

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Domaine : S.N.V
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Production et Biotechnologie Animales



THÈSE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT 3ème CYCLE LMD

Présentée par : M. BEKIHAL Amin

THEME :

**Activités protéolytiques de la microflore lactique autochtone
d'un fromage de terroir J'ben « El Gafs » issu de laits
fromageables de la wilaya de Relizane**

Soutenue publiquement le : 01/10 /2026

Membres du jury :

CHERIGUENE Abderrahim	Pr	Université de Mostaganem	Président
TAHLAITI Hafida	M.C.A	Université de Mostaganem	Directrice de thèse
DOUKANI Koula	Pre	Université de Tiaret	Co-directrice de thèse
AIT SAADA Djamel	Pr	Université de Mostaganem	Examineur
TEFIANI Choukri	Pr	Université de Tlemcen	Examineur
DAHOU Abdelkader El-Amine	M.C.A	Université de Mostaganem	Invité d'honneur

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA)

Année universitaire 2025 - 2026

DEDICACES

*À la mémoire de mon père bien-aimé, BEKIHAL EL hebib — que Dieu ait son âme — qui a toujours rêvé de me voir atteindre ce jour et obtenir mon doctorat.
Son souvenir demeure ma plus grande source de motivation.*

À ma chère mère, pilier de ma vie, dont le soutien indéfectible et les sacrifices ont éclairé chacun de mes pas. Je prie Dieu de te préserver en bonne santé et de t'accorder une longue vie.

*À mon épouse Iness,
pour sa patience infinie, son soutien moral et ses encouragements constants.
Qu'elle trouve dans ce travail l'expression de ma profonde gratitude et de mon amour sincère.*

À mon frères Mohamed et mon cousin Abdelbasset et sœurs, pour leur affection, leur présence et leurs encouragements constants.

À mes collègues, ainsi qu'à tous ceux que j'aime, qui m'ont soutenue de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

À vous tous, j'exprime une gratitude infinie et profondément sincère.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant, qui m'a guidée et soutenue tout au long de ce parcours. Par Sa volonté, Il m'a accordé la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à vous exprimer, Docteur TAHLAITI Hafida, ma profonde et sincère gratitude pour l'honneur d'avoir dirigé cette thèse. Je vous remercie pour vos précieux conseils, votre soutien constant et votre accompagnement tout au long de ce parcours. Votre confiance et votre bienveillance ont largement contribué à l'aboutissement de ce travail.

Mes sincères remerciements à la Professeure DOUKANI Koula pour ses précieux conseils, son accompagnement et sa confiance tout au long de ce travail.

Je tiens à vous témoigner, Docteur DAHOU Abdelkader Elamine, ma haute considération et mon profond respect pour votre disponibilité constante et votre soutien permanent. Je vous remercie pour la richesse de votre expertise scientifique, dont j'ai grandement bénéficié durant la réalisation de cette thèse, ainsi que pour vos remarquables qualités humaines, vos conseils avisés et vos encouragements continus. Votre rigueur, votre disponibilité et votre bienveillance resteront pour moi une source d'inspiration.

Monsieur le Professeur CHERIGUENE Abderrahim, je vous adresse mes remerciements respectueux pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider le jury de cette thèse. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma très haute considération et de ma profonde reconnaissance.

Je tiens enfin à vous remercier vivement, Professeur AIT SAADA Djamel et Professeur TEFIANI Choukri, pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant d'examiner ce travail. Je vous suis reconnaissant pour le temps consacré à son évaluation et pour votre contribution précieuse, qui constitue pour moi un encouragement et un honneur.

Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à toute l'équipe de recherche du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale pour son soutien constant tout au long du déroulement de mon projet doctoral. Votre disponibilité, votre esprit de collaboration et votre aide précieuse ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.

Je remercie chaleureusement l'ensemble des doctorants et doctorantes, ainsi que Monsieur BENHARRAT Nouredine, ingénieur du laboratoire des Sciences et Techniques de

Production Animale de Hassi Mamèche, pour leur aide, leur bienveillance et l'excellent climat de travail qu'ils ont su instaurer.

Je tiens enfin à exprimer ma reconnaissance à toutes celles et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette thèse. Leur soutien, sous quelque forme qu'il soit, a été pour moi d'une valeur inestimable.

Résumé

Le fromage « El Gafs », produit phare du patrimoine de Boussaâda, tire sa typicité d'un écosystème microbien complexe encore méconnu. Cette thèse explore le potentiel biotechnologique des bactéries lactiques (BL) autochtones de ce fromage afin d'en transférer les caractéristiques qualitatives vers le bassin laitier de Relizane. La démarche repose sur une approche comparative articulée en trois étapes. En premier lieu, une étude de la fromageabilité des laits régionaux a été couplée à l'isolement et à l'identification phénotypique, génotypique et technologique des souches de BL issues d'El Gafs. L'accent a été mis sur la caractérisation des isolats à haute activité protéolytique, acteurs clés de la texture et de l'arôme. Dans un deuxième temps, les aptitudes enzymatiques ont été évaluées *in vitro* et corrélées aux cinétiques d'affinage, notamment par le suivi du ratio azote soluble/azote total. Enfin, la phase expérimentale a consisté en la fabrication de trois types de fromages : une préparation native (lait de Relizane), une standardisée (lait reconstitué et flore contrôlée) et une typique (procédé de Boussaâda). Cette étude révèle une corrélation étroite entre l'ancrage géographique et l'aptitude à la transformation des laits crus de la région de Relizane. L'originalité de la recherche réside dans l'identification d'un écosystème microbien spécifique, dominé par les genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*, dont les performances fonctionnelles, notamment une densité de 40 % de bactéries acidifiantes et 32 % de protéolytiques, assurent une cinétique fermentaire optimale. L'analyse technologique établit une hiérarchie territoriale où le pôle de Mazouna émerge comme un terroir d'excellence (indices de 1,0 à 1,15), suivi par Djidiouia et Oued Rhiau. Cette supériorité ne dépend pas de la race bovine, mais d'un effet « terroir » multidimensionnel où le climat, la nature des fourrages et les pratiques d'élevage façonnent le potentiel enzymatique endogène. La variabilité des taux d'azote soluble (6,88 % à 7,35 %) témoigne de l'activité protéolytique exceptionnelle des souches indigènes, ouvrant des perspectives majeures pour la standardisation de ferments locaux et la valorisation de produits fromagers de spécialité à forte identité territoriale. Cette étude transcende l'apparente dichotomie entre conservation du patrimoine microbiologique et impératifs de modernisation de la filière laitière algérienne. En explorant le nexus entre le fromage El Gafs préparé et le J'ben El Gafs typique de Boussaâda, la recherche démontre que l'hétérogénéité des écosystèmes locaux n'est pas un aléa à réduire, mais le vecteur fondamental de l'identité sensorielle. L'analyse comparative de trois protocoles de transformation révèle qu'une cinétique de maturation prolongée (J+21) catalyse une activité protéolytique différenciée : les protéases indigènes y sculptent une architecture biochimique complexe, inaccessible aux processus de standardisation conventionnelle. L'originalité majeure de ce travail réside dans la formulation d'un modèle de "standardisation endogène". Plutôt que de recourir à des ferments exogènes uniformisateurs, l'étude propose de mobiliser le microbiote natif comme agent de bio-protection et de fermentation. Cette approche novatrice permet de concilier sécurité sanitaire et signature organoleptique, érigeant la biodiversité microbienne en levier d'innovation technologique. In fine, la valorisation des ressources laitières algériennes se dessine à travers une maîtrise technique qui ne cherche plus à dominer le vivant, mais à sanctuariser l'empreinte originelle du terroir.

Mots-clés : El Gafs, Bactéries lactiques, Protéolyse, Affinage, Terroir, Microbiologie fromagère, Biodiversité microbienne, Fermentation lactique, Standardisation.

