A M. (2010). Analytical characteristics of olive oil produced with three different processes in Algeria. *Rivista Italia Sostanze Grasse*. **87**, 187-195.
- Luquet F M et Corrieu G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Edition : Tec. et Doc. Lavoisier. Paris. 306 p.
- Mahaut M, Jeantet R et Brule G. (2000). Initiation à la technologie fromagère. Edition : Tec. et Doc. Lavoisier. Paris. 194p.
- Manallah I et Dekhili M. (2011). Caractérisation morphologique des caprins dans la zone des hautes plaines de Sétif. *Agriculture*. **2**, 7-13.
- Makhloufi KM. (2011). Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique : *Leuconostoc pseudomesenteroides*. isolée du boza. Thèse de Doctorat de Biochimie. Université Pierre et Marie Curie. Ecole doctorale iViv. Paris. 228p.
- Melo B, Gomes A, Menteiro M, Teixeira S, Evandro L, Pereira C et Estevez M. (2013). Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goat's, cow's milk and their mixture. *LWT –Food Science and Technology*. **50**, 351-354.
- Michael J, Pelzar Jr et Chan ECS, (1982). Élément de microbiologie. Éditions HRW Itée. Montréal. 515 p.
- O.N.S. Office National des Statistiques. (2006). L'Algerie en queleques chiffres. N° 36. <http://www.ons.dz/-L-Algerie-en-Queleques-Chiffres-.html> (Accessed : 05 Mai 2014).
- Ouaouich A et Chimi H. (2007). Guide du producteur de l'huile d'olive. Edition : ONUDI. Vienne.36p.
http://www.unido.org/fileadmin/user_media/Publications/Pub_free/Guide_du_producteur_de_huile_olive.pdf. (Accessed: 24 Mars 2014).
- Pilet MF, Magras C et Federighi M (1995) Bactéries Lactiques. Manuel de Batériologie Alimentaire. *Journal of Food Protein*. **3**, 256-262.
- Ramet JP et Scher J. (1997). Propriétés physiques du coagulum. In: Eck A, Gillis JC. (Eds.), *Le fromage*. Tec. et Doc. Lavoisier. Paris.

- Remeuf F, Lenoir J et Duby C. (1989). Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*. **69**, 499-518.
- Raynal-Ljutovac K, Lagriffoul G, Paccard P, Guillet I et Chilliard Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*. **79**, 57-72.
- 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. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**, 8016-2023.
- Raynaud S. (2006). Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat de Microbiologie et Biocatalyse Industrielle. Université de Toulouse. Institut national des sciences appliquées. France. 272p.
- Ribeiro AC et Ribeiro SDA. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*. **89**, 225-233.
- Richard J et Auclair J. (1987). Le lait de fromagerie In: André ECK et Gillis JC. (Eds.), *Le fromage*. Tec. et Doc. Lavoisier. Paris. pp 126-133.
- Romero C, Medina E, Vargas J, Brenes M et de Castro A. (2007). *In vitro* activity of olive polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**, 680-686.
- Rosengren A, Lindblad M et Lindqvist R. (2013). The effect of undissociated lactic acid on *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin a production. *International Journal of Food Microbiology*. **162**, 159-166.
- St-Gelais D et Tirard-Collet P. (2002). Fromage. In: Lapoint-Vignola C.(Eds.), *Science et technologie du lait : Transformation du lait*. Presses Internationales, polytechniques, Québec, pp. 349-412.
- Salles C, Dalmas S, Septier C, Issanchou S, Noel Y, Etiévant P et Le Quéré JL. (1995). Production of a cheese model for sensory evaluation of flavour compounds. **75**, 535-549.

- Sirulin 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**, 994-1000.
- Soryal KA, Zeng SS, Min BR, Hart SP et Beyene FA. (2004). Effect of feeding systems on composition of goat milk and yield of Domiati cheese. Small Ruminant Research. **54**, 121- 129.
- Tamime AY. (2002). Microbiology of starter cultures. In: Robinson RK. (Eds.), Dairy microbiology handbook. John Wiley and Sons, New York, pp. 261-366.
- Ukeyima MT, Enujiugha VN et Sanni TA. (2010). Current applications of probiotic foods in Africa. African Journal of Biotechnology. **4**, 394-401.
- Veinoglou B, Baltadjieva M, Anifantakis E et Edgaryan M. (1982). La composition du lait de vache de la région de Plovidiv en Bulgarie et Ionnina en Grèce. Lait. **62**, 55-66.
- Wessels S, Lars A, Egon BH, Vuyst L, Sven L, L ahteenmaki L, Lindgren S, Beat M, Salminen S et Atte W. (2004). The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. Food Science and Technology. **15**, 498-505.
- Zeller B. (2005). Le fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques. Thèse de Doctorat de Sciences Vétérinaires. Université Paul-Sabatier de Toulouse. France. 78p.
- Zeng SS, Soryal K, Fekadu B, Bah B et Popham T. (2007). Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. Small Ruminant Research. **69**, 180-186.