Abstract

El Gafs cheese, a flagship product of Boussaâda's heritage, derives its distinctive characteristics from a complex microbial ecosystem that is still poorly understood. This thesis explores the biotechnological potential of the lactic acid bacteria (LAB) native to this cheese with a view to transferring its qualitative characteristics to the Relizane dairy basin. The approach is based on a comparative method divided into three stages. First, a study of the cheese-making potential of regional milks was combined with the isolation and phenotypic, genotypic, and technological identification of LAC strains from El Gafs. Emphasis was placed on characterizing isolates with high proteolytic activity, which are key factors in texture and aroma. In a second stage, enzymatic abilities were evaluated in vitro and correlated with ripening kinetics, in particular by monitoring the soluble nitrogen/total nitrogen ratio. Finally, the experimental phase consisted of producing three types of cheese: a “native” preparation (Relizane milk), a ‘standardized’ preparation (reconstituted milk and controlled flora), and a “typical” preparation (Boussaâda process). This study reveals a close correlation between geographical location and the suitability of raw milk from the Relizane region for processing. The originality of the research lies in the identification of a specific microbial ecosystem, dominated by the genera *Lactococcus*, *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, whose functional performance, notably a density of 40% acidifying bacteria and 32% proteolytic bacteria, ensures optimal fermentation kinetics. Technological analysis establishes a territorial hierarchy in which the Mazouna area emerges as a terroir of excellence (indices of 1.0 to 1.15), followed by Djidiouia and Oued Rhiou. This superiority does not depend on the breed of cattle, but on a multidimensional “terroir” effect where climate, forage type, and farming practices shape endogenous enzymatic potential. The variability in soluble nitrogen levels (6.88% to 7.35%) reflects the exceptional proteolytic activity of indigenous strains, opening up major prospects for the standardization of local ferments and the promotion of specialty cheese products with a strong regional identity. This study transcends the apparent dichotomy between preserving microbiological heritage and the need to modernize the Algerian dairy industry. By exploring the nexus between El Gafs cheese and the typical J'ben El Gafs cheese from Boussaâda, the research demonstrates that the heterogeneity of local ecosystems is not a hazard to be reduced, but rather the fundamental vector of sensory identity. A comparative analysis of three processing protocols reveals that prolonged maturation kinetics (D+21) catalyze differentiated proteolytic activity: indigenous proteases sculpt a complex biochemical architecture that is inaccessible to conventional standardization processes. The major originality of this work lies in the formulation of an “endogenous standardization” model. Rather than resorting to uniformizing exogenous ferments, the study proposes to mobilize the native microbiota as an agent of bioprotection and fermentation. This innovative approach reconciles health safety and organoleptic signature, establishing microbial biodiversity as a lever for technological innovation. Ultimately, the promotion of Algerian dairy resources is taking shape through technical expertise that no longer seeks to dominate living organisms, but rather to preserve the original imprint of the terroir.

Keywords: El Gafs, Lactic acid bacteria, Proteolysis, Maturation, Terroir, Cheese microbiology, Microbial biodiversity, Lactic fermentation, Standardization.

ملخص

يستمد جبن "القفص"، المنتج الرئيسي لثراث منطقة بوسعادة، خصائصه المميزة من نظام بيئي معقد من الكائنات الحية الدقيقة لا يزال مجهولاً. تستكشف هذه الأطروحة الإمكانيات التكنولوجية الحيوية للبكتيريا اللبنية (BAL) الأصلية في هذا الجبن من أجل نقل خصائصه النوعية إلى حوض الألبان في منطقة غليزان. وتستند هذه الدراسة إلى نهج مقارن يتألف من ثلاث مراحل. في البداية، تم إجراء دراسة حول قابلية الحليب المحلي للتحويل إلى جبن، إلى جانب عزل وتحديد السمات الظاهرية والوظيفية والوراثية والتكنولوجية لسلاسل البكتيريا اللبنية المستخلصة من جبن "القفص". وقد تم التركيز على توصيف العزلات ذات النشاط البروتيني العالي، وهي العوامل الرئيسية التي تؤثر على الملمس والرائحة. في المرحلة الثانية، تم تقييم القدرات الإنزيمية في المخبر وربطها بعمليات النضج، لا سيما من خلال متابعة نسبة النيتروجين القابل للذوبان/النيتروجين الكلي. وأخيراً، تمثلت المرحلة التجريبية في تصنيع ثلاثة أنواع من الجبن: تحضير "أصلي" (حليب من منطقة غليزان)، و"معياري" (حليب معاد تكوينه مع بكتيريا اللبنية خاضعة للرقابة) و"نموذجي" (لمنطقة بوسعادة). تكشف هذه الدراسة عن وجود علاقة وثيقة بين الترسخ الجغرافي والقدرة على تحويل الحليب الخام في منطقة غليزان. تكمن أصالة البحث في تحديد نظام بيئي ميكروبي محدد، تهيمن عليه أنواع *Lactococcus*، *Lactobacillus* و *Leuconostoc*، التي تضمن أدائها الوظيفي، ولا سيما كثافة 40% من البكتيريا الحمضية و 32% من البروتينية، تحقيق حركية تخمير مثالية. يحدد التحليل التكنولوجي تسلسلاً إقليمياً يبرز فيه مازونة كمنطقة متميزة (بمؤشرات من 1,0 إلى 1,15)، تليها جديوية ووادي ارهيو. لا يعتمد هذا التفوق على سلالة الأبقار، بل على تأثير "المناطق"، متعدد الأبعاد حيث يشكل المناخ وطبيعة الأعلاف وممارسات تربية الماشية الإمكانيات الإنزيمية الداخلية. وتشهد تباين معدلات النيتروجين القابل للذوبان (6,88% إلى 7,35%) على النشاط البروتيني الاستثنائي للسلاسل المحلية، مما يفتح آفاقاً كبيرة لتوحيد المزارع المحلية وتسويق منتجات الألبان المتخصصة ذات الهوية الإقليمية القوية. تتجاوز هذه الدراسة الثنائية الظاهرة بين الحفاظ على التراث الميكروبيولوجي ومتطلبات تحديث قطاع الألبان الجزائري. من خلال استكشاف الصلة بين جبن القفص المحضر وجبن القفص النموذجي لمنطقة بوسعادة، تثبت الأبحاث أن عدم تجانس النظم البيئية المحلية ليس عاملاً عشوائياً يجب الحد منه، بل هو عامل أساسي في الهوية الحسية. يكشف التحليل المقارن لثلاثة بروتوكولات التحضير أن حركية النضج المطولة (J+21) تحفز نشاطاً بروتينياً متميزاً: حيث تشكل البروتينات المحلية بنية كيميائية حيوية معقدة، لا يمكن الوصول إليها من خلال عمليات التوحيد القياسية التقليدية. تكمن الأصالة الرئيسية لهذا العمل في صياغة نموذج "التوحيد القياسي الداخلي". بدلاً من اللجوء إلى الإنزيمات الخارجية الموحدة، تقترح الدراسة استخدام الميكروبات المحلية كعامل للحماية البيولوجية وكذا لاتقان التخمير. تسمح هذه المقاربة المبتكرة بالتوفيق بين السلامة الصحية والخصائص الحسية، مما يجعل التنوع البيولوجي الميكروبي رافعة للابتكار التكنولوجي في الختام، يتجلى تقييم الموارد اللبنية الجزائرية من خلال مهارات إنتاجية دقيقة، لا تهدف إلى السيطرة على الكائنات الحية الدقيقة، بل إلى صون البصمة الأصلية للمنتج والحفاظ على نوعيته وجودته.

الكلمات المفتاحية :

القفص، البكتيريا اللاكتية، البروتينات، النضج، أصل المنتج، علم الأحياء الدقيقة في صناعة الجبن، التنوع البيولوجي الميكروبي، التخمير اللاكتي، التوحيد.

ⁱ Liste des Figures

Figure 1. Métabolisme glucidique des bactéries lactiques (Bulut, 2003).....	7
Figure 2. Observations en cryo-microscopie électronique à balayage (cryo-MEB) des globules de matière grasse du lait (Gr 10 000x) (Luo et al., 2014)	8
Figure 3. Analyse par MEB des micelles de caséine issues du lait de vache	14
Figure 4. Aspect microscopique des lactobacilles (Gr 10 000x)	24
Figure 5. Arbre phylogénétique des différents genres des bactéries lactiques.....	25
Figure 6.Morphologie de <i>Lactobacillus acidophilus</i> obtenues par MEB (Gr×7000)	27
Figure 7. Aspect microscopie de <i>Lactobacillus plantarum</i> obtenues par MEB (Gr 10 000x).....	27
Figure 8. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie des cellules de <i>Lactococcus lactis</i> (Gr 10 000x) (Grossiord et al., 2003)	29
Figure 9. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie des cellules de <i>Lactococcus lactis</i> (Gr 10 000x).....	29
Figure 10. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie de Croissance des cellules de <i>Pediococcus acidilactici</i> MK20 sur milieu MRS, à 37°C pendant 18 heures (Gr 10 000x) (Herdian et al., 2018).....	30
Figure 11.Micrographies obtenues par (MEB) de la souche DSM 20083 (<i>Bifidobacterium. Adolescentis</i>) (Gr 10 000x) (Dhanashree et al., 2017).	33
Figure 12. Fromage Mechouna (Derouiche et Zidoune, 2015)	47
Figure 13. Fromage J’ben El Gafs (Saidane, 2022)	49
Figure 14. Observation en (MEB) du réseau protéique (gel de caséine) tridimensionnel obtenu à partir de laits présentant différentes tailles de micelles. À gauche : petites micelles ; à droite : grandes micelles (Gr : 10 000×) (Hristov et al., 2016).....	53
Figure 15. Localisation de la wilaya de Relizan.....	62
Figure 16. Positionnement géographique des sites d’échantillonnage	63
Figure 17. Représentation du protocole expérimental	66
Figure 18. Appareil Lactoscan SP destiné à l’évaluation rapide des paramètres du lait.....	71
Figure 19. Schéma technologique de la fabrication du fromage J’ben El Gafs	88
Figure 20. Traitement des Caractéristiques Clés de l’Aptitude Fromagère : Taux de Caséine et Rapport MG/MP	103
Figure 21. Répartition de la flore lactique par région.....	109
Figure 22. Répartition de la flore acidifiante (<i>Lactococcus</i> et <i>Leuconstocs</i>) par région.....	109
Figure 23. Répartition de la flore protéolytique (<i>Lactobacillus</i>) par région	110
Figure 24. Répartition de la flore technologique identifiée dans l’étude régionale	111
Figure 25. Distribution des souches lactiques retenues par région	112
Figure 26. Aspect macroscopique avant et après purification	118
Figure 27. Aspect microscopique avant, après purification et coloration des Gram	119
Figure 28. Résultats phénotypiques des bactéries lactiques	122

Figure 29. Profil fermentaire de la souche I30 et I29 obtenu à l'aide de la galerie API 50 CHL	128
Figure 30. Profil fermentaire de la souche M27 obtenu à l'aide de la galerie API 50 CHL et confirmé par PCR.....	128
Figure 31. L'isolat A70 a été caractérisé comme appartenant au l'espèce <i>Lactobacillus pentosus</i> , avec un niveau de similarité de 95,2 % selon le logiciel d'identification.....	128
Figure 32. Profile de bande de (GTG) ₅ PCR pour <i>Lactobacillus acidophilus</i>	130
Figure 33. Profile de bande de (GTG) ₅ -PCR pour <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	130
Figure 34. Profile de fingerprinting génomique obtenus par (GTG) ₅ -PCR correspondant à <i>Levilactobacillus brevis</i>	131
Figure 35. Profil de fingerprinting génomique obtenus par (GTG) ₅ -PCR correspondant à <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	132
Figure 36. Gel d'électrophorèse des produits de la (GTG) ₅ -PCR correspondant à <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	132
Figure 37. Arbre phylogénétique des cinq souches identifiées, établi à partir des séquences des amorces, selon la méthode Maximum de Vraisemblance (Maximum Likelihood) à l'aide du logiciel MEGA 12	133
Figure 38. Evaluation du pH flore acidifiantes après 24 heures d'inoculation	136
Figure 39. Courbes du suivie de l'évolution du l'acidité de la flore acidifiantes après 24 heures d'inoculation	136
Figure 40. Evaluation du pH de la flore protéolytique après 24 heures d'inoculation	138
Figure 41. Courbes du suivie de l'évolution du l'acidité de la flore protéolytique après 24 heures d'inoculation	138
Figure 42. Aspects des colonies obtenues pour les souches productrices des EPS	140
Figure 43. Biosynthèse de l'acétoïne chez les bactéries lactiques	141
Figure 44. Activité protéolytique des quelques bactéries lactiques sur milieu PCA – lait 10%, 5%, 3 et 1%.	144
Figure 45. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Mazouna en ambiance d'affinage contrôlée	152
Figure 46. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Djidiouia en ambiance d'affinage contrôlée	153
Figure 47. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager d'Oued Rhiou en ambiance d'affinage contrôlée	153
Figure 48. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Zemmora en ambiance d'affinage contrôlée	154
Figure 49. Cinétique de la protéolyse durant l'affinage pour les fromages des 4 régions.....	157
Figure 50. Comparaison de l'indice de protéolyse, du G/S et de la note sensorielle pour les trois types de fromages	169

Liste des Tableaux

Tableau 1. Protéines du lait (Cayot et Lorient,1998 ; Fayolle, 2015)	9
Tableau 2. Fonctions principales des protéines solubles mineures du lait	10
Tableau 3. Caractérisation de genres importants de BAL	23
Tableau 4. Comparaison des capacités acidifiantes des principaux genres de bactéries lactiques	34
Tableau 5. Facteurs clés de la fabrication fromagère et impact sur l'égouttage	38
Tableau 6. Salage et teneur en sel des fromages : méthodes et impact	39
Tableau 7. Seuils d'inhibition des microflore selon la concentration en sel	40
Tableau 8. Étapes et transformations majeures durant l'affinage.....	42
Tableau 9. Impact de des facteurs technologiques et métaboliques sur la protéolyse primaire	52
Tableau 10. Synthèse des effets de la protéolyse primaire sur le fromage	54
Tableau 11. Impact de la température d'affinage sur la protéolyse et la qualité.....	56
Tableau 12. Effets de la protéolyse secondaire sur les propriétés du fromage	58
Tableau 13. Séquences des amorces spécifiques utilisées pour la réaction de REP-PCR	79
Tableau 14. La composition du Mélange réactionnel de la PCR	80
Tableau 15. Souches de références ATCC utilisées (en utilisant les séquences de leurs gènes 16S rRNA) (Fab : 18/11/2024 DLU : 17/11/2026).....	82
Tableau 16. Composition du microbiote sélectionné pour l'essai technologique	87
Tableau 17. Résidus d'antibiotiques détectés au niveau des laits par zone d'étude	93
Tableau 18. Caractéristiques physico-chimiques moyennes des laits par zone d'étude	94
Tableau 19. Résultats des tests ANOVA pour les critères de fromageabilité	101
Tableau 20. Incidence moyenne des bactéries lactiques isolées des laits durant les 03 périodes de lactation	105
Tableau 21. Comparaison des données sur la diversité microbienne.....	113
Tableau 22. Effectifs observés des souches bactériennes par région.....	115
Tableau 23. Effectifs attendus des souches technologiques (acidifiantes vs protéolytiques) par région....	116
Tableau 24. Résultats des analyses physiologiques et biochimiques des souches.....	125
Tableau 25. Résultats de l'identification des produits de la pcr (profils GTG ₅ -PCR)	133
Tableau 26. Résultats du pouvoir protéolytique des souches sur différentes concentrations de lait (10 %, 5 %, 3 % et 1 %)	143
Tableau 27. Ration de l'azote total (NT) et de l'azote soluble (NS) en % durant l'affinage pour les pâtes fromagères des 4 régions	147
Tableau 28. Qualité sensorielle : Résultats du test de dégustation.....	159
Tableau 29. Analyse Comparative des Variantes de Production du Fromage J'ben El Gafs.....	161
Tableau 30. Synthèse de l'analyse comparative entre le modèle technologique contrôlé et l'affinage prolongé du fromage traditionnel de Boussaâda	163

Liste des abréviations

ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AGL : Acides gras libres

NT : Azote Total

NS : Azote Soluble

ANP : Azote non protéique

AP: Azote protéique

A.O.P : Appellation d'origine protégée

ARN : Acide ribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

ARNr 16S : ARN ribosomique 16S

Aw : Activité de l'eau (*water activity* en anglais)

BAL : Bactéries lactiques

cm : centimètre

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

°C : Le degré Celsius

CO₂: Le dioxyde de carbone

CV : Composés volatils

°D : Le degré Dornic

EPS : Exopolysaccarides

E.S.T : Extrait sec total

E.S.D : Extrait sec dégraissé

F.A.O : Food and Agriculture Organisation : Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture

FIL : Fédération Internationale de Lait

g/L : Grammes par litre

G+C : Guanine + Cytosine

H.R : Humidité relative

INATAA : Institut National de Nutrition & Technologie Alimentaire

Kcal : Kilocalorie

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

MGES : Matière Grasse dans Extrait Sec

Mbp : million de paires de bases

N.S.L.A.B : Non Starter Lactic Acid Bacteria

NT : Azote Total

NS : Azote Soluble

LSTPA : Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale

MEB : Microscopie électronique à balayage

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

pH: potentiel hydrogène

Phe105-Met106: Phénylalanine (105) et Méthionine (106)

REP-PCR : Repetitive element polymerase chain reaction (pour l'empreinte ADN)

SCC : Somatic cell counts

Spp : Espèce

Sp : Sous espèce TEFD : Pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé

THI : Temperature Humidity Index, TP: le taux protéique

µm : Le micromètre

UFC: Unité Formant Colonie

UHT: Ultra-High Temperature

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Table des matières	

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie I : Étude bibliographique

Chapitre I : Composition et structure du lait

I.1. Définition du lait	4
I.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	4
I.2.1. Paramètres physiques.....	4
I.2.1.1. Densité	5
I.2.1.2. Acidité.....	5
I.2.1.3. pH.....	5
I.2.1.4. Point de congélation.....	5
I.2.2. Paramètres biochimiques du lait.....	6
I.2.2.1. Eau	6
I.2.2.2. Glucides	6
I.2.2.3. Matières grasses.....	8
I.2.2.4. Matières protéiques	9
I.2.2.4.1. Protéines solubles.....	10
I.2.2.4.1.1. Protéines solubles mineures	10
I.2.2.4.1.2. Protéines solubles majeures	11
β-lactoglobuline	11
α-lactalbumine.....	11
I.2.2.4.2. Protéines insolubles	12

I.2.2.4.2.1. Caséine α_1	12
I.2.2.4.2.2. Caséine α_2	12
I.2.2.4.2.3. Caséine β	13
I.2.2.4.2.4. Caséine κ	13
I.2.2.4.2.5. Caséine γ	13
I.2.2.4.2.6. Micelle de caséine	13
I.2.2.4.2.7. Propriétés des caséines	14
I.2.3. Eléments minéraux	15
I.2.4. Vitamines	15
I.2.5. Enzymes	15
I.2.5.1. Plasmin	16
I.2.5.2. Lipoprotéine lipase	16
I.2.5.3. Phosphatase alcaline	16
I.2.5.4. Lactopéroxydase	16
I.3. Écosystème microbien laitier d'intérêt	17
I.3.1. Flore originelle présente dans la mamelle	17
I.3.2. Flore exogène de contamination	18
I.3.3. Multiplication de la flore originelle et exogène	18
I.3.3.1. Flore psychrotrophe	18
I.3.3.2. Flore lactique	19
I.3.3.3. Flore thermorésistante	20
I.3.3.4. Flore pathogène	21

Chapitre II : Les bactéries lactiques

II.1. Définition des bactéries lactiques	22
II.2. Généralités sur les bactéries lactiques	22
II.3. Classification taxonomique des BAL	23
II.4. Principaux genres des bactéries lactiques	25
II.4.1. <i>Lactobacillus</i>	25
II.4.2. <i>Lactococcus</i>	28
II.4.3. <i>Enterococcus</i>	29

II.4.4. <i>Pediococcus</i>	30
II.4.5. <i>Leuconostoc</i> , <i>Weissella</i> et <i>Oenococcus</i>	30
II.4.5.1 Taxonomie et évolution	31
II.4.5.2. Caractéristiques écologiques et métaboliques	31
II.4.6. <i>Streptococcus</i>	32
II.4.7. Bifidobactéries	32
II.5. Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques	33
II.5.1. Pouvoir acidifiant	33
II.5.2. Pouvoir protéolytique	34
II.5.3. Pouvoir lipolytique	34
II.5.4. Pouvoir aromatisant.....	35
II.5.5. Pouvoir texturant	36
II.5.6. Pouvoir antimicrobien	36

Chapitre III : Fabrication Fromagère

III.1. Définition du fromage	37
III.2. Principales étapes de la fabrication du fromage	37
III.2.1. Coagulation du lait	37
III.2.1.1. Coagulation enzymatique	37
III.2.1.2. Coagulation acide	38
III.2.2. Egouttage du caillé.....	38
III.2.2.1. Facteurs influençant l'égouttage	38
III.2.2.1.1. Facteurs directs (mécaniques et thermiques).....	38
III.2.2.1.2. Facteurs indirects (acidification, coagulation enzymatique)	39
III.2.2.1.3. Facteurs liés à la matière première	39
III.2.3. Salage	39
III.2.3.1. Méthodes du salage	39
III.2.3.1.1. Salage en saumure (brining)	39
III.2.3.1.2. Salage à sec (dry salting)	40
III.2.3.1.3. Salage en masse	40
III.2.3.2. Effets du sel sur la croissance microbienne.....	40
III.2.3.2.1. Bactéries lactiques (levains)	40
III.2.3.2.2. Levures et moisissures	41

III.2.3.2.3. Autres bactéries	41
III.2.4. Affinage des fromages	41
III.2.5. Rôle de la flore microbienne et des conditions d'affinage.....	42
III.3. Fabrication fromagère à caractère lactique.....	43
III.3.1. Préparation et standardisation du lait	43
III.3.1.1. Sélection et Prétraitement.....	43
III.3.1.2. Conditionnement Thermique.....	43
III.3.2. Ensemencement et acidification.....	43
III.3.2.1. Sélection des Ferments	43
III.3.2.2. Techniques d'ensemencement.....	44
III.3.2.3. Coagulation lactique.....	44
III.3.2.4. Traitement du caillé.....	44
III.3.3. Techniques de Salage.....	44
III.3.4. Conditions d'Affinage	44
III.3.5. Analyse sensorielle.....	45
III.4. Fromages traditionnels algériens	45
III.4.1. Jben (Aguissi)	45
III.4.2. Klila.....	46
III.4.3. Adhghass.....	46
III.4.4. Kemariya (Takemmarite).....	47
III.4.5. Mechouna (Chnina)	47
III.4.6. Ioulsân (Aoules).....	48
III.4.7. Takammart	48
III.4.8. Medghissa	48
III.4.9. J'ben El Gafs.....	48
III.4.10. Bouhezza.....	49

Chapitre IV: Activité protéolytique en fromagerie

IV.1. Protéolyse primaire.....	50
IV.1.1. Mécanismes de la protéolyse primaire.....	50
IV.1.1.1. Nature et structure des caséines	50
IV.1.1.2. Structure moléculaire des caséines.....	50

IV.1.1.3. Action des enzymes	51
IV.1.2. Facteurs influençant la protéolyse primaire.....	52
IV.1.2.1. Facteurs technologiques	53
IV.1.2.2. Facteurs biochimiques.....	53
IV.1.3. Conséquences sur les propriétés sensorielles et structurales du fromage	53
IV.2. Protéolyse secondaire	54
IV.2.1. Origine des enzymes.....	55
IV.2.2. Facteurs influençant la protéolyse secondaire	55
IV.2.2.1. Influence de la composition du lait	55
IV.2.2.2. Effet des paramètres technologiques.....	56
IV.2.2.3. Influence de la flore microbienne	57
IV.2.2.4. Paramètres d'affinage et environnement.....	57
IV.2.3. Conséquences sur les propriétés sensorielles et structurales du fromage	58
IV.2.3.1. Texture	58
IV.2.3.2. Saveur et arôme.....	59
IV.2.3.3. Couleur.....	59
IV.3. Maîtrise des systèmes protéolytiques des BAL	59
IV.3.1. Optimisation des milieux de culture	60
IV.3.2. Technologies de capteurs.....	60
IV.3.3. Génomique et transcriptomique.....	60
IV.3.4. Protéomique et métabolomique	60

Partie II : Étude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Cadre et objectifs de l'étude.....	61
I.1.1. Cadre de l'étude.....	61
I.1.2. Objectifs de l'étude	61
I.2. Présentation de la région.....	62
I.3. Critères de choix des exploitations	64

I.4. Prospection de terrain	64
I.5. Techniques d'échantillonnage et procédures d'analyses de la qualité	65
I.6. Lait	67
I.6.1 Test de détection des antibiotiques	67
I.6.2. Détermination des paramètres physicochimiques	68
I.6.2.1. Détermination des paramètres physiques.....	68
I.6.2.1.1. Potentiel hydrogène	68
I.6.2.1.2. Acidité titrable	69
I.6.2.1.3. Densité.....	69
I.6.2.2. Détermination des paramètres biochimiques	69
I.6.2.2.1. Description de l'appareil	70
I.6.2.2.2. Principe de mesure	70
I.6.3. Analyses microbiologiques.....	71
I.6.3.1. Préparation des dilutions	71
I.6.3.2. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)	72
I.6.3.3. Dénombrement et isolement de la flore lactique	72
I.6.3.3.1. Purification.....	73
I.6.3.3.2. Etude morphologique	73
I.6.3.3.2.1. Examen macroscopique.....	73
I.6.3.3.2.2. Examen microscopique	73
I.6.3.3.3. Test de catalase	73
I.6.3.3.4. Coloration de Gram.....	73
I.6.3.3.5. Conservations des souches.....	74
I.6.3.3.5.1. Conservation à courte durée	74
I.6.3.3.5.2. Conservation longue durée.....	74
I.6.3.3.6. Identification des isolats lactiques.....	74
I.6.3.3.6.1. Identification phénotypique	74
f. Hydrolyse de l'esculine	76
I.6.3.3.6.2. Identification génotypique des isolats purifiés.....	77
a. Extraction de l'ADN.....	78
b. Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par spectrophotométrie.....	79

c. Amplification de L'ADN par REP-PCR.	79
d. Électrophorèse sur gel d'agarose	80
e. Visualisation.....	81
I.6.4. Test des aptitudes technologiques des souches lactiques	82
I.6.4.1. Pouvoir acidifiant.....	82
I.6.4.1.1 Activité acidifiante	82
I.6.4.1.2. Cinétique d'acidité	83
I.6.4.2. Pouvoir protéolytique.....	83
I.6.4.3. Pouvoir aromatisant	83
I.6.4.4. Pouvoir texturant.....	84
I.6.5. Critères de choix des BAL à caractère protéolytique	84
I.6.5.1. Critères de sélection.....	84
a) Tests morphologiques et tinctoriels	84
b) Tests fonctionnels des bactéries lactiques.....	85
c) Tests de protéolyse	85
d) Tests de sélectivité et de fermentation	85
I.7. Fromage J'ben El Gafs.....	85
I.7.1. Échantillonnage des laits et période de prélèvement.....	85
I.7.2. Fabrication du fromage J'ben El Gafs	85
I.7.2.1. Déroulement.....	85
I.7.2.2. Essai de fabrication du j'ben El Gafs à partir du lait de vache	86
I.7.2.3. Essai de fabrication du j'ben El Gafs avec un microbiote contrôlé.....	86
I.7.3. Analyses physicochimiques des fromages j'ben El Gafs	88
I.7.3.1. Potentiel hydrogène	89
I.7.3.2. Teneur en eau et matière sèche (MS).....	89
I.7.3.3. Matière grasse (MG)	89
I.7.3.4. Matière protéique	89
I.7.4. Caractérisation de l'activité protéolytique et dynamique des fractions azotées.....	89
I.7.4.1. Évolution de l'azote soluble par rapport à l'azote total	90
a. Azote total : (Représente la quantité de protéines présentes dans le fromage, qui reste relativement constante pendant l'affinage).....	90
b. Azote soluble : (Représente les peptides et les acides aminés libérés par la protéolyse).	90

c. Rapport Azote soluble/Azote total	90
I.7.5. Analyse sensorielle des fromages J'ben El Gafs	91
I.8. Analyse statistique	91

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Critères de fromageabilité des laits	92
II.1.1. Résidus d'antibiotiques	92
II.1.2. Qualité physico-chimiques des laits par zone d'étude	93
II.1.2.1. Extrait sec total	95
II.1.2.2. pH	95
II.1.2.3. Matière grasse	96
II.1.2.4. Matière protéique	97
II.1.2.5. Lactose	98
II.1.2.6. Teneur en matière minérale	99
II.1.2.7. Taux de mouillage	99
II.1.2.8. Analyse statistique de la fromageabilité des laits	100
II.1.2.8.1. Corrélation entre la composition du lait et le type de fromage	103
II.1.2.8.2. Signification des différences régionales	103
II.1.2.8.3. Implications technologiques	104
II.1.2.8.4. Suggestions pour l'amélioration de la qualité fromagère	104
II.2. Qualité microbiologiques des laits	105
II.2.1. Analyse comparative de la charge bactérienne totale et de la flore lactique dans les différentes régions d'étude	105
II.2.2. Amélioration de la diversité microbienne pour la valorisation technologique	113
II.2.2.1. Restauration et extension des pâturages	113
II.2.2.2. Rééquilibrage alimentaire	113
II.2.2.3. Gestion adaptée et suivi rigoureux	113
II.2.3. Etude statistique de la diversité bactérienne	114
II.2.4. Caractérisation phénotypiques des souches d'intérêt technologique	118
II.2.4.1. Critères morphologiques	118
II.2.4.2. Approche phénotypique (tests physiologiques et biochimiques)	119
II.2.4.2.1. Flore protéolytique (Genre <i>Lactobacillus</i>)	119

II.2.4.2.2. Flore acidifiantes (Genre <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>)	122
II.2.4.3. Approche moléculaire pour l'identification des isolats	129
II.2.4.3.1. Analyse évolutive par la méthode du Maximum de Vraisemblance	134
II.2.5. Caractérisation des aptitudes technologiques des souches lactiques isolées.....	135
II.2.5.1. Pouvoir acidifiant	135
II.2.5.1.1. Flore acidifiantes (Genre <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>)	135
II.2.5.1.2. Flore protéolytique (Genre <i>Lactobacillus</i>).....	137
II.2.5.2. Évaluation du potentiel texturant et biosynthèse des exopolysaccharides (EPS)	139
II.2.5.2.1. Diversité fonctionnelle au sein de la flore acidifiante (<i>Lactococcus</i> et <i>Leuconostoc</i>)	139
II.2.5.2.2. Prédominance du caractère mucoïde chez la flore protéolytique (<i>Lactobacillus sensu lato</i>).....	139
II.2.5.3. Aptitude à la biosynthèse des composés aromatiques	140
a) Sélection des souches d'intérêt et divergence métabolique.....	140
b. Identification de souches candidates à haut potentiel industriel.....	141
II.2.5.4. Évaluation du potentiel protéolytique et dynamique enzymatique.....	141

II. 3. Variabilité régionale et cinétique d'affinage : Analyse de la protéolyse des pâtes fromagères au fil de la lactation

II. 3.1. Évolution des ratios NT et NS.....	148
II. 3.1.1. Évolution de l'azote total (NT)	148
II. 3.1.2. Évolution de l'azote soluble (NS)	149
II. 3.2. Analyse des différences régionales	149
II. 3.3. Influence sur le rendement fromager contrôlé	150
II. 3.4. Signe des pratiques d'élevage et de conduite du cheptel	151
II.3.5. Cinétique d'acidification et de protéolyse.....	152
II.3.5.1. Cinétique d'acidification en conditions d'affinage contrôlées	152
II.3.5.1.1. Contrôle des paramètres d'affinage	154
II.3.5.1.2. Variabilité Régionale des Laits	154
II.3.5.1.3. Interprétation des Figures	155
II.3.5.2. Cinétique de protéolyse en conditions d'affinage contrôlées	156
II.3.5.2.1. Déclin du NT (Azote Total) et Hausse du NS (Azote Soluble) : La dynamique de la protéolyse	156

II.3.5.2.2. Différences régionales dans la cinétique de protéolyse	156
II.3.5.2.3. Convergence et standardisation en fin d'affinage	157
II.3.5.2.4. Rapport NS/NT : Un marqueur de typicité	157

II.4. Essai de fabrication des 02 pâtes fromagères au microbiote contrôlé en comparaison à la pâte fromagère typique à Boussaâda J'ben El Gafs. 158

II.4.1. Analyse sensorielle.....	159
II.4.1.1. Analyse de l'Examen Visuel	159
II.4.1.2. Qualités Olfactives	160
II.4.1.3. Examen Gustatif	160
II.4.2. Analyse comparative et dynamique bio-physico-chimique du J'ben « El Gafs » :	
Influence des écosystèmes microbiens et de la standardisation du lait.....	161
II.4.2.1. Impact de la flore et de la standardisation	163
II.4.2.2. Paramètres physico-chimiques	164
II.4.2.3. Comparaison avec la littérature algérienne.....	164
II.4.2.4. Ratio Gras sur Sec (G/S) et structure matricielle.....	165
II.4.2.4. Impact de la standardisation du lait sur la qualité et la reproductibilité du produit	167

Conclusion et perspectives..... 170

Références bibliographiques

Annexes

:

Introduction

Introduction

Le patrimoine agroalimentaire algérien recèle une diversité de produits de terroir dont la complexité microbiologique et sensorielle demeure largement inexplorée. Bien que le paysage fromager national soit moins diversifié que celui du bassin méditerranéen nord, il compte une dizaine de variétés typiques (**Aissaoui Zitoun et al., 2011**). Parmi elles, le J'ben, le Bouhezza, le Mechouna, la Madeghissa, le Takammert ou encore l'Igounanes témoignent d'un savoir-faire ancestral. Cependant, ce patrimoine subit une érosion alarmante due à l'instabilité des systèmes pastoraux, à l'exode rural et à l'uniformisation des habitudes alimentaires (**Ouadhi et al., 2023**). Dans ce contexte, la préservation de ces ressources génétiques et microbiennes dépasse le cadre de la simple sauvegarde culturelle pour devenir un enjeu de souveraineté alimentaire et de développement économique local.

Le fromage El Gafs, originaire des régions de la Hodna et de Boussaâda, occupe une place singulière dans cette nomenclature : il est actuellement identifié comme le seul fromage traditionnel algérien soumis à un véritable processus d'affinage. Contrairement aux fromages frais consommés rapidement, l'El Gafs subit une maturation qui transforme ses propriétés physico-chimiques et organoleptiques, initialement destinées à l'autoconsommation familiale.

L'affinage est un phénomène biochimique complexe où la protéolyse joue un rôle prédominant. Ce processus, dirigé principalement par les enzymes de la microflore lactique autochtone, conduit à la dégradation des caséines en peptides et acides aminés libres, précurseurs directs de la texture et de l'arôme (**Mcsweeney, 2017**). La caractérisation de cette microflore sauvage est cruciale, car elle possède souvent des aptitudes technologiques supérieures aux souches commerciales, notamment une résistance aux conditions de stress et une signature aromatique unique liée au terroir (**Harrati et al., 2021**).

L'affinage constitue une phase de maturation biochimique où la protéolyse agit comme le moteur principal de la transformation sensorielle. Ce mécanisme ne se limite pas à une simple décomposition protéique ; il résulte d'une cascade enzymatique complexe où les caséines ($\alpha s1$, $\alpha s2$ et β) sont scindées en peptides de tailles variables, puis en acides aminés libres sous l'action des aminopeptidases (**Fox et al., 2017**).

Contrairement aux ferments industriels sélectionnés pour leur cinétique rapide, les bactéries lactiques sauvages (NSLAB - *Non-Starter Lactic Acid Bacteria*) présentent une robustesse accrue face aux stress thermiques et osmotiques rencontrés durant le pressage et le salage. Selon **Gagnère et al. (2021)**, ces souches sauvages possèdent un arsenal enzymatique

diversifié, incluant des estérases et des lyases, qui leur permettent de métaboliser des substrats secondaires lorsque le lactose est épuisé, assurant ainsi la survie et l'activité métabolique à long terme.

La microflore autochtone agit comme un vecteur d'identité géographique. **Pappa et al. (2019)** soulignent que la diversité taxonomique des lactobacilles présents dans le lait cru crée un profil de composés volatils (CV), tels que les alcools, les esters et les composés soufrés, impossible à reproduire avec des souches standards. Cette biodiversité microbienne est directement liée aux pratiques d'élevage et à l'environnement local, ce qui définit la typicité aromatique du fromage.

Au-delà de l'arôme, la protéolyse influence radicalement la matrice solide du fromage. La dégradation du réseau de caséine réduit la rigidité du caillé, favorisant l'onctuosité (**Boutrou et al., 2022**). De plus, l'activité de ces souches sauvages génère des peptides bioactifs (antioxydants ou antihypertenseurs), conférant au produit fini une valeur santé ajoutée, souvent supérieure dans les fromages traditionnels par rapport aux productions industrielles (**Solieri et al., 2020**).

Si des travaux préliminaires de **Saidane et al. (2021 et 2022)**, menés au laboratoire de recherche « Sciences et Techniques de Production Animale LSTPA » de l'université de Mostaganem ont amorcé l'étude de l'El Gafs, la compréhension des dynamiques enzymatiques de sa microflore reste lacunaire. La présente étude s'inscrit dans cette dynamique de caractérisation fine. Elle vise à évaluer expérimentalement les activités protéolytiques de la microflore lactique autochtone isolée de laits fromageables de la région de Relizane (Ouest algérien) lors de la fabrication et de l'affinage de l'El Gafs.

Au-delà de la simple caractérisation, nous proposons d'explorer le potentiel bioactif de cette protéolyse. En effet, la dégradation des protéines par les bactéries lactiques autochtones pourrait libérer des peptides antihypertenseurs ou antioxydants (**Idoui et al., 2016**), conférant à l'El Gafs un statut d'aliment fonctionnel. Cette approche permettrait non seulement de protéger ce fromage par un label de qualité, mais aussi de le repositionner sur le marché moderne comme un produit alliant tradition, santé et haute valeur technologique.

Cette étude propose de caractériser et de valoriser le potentiel biotechnologique de la microflore lactique autochtone issue du fromage traditionnel "El Gafs" (Boussaâda), afin d'en transférer le savoir-faire vers l'écosystème laitier de Relizane. L'originalité de la démarche repose sur une approche comparative et adaptative : il s'agit d'identifier les isolats de bactéries

lactiques (BAL) à haute activité protéolytique spécifiques au terroir d'El Gafs pour ensuite explorer leur acclimatation et leur synergie avec le microbiote local de l'Ouest algérien.

Au-delà de la simple transposition technique, l'enjeu scientifique est de décrypter la dynamique biochimique et les interactions microbiennes nécessaires à la conception d'un "fromage miroir". Ce produit innovant vise à concilier l'authenticité du procédé ancestral avec la typicité sensorielle et biochimique du bassin de Relizane. En exploitant ces ressources microbiennes comme leviers de biosécurité et de standardisation qualitative, ce projet s'inscrit dans une stratégie de valorisation de la biodiversité microbienne algérienne, transformant un patrimoine immatériel en un moteur de développement industriel et économique durable pour la filière laitière régionale.

Les objectifs spécifiques de cette étude sont les suivants :

- Typage de la ressource microbienne : Identifier et inventorier les souches de bactéries lactiques prédominantes issues de l'écosystème laitier de Relizane.
- Sélection de souches performantes : Évaluer et quantifier le potentiel protéolytique des isolats afin de retenir les souches les plus aptes à la maturation fromagère.
- Détermination de l'empreinte sensorielle : Corréler l'activité biochimique des BL locales avec le développement des attributs organoleptiques (texture, arômes) pour définir la "signature" du J'ben de Relizane.
- Optimisation technologique et formulation de levains : Concevoir un ferment lactique autochtone hybride (combinant la robustesse des souches de Boussaâda et la spécificité de celles de Relizane) pour stabiliser et standardiser la production locale.

Valorisation : Promouvoir l'identité territoriale du produit fini, favorisant ainsi sa reconnaissance sur le marché et la pérennisation du patrimoine agroalimentaire national.

Partie I :

Étude

bibliographique

Chapitre I : Composition et structure du lait

I.1. Définition du lait

Conformément à la définition établie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le lait est considéré comme la sécrétion mammaire normale des animaux laitiers, obtenue à la suite d'une ou de plusieurs traites, sans aucune addition ni extraction de constituants. Il est destiné soit à la consommation directe sous forme liquide, soit à une transformation ultérieure en produits laitiers (OMS, 2023).

Par ailleurs, selon la réglementation en vigueur, notamment au sein de l'Union européenne, l'appellation « lait » utilisée sans précision d'espèce animale désigne exclusivement le lait de vache. Tout lait issu d'une femelle laitière appartenant à une autre espèce, telle que la chèvre, la brebis ou la chamelle, doit obligatoirement être accompagné de la mention explicite de son origine animale après le terme « lait », afin d'éviter toute ambiguïté pour le consommateur (Veisseyre, 1979 ; JORA, 1993 ; Čapla et al., 2023).

Sur le plan biologique, le lait constitue le premier aliment naturel des nouveau-nés des mammifères, répondant à leurs besoins nutritionnels essentiels. D'un point de vue physico-chimique, il s'agit d'un fluide biologique complexe, renfermant une grande diversité de constituants - lipides, glucides, protéines, sels minéraux, vitamines, enzymes et éléments bioactifs - dont les proportions varient selon l'espèce, le régime alimentaire et les conditions physiologiques de l'animal (Claeys et al., 2023).

Les laits destinés à la consommation humaine peuvent être classés en deux grandes catégories:

- Les laits non traités thermiquement, incluant le lait cru et le lait microfiltré ;
- Les laits traités thermiquement, tels que les laits pasteurisés, stérilisés ou UHT, dont le traitement vise à assurer la sécurité microbiologique et à prolonger la durée de conservation (Jeantet et al., 2007; Fox et al., 2022).

I.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait

I.2.1. Paramètres physiques

Se sont la densité, l'acidité, le pH, le point de congélation, le point d'ébullition, la viscosité et la conductivité électrique.

I.2.1.1. Densité

La densité du lait n'est pas une valeur constante ; elle dépend de la concentration des substances dissoutes et en suspension, ainsi que du taux de matière grasse. Généralement, la densité du lait de vache varie entre 1.028 cm^3 et 1.033 cm^3 à une température de 20°C (**Fox et al., 2022**). Elle augmente lors de l'écémage en raison de la diminution du taux de matières grasses, tandis qu'elle diminue en cas de mouillage, du fait de la dilution des constituants du lait (**Chandan et Kilara, 2022**).

I.2.1.2. Acidité

L'acidité du lait, appelée aussi acidité apparente ou naturelle du lait, est due à la présence des protéines, principalement la caséine et la lactalbumine, de substances minérales telles que les phosphates et le CO_2 et d'acides organiques comme l'acide citrique. Elle varie entre 0.13 et 0.17 % d'équivalent d'acide lactique. L'acidité est principalement due à la formation d'acide lactique lors de la fermentation lactique, laquelle provoque une dénaturation des protéines (**Parmar et al., 2020**). Il faut analyser l'acidité titrable du lait pour vérifier sa qualité, qui est une mesure des deux acidités déjà définies:

$$\text{Acidité titrable } (^\circ\text{D}) = \text{Acidité naturelle} + \text{Acidité développée} \text{ (Vignola et al., 2002).}$$

L'acidité titrable est comprise entre 15°D et 18°D (**Alais, 1984**). Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité $\leq 21^\circ\text{D}$ (**Jean, 1993 ; Parmar et al., 2020**).

I.2.1.3. pH

Le pH du lait exprime la concentration en ions hydrogène (H^+) présents en solution et constitue un indicateur essentiel de sa fraîcheur et de sa stabilité physico-chimique. Une diminution du pH traduit souvent une activité microbienne accrue, notamment celle des bactéries lactiques capables d'hydrolyser le lactose en acide lactique. Cette production d'acide entraîne une augmentation de la concentration en ions H^+ , provoquant ainsi une acidification du milieu (**Luquet, 1985**). Un lait présentant une acidité élevée affiche généralement un pH inférieur à 6.6, conséquence directe de la dissociation partielle de l'acide lactique. À l'inverse, un lait frais et sain possède un pH compris entre 6.6 et 6.8, valeurs considérées comme normales pour le lait cru de vache (**Rahmadini et al., 2024**).

I.2.1.4. Point de congélation

Le point de congélation du lait se situe légèrement en dessous de celui de l'eau en raison de la présence de substances dissoutes qui exercent un effet dépressif sur ce paramètre. En

général, il varie entre $-0,530\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $-0,575\text{ }^{\circ}\text{C}$, avec une valeur moyenne avoisinant $-0,555\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ruiz-Ortega *et al.*, 2025).

Un point de congélation supérieur à $-0,530\text{ }^{\circ}\text{C}$ constitue par ailleurs un indicateur potentiel d'une adjonction d'eau au lait (Ruiz-Ortega *et al.*, 2025).

I.2.2. Paramètres biochimiques du lait

Le lait est effectivement un liquide aqueux complexe, dont la composition équilibrée en lipides, glucides, protéines, sels minéraux et vitamines en fait un aliment complet et essentiel pour la nutrition humaine.

I.2.2.1. Eau

L'eau constitue le principal composant du lait, au sein duquel les différents constituants sont dispersés ou dissous (Mathieu, 1998 ; Muttiah et Law, 2025).

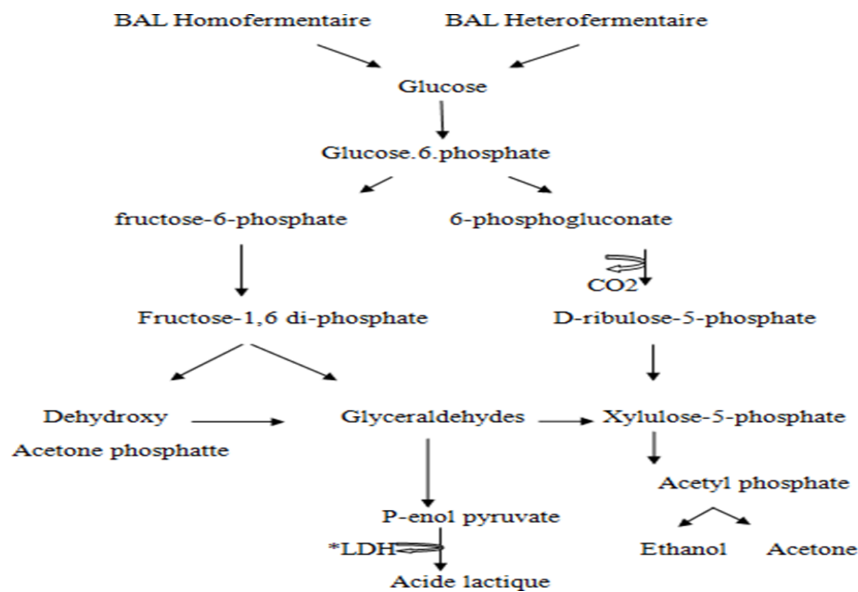
Elle existe sous deux formes principales :

- L'eau extra-micellaire, représentant environ 90 % de l'eau totale, contient la majeure partie des constituants solubles tels que le lactose, les sels minéraux et certaines protéines du lactosérum.
- L'eau intra-micellaire, qui correspond à près de 10 % de l'eau totale, est en partie liée aux micelles de caséine, tandis qu'une autre fraction joue le rôle de solvant interne contribuant à la stabilité de ces structures colloïdales.

Ainsi, la répartition de l'eau dans le lait influence directement ses propriétés physico-chimiques, sa stabilité colloïdale et son comportement lors des procédés technologiques tels que la coagulation ou la concentration (Mahaut *et al.*, 2003 ; Muttiah et Law, 2025).

I.2.2.2. Glucides

Les glucides représentent, après l'eau, la fraction la plus importante du lait, avec une proportion estimée à environ 38 % de la matière sèche totale. Leur rôle est essentiel, tant du point de vue nutritionnel que technologique, en raison de leur implication dans la fermentation lactique et la formation d'acide lactique et de composés aromatiques (figure 01) (Perreau, 2014).



LDH : Lactate déshydrogénase

Figure 1. Métabolisme glucidique des bactéries lactiques (Bulut, 2003)

Le lactose constitue le glucide dominant du lait, avec des concentrations généralement (environ 5%) (Woźniak et al., 2022). Il s'agit d'un disaccharide réducteur formé par une liaison β (1→4) entre une molécule de glucose et une molécule de galactose. Ce sucre, caractéristique du lait, se distingue par sa stabilité physico-chimique et sa participation déterminante dans les transformations fermentaires au cours de la conservation ou de la fabrication de produits laitiers (Roca-Fernandez, 2014).

Sur le plan structural, les glucides du lait peuvent être classés en deux groupes (Walstra, 1978):

- Les glucides libres, constitués principalement d'oligosaccharides,
- Les glucides liés, intégrés sous forme de glycoprotéines ou de glycolipides.

Selon leur charge électrique, trois catégories sont distinguées (Sandra, 2001) :

Les glucides neutres (lactose, glucose, galactose), Les glucides aminés ou azotés (glucosamine N-acétylée, galactosamine N-acétylée), Et les glucides acides, souvent associés aux précédents, tels que l'acide sialique, impliqué dans la stabilité des micelles de caséine et la résistance aux agents pathogènes.

La teneur en lactose varie notablement selon l'espèce animale, en lien avec les facteurs génétiques et les besoins physiologiques du nouveau-né. Ainsi, le lait de vache renferme environ $49 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de lactose, tandis que le lait humain présente une concentration plus élevée, comprise entre 56 et $68 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Fusch et al., 2011).

I.2.2.3. Matières grasses

La teneur en matières grasses du lait est la quantité de substances dans un litre ou kilo de lait séparée des autres constituants par une méthode reconnue pour le paiement différentiel du lait (Sandra, 2001).

La matière grasse est sous forme de globule gras (Fig 02) qui se trouve en émulsion dans la phase aqueuse du lait (Pointurier et al., 1969). Le diamètre des globules gras est variable de $0,1$ à $15\mu\text{m}$ (Roca-Fernandez, 2014). Il diffère d'une race à une autre. Le diamètre du globule est variable selon certains facteurs ; il diminue au cours de la lactation, mais son nombre augmente (Ennuyer et Laumonnier, 2013).

La matière grasse du lait bovin est comprise entre 33 à 47 g/l (Woźniak et al., 2022), Elle est constituée essentiellement de 80% à 98% de triglycérides, et secondairement de phospholipides environ $0,6$ à $1,1\%$, et des quantités variables en diglycérides $0,36\%$, monoglycérides $0,027\%$, cholestérol $0,31$ à $0,46\%$, ester de cholestérol, des traces de vitamines liposolubles (A, D, E, K) et des acides gras libres (Muttiah et Law, 2025).

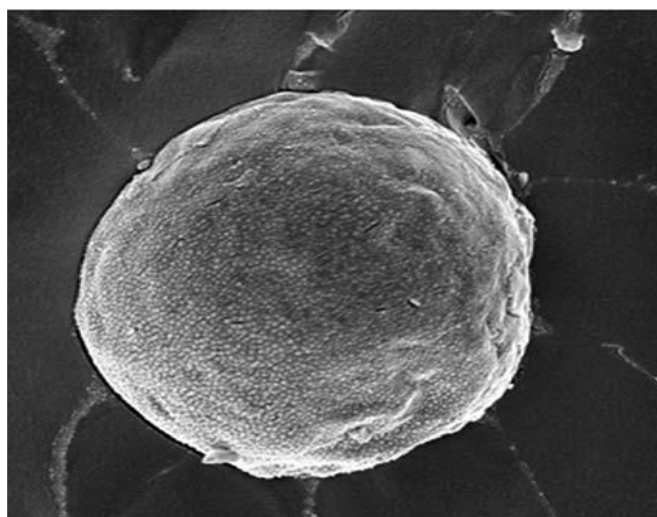


Figure 2. Observations en cryo-microscopie électronique à balayage (cryo-MEB) des globules de matière grasse du lait (Gr $10\,000\times$) (Luo et al., 2014)

I.2.2.4. Matières protéiques

La matière protéique du lait est généralement caractérisée par le taux protéique (TP), indicateur essentiel de sa valeur nutritive et technologique. Dans le lait bovin, la teneur en protéines varie entre 30 et 40 g·L⁻¹. Un taux protéique élevé est associé à un meilleur rendement fromager et un prix plus avantageux pour le producteur (Woźniak et al., 2022).

La matière azotée totale du lait se divise en deux fractions principales :

- Azote non protéique (ANP) : Cette fraction, dépourvue d'intérêt technologique, représente environ 3 à 7 % de l'azote total. Elle regroupe des composés tels que l'urée, la créatine, l'acide urique, les acides aminés libres et de petits peptides, l'urée en constituant la majeure partie (36 à 80 %) (Florence, 2010).
- Azote protéique (AP) : Cette fraction exploitable sur le plan technologique représente environ 95 % de l'azote total. Elle se compose de deux grandes catégories de protéines :

Les protéines du lait qui sont indiquées dans le **tableau 01** se divisent en deux :

Les protéines solubles, qui représentent près de 20 % des protéines du lait et sont principalement constituées de protéines de lactosérum, proviennent essentiellement du plasma sanguin (Florence, 2010).

Les protéines insolubles, qui représentent environ 80 % des protéines totales, sont principalement composées de caséines (Florence, 2010).

Tableau 1. Protéines du lait (Cayot et Lorient, 1998 ; Fayolle, 2015)

Protéines	Concentration massique (g/l)
Caséines α 1	10
Caséines β	9,3
Caséines κ	3,3
Caséines α 2	2,6
Caséines γ	0,8
β -lactoglobuline	2 à 4
α -lactalbumine	1,0 à 1,5
Immunoglobuline	0,4 à 1
Sérum-albumine bovine	0,4
Lactoferrine	0,2

I.2.2.4.1. Protéines solubles

Les protéines solubles du lait, appelées aussi protéines sériques ou protéines du lactosérum, représentent environ 20 % des protéines totales du lait. Elles restent en solution après la coagulation des caséines et sont particulièrement thermosensibles, c'est-à-dire qu'elles sont dénaturées par la chaleur, principalement la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine, commencent à se dénaturer à partir de 65 – 75 °C. La β -lactoglobuline est la plus abondante et la plus sensible, suivie de l' α -lactalbumine (Walstra et al., 2006; Freire et al., 2022).

On distingue deux grands groupes : les protéines solubles mineures et les protéines solubles majeures.

I.2.2.4.1.1. Protéines solubles mineures

Les protéines solubles mineures du lait, telles que les immunoglobulines, la lactoferrine, la sérum-albumine, les protéoses-peptones, la plasmine et la phosphatase alcaline (tab 02), jouent des rôles essentiels dans la protection du nouveau-né et la santé globale (Kazimierska et Kalinowska-Lis, 2021).

Présentes en forte concentration dans le colostrum, elles confèrent une immunité passive au nouveau-né en neutralisant bactéries, virus et toxines. Leur concentration diminue rapidement après la naissance, mais elles restent actives dans le lait mature (Kazimierska et Kalinowska-Lis, 2021). Les IgA, en particulier, protègent les muqueuses intestinales et favorisent la colonisation microbienne bénéfique (Tamime, 2009 ; Saha et al., 2025). Leur concentration est maximale dans le colostrum, puis diminue progressivement au fur et à mesure de l'avancement de la lactation (Fayolle, 2015).

Tableau 2. Fonctions principales des protéines solubles mineures du lait

Protéine	Fonctions principales	Citations
Immunoglobulines	Immunité passive, neutralisation pathogènes	(Lopez et Heinrichs, 2022)
Lactoferrine	Antimicrobien, antioxydant, immunostimulant	(Bielecka et al., 2021)
Sérum-albumine	Transport, pression osmotique	(Saadi et al., 2024)
Protéoses-peptones	Texture, saveur, immunomodulation	(Saadi et al., 2024)
Plasmine	Protéolyse, peptides bioactifs	(Andrews, 1983)
Phosphatase alcaline	Antimicrobien, marqueur de pasteurisation	(Bielecka et al., 2021)

Le lactoferrine est une protéine multifonctionnelle dotée d'activités antimicrobiennes, antioxydantes et immunostimulantes. Elle inhibe la croissance bactérienne par chélation du fer et stimule la production d'anticorps (**Bielecka et al., 2021**).

La sérum-albumine, principale protéine du plasma sanguin bovin, représente environ 50 % des protéines sériques circulantes, mais sa concentration dans le lait reste faible, de l'ordre de $0.1 \text{ à } 0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (**Saadi et al., 2024**).

Les protéoses-peptones correspondent à une fraction soluble à pH 4.6, non dénaturée par le traitement thermique. Elles deviennent insolubles en présence de $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ d'acide trichloroacétique, ce qui permet de les distinguer des autres protéines sériques (**Saadi et al., 2024**). Ces composés intermédiaires résultent de la dégradation enzymatique partielle des caséines et jouent un rôle fonctionnel dans la texture et la saveur des produits laitiers.

La plasmine est une enzyme protéolytique majeure du lait, elle participe à la maturation des fromages et à la génération de peptides bioactifs (**Andrews, 1983**).

La phosphatase alcaline est un marqueur d'intégrité du lait cru, elle a aussi des fonctions antimicrobiennes (**Bielecka et al., 2021**).

I.2.2.4.1.2. Protéines solubles majeures

Les deux protéines majeures du lactosérum sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine, qui sont synthétisées par les cellules épithéliales de la glande mammaire (**Fayolle, 2015**).

β -lactoglobuline

Il s'agit de la protéine la plus abondante du lactosérum dans le lait de la plupart des espèces. Son point isoélectrique est situé à pH 5.1 et Son poids moléculaire est d'environ 18.3 kDa. À pH naturel du lait, elle se présente sous forme de dimères stables grâce à des interactions hydrophobes. Cette protéine joue un rôle important dans la liaison et le transport de composés hydrophobes, tels que les acides gras libres et les vitamines liposolubles (**Sawyer, 2003**).

α -lactalbumine

Deuxième protéine majeure du lactosérum, elle est synthétisée au niveau du réticulum endoplasmique des cellules mammaires. Son poids moléculaire est de 14.2 kDa et son point isoélectrique à pH 4,8 (**Brew, 2003**). Il s'agit d'une métalloprotéine possédant des sites de fixation pour le calcium et le zinc, et jouant un rôle clé dans la synthèse du lactose, en agissant comme cofacteur de la galactosyltransférase.

I.2.2.4.2. Protéines insolubles

Les caséines représentent environ 80 % des protéines totales du lait de vache et se déclinent en quatre types principaux : α 1-caséine, α 2-caséine, β -caséine et κ -caséine. Ce sont des phosphoprotéines insolubles à pH 4.6, formant des micelles colloïdales qui transportent le calcium et le phosphate (**Daniloski et al., 2022**). Leur structure est peu ordonnée, avec une faible proportion de structures secondaires (α -hélices, β -feuilletés) et une prédominance de régions flexibles riches en proline, ce qui limite la formation de ponts disulfures (seule la κ -caséine en possède). Les caséines sont amphiphiles, possédant des domaines hydrophiles et hydrophobes, et sont fortement chargées électriquement grâce à la phosphorylation de résidus sérine (**Daniloski et al., 2022**).

Les micelles sphériques formées par l'assemblage des caséines sont principalement stabilisées par la caséine- κ , ce qui facilite la solubilisation du calcium et du phosphate et contribue à la stabilité physico-chimique du lait. De plus, la variété génétique des caséines, via leurs différents variants, affecte la dimension des micelles, la composition du lait et par extension, ses attributs fonctionnels et technologiques comme la coagulation fromagère, la consistance, la stabilité thermique et les propriétés d'émulsification (**Daniloski et al., 2022**).

I.2.2.4.2.1. Caséine α 1

Parmi les caséines du lait de vache, la caséine α 1 a la plus forte charge; elle se compose de 199 acides aminés, a une masse moléculaire de 23.6 kDa et contient huit résidus phosphosérine par molécule (**Martin et al., 2003, Tamime, 2009**).

La caséine α 1 présente une auto association progressive aux dimères, tétramères, hexamères, etc. Le degré d'association dépend fortement du pH et de la force ionique. La caséine α 1 est facilement précipitable par l'addition de calcium (**Swaisgood, 2003**). Dans la micelle, la caséine α 1 est peu accessible à la plasmine ; probablement qu'elle se situe au cœur de la micelle masquée par d'autres caséines (**Sandra, 2001**).

I.2.2.4.2.2. Caséine α 2

La caséine α 2, la moins abondante des caséines dans le lait de vache, est la moins hydrophobe et le plus phosphorylée des caséines. Elle représente 8 à 11% de la micelle de caséine, possède 207 résidus d'acides aminés (**Martin et al., 2003**) et 10 à 13 phosphates (**Sandra 2001**), résultant à une masse moléculaire de 25.2 kDa (**Ng-Kwai-Hang, 2003**). Des

études d'association ont montré que la caséine α_2 se comporte très semblable à la caséine α_1 (Creamer, 2003).

I.2.2.4.2.3. Caséine β

La caséine β est la plus hydrophobe de toutes les caséines, avec un nombre élevé de résidus de proline, elle possède une extrémité C-terminale hydrophile et une extrémité N-terminales très hydrophobes. La caséine β est constituée de 206 acides aminés (Martin et al., 2003) avec un poids moléculaire de 24.0 kDa. La caséine β est facilement atteinte par la protéinase indigène du lait, la plasmin, conduisant à la formation des caséines γ et des protéoses peptones (Creamer, 2003).

I.2.2.4.2.4. Caséine κ

La caséine κ diffère grandement des autres caséines, principalement parce qu'elle est la seule des caséines glycosylées. Dans le lait bovin, presque deux tiers de la molécule κ caséine sont glycosylées ; les groupes glucidiques comprennent la galactosamine, le galactose et résidu d'acide N-acétylneuraminique. La caséine κ est amphiphile avec une extrémité N-terminal très hydrophobes et une extrémité C-terminale hydrophile qui joue un rôle important dans la stabilité des micelles de caséines. Elle est constituée de 169 résidus d'acides aminés avec un poids moléculaire de 19.0 kDa (Creamer, 2003).

I.2.2.4.2.5. Caséine γ

La caséine γ est un fragment C-terminal résultant de la protéolyse de la caséine β sous l'action de la plasmin (Sandra, 2001).

I.2.2.4.2.6. Micelle de caséine

Les micelles sont constituées des quatre types de caséines (α_1 , α_2 , β , κ) et de nanoclusters de phosphate de calcium amorphe, liés aux résidus phosphosérine des caséines (Ahmadi et al., 2024). Il n'existe pas de consensus sur la microstructure exacte des micelles, mais plusieurs modèles sont proposés. Initialement le modèle le plus largement soutenu est le modèle submicelle ; les micelles seraient formées d'assemblages de sous-micelles sphériques reliées par des ponts de phosphate de calcium, la κ -caséine étant en surface (Bauland et al., 2020; Tamime, 2009). Un autre