Annexes

Annexes I : Composition des milieux de culture utilisés (Guiraud, 1998)

Tableau I: Chapman (pH 7,4). (Fluka)

Composition	Quantité (g/l)
Extrait de viande	1
Chlorure de sodium	75
Peptone	10
Agar	15
D Mannitol	10
Rouge de phénol	0,025
Eau	Qsp. 1 L

Tableau II : Gélose nutritive (pH 7,2). (Fluka)

Composition	Quantité (g/l)
Extrait de viande	5
Peptone	10
Chlorure de sodium	5
Agar	15
Eau	Qsp. 1 L

Tableau III : Bouillon MRS (pH 6,5). (Pronadise)

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Tween 80	1 ml
Phosphate di potassique	2
Acétate de sodium	5
Citrate tri-ammonique	2
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Eau	Qsp. 1 L

Ajouter 15 g/l d'agar pour avoir une gélose MRS

Tableau IV : Eau physiologique (pH 7)

Composition	Quantité (g/l)
Chlorure de sodium	9g
Eau	Qsp. 1 L

Tableau V : Milieu EMB (pH 7). (Pronadise)

Composition	Quantité (g /L)
Peptone	10
Lactose	10
Phosphate bipotassique	2
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	65
Agar	15
Eau	Qsp. 1L

Tableau VI : Viande-foie Sulfite (pH 7,2). (Institut de Pasteur)

Composition	Quantité (g/l)
Peptone viande-foie	30,0
Glucose	1,0
Amidon soluble	1,0
Sulfite de sodium	0,5
Citrate ferrique ammoniacal	0,5
Agar	8,0
Eau	Qsp. 1L

Tableau VII : Milieu SS (pH 7,3). (Pronadise)

COMPOSITION	Quantité (g/l)
Extrait de viande de bœuf	5,0
Peptone	5,0
Lactose	10,0
Sels biliaires	5,5
Citrate de sodium	10,0
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate ferrique	1,0
Vert brillant	0,00033
Rouge neutre	0,025
Agar	15,0
Eau	Qsp. 1L

Tableau VIII : Tryptone-sel (pH 7)

Composition	Quantité (g/l)
Tryptone	1
Sel	8.5

Annexe II : Fiche de dégustation

Age :

sexe :

M	F
---	---

date :

Trois échantillons de fromage frais vous sont présentés et codés A, B, C, il vous est demandé de les goûter et de donner une note de préférence générale se situant entre 1 et 9 pour chacun des échantillons.

a/ Préférence générale :

 A B C

b/ Descripteurs ayant motivés votre préférence : (mettre une croix dans la case correspondantes)

Echantillons Descripteurs	A	B	C
Ferme			
Mou			
Friable			
Visqueux			
Acide			
Amer			
Odeur de chèvre			
Odeur d'huile d'olive			

Barrer la mention inutile :

Q1 : Etes-vous un consommateur de fromage ? Oui Non

Q2 : Si oui est ce que c'est un fromage frais traditionnel ? Oui Non

Q3 : Etes-vous un consommateur d'huile d'olive ? Oui Non

Q4 : Quel est le caractère que vous n'avez pas apprécié le plus dans ces échantillons ?
Mentionnez-le.

Merci pour votre participation

Résumé

Cette étude a pour objectif la mise au point d'un fromage frais de chèvre conservé dans l'huile d'olive. Au cours de ce travail un fromage frais à base de lait de chèvre pasteurisé a été mis au point, en utilisant la coagulation mixte ; action combinée de la présure et des ferments lactiques (deux souches de *Lc. lactis* et une souche de *Lb. plantarum*). Le fromage obtenu est par la suite conservé dans de l'huile d'olive à température ambiante pendant une période de 30 jours, durant laquelle des analyses microbiologiques ont été effectuées avant et 7, 15 et 30 jours de conservation. Ce fromage a par la suite fait l'objet d'une évaluation sensorielle, dont l'ensemble des dégustateurs a apprécié l'aspect ferme et friable de ce fromage, par contre ils ont signalé une forte acidité et une présence d'une odeur de l'huile d'olive. Les résultats du suivi microbiologique, ont montré une réduction continue de la flore totale aérobie mésophile et une élimination totale des coliformes totaux et des staphylocoques au terme de la période de conservation.

A l'issue de ce travail, les résultats obtenus confirment l'effet antimicrobien et bioconservateur de l'huile d'olive et des ferments lactiques utilisés en prolongeant la durée de conservation de ce fromage frais à température ambiante.

Mots clés : Lait de chèvre, fromage de chèvre, huile d'olive, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*.

Abstract

This study is aimed at development of a fresh goat cheese preserved in olive oil. During this work a fresh pasteurized goat's milk cheese has been developed, using mixed coagulation; combined action of the rennet and lactic ferments (two *Lc. lactis* strains and one strain of a *Lb. plantarum*). The cheese obtained is subsequently retained in the olive oil for a period of 30 days, during which microbiological analyses were performed before and 7, 15 and 30 days of storage, this cheese was submitted to a sensory evaluation, which all tasters enjoyed the closed aspect and this cheese crumbly, however they reported high acidity and a presence of an odor of olive oil. The results of the microbiological monitoring, show a continuous reduction of the total flora and a total elimination of the coliforms and Staphylococci at the end of the preservation period.

At the end of this work, the results obtained confirm the antimicrobial and biopreservative effects of olive oil lactic acid bacteria strains.

Key words: Goat milk, goat cheese, olive oil, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*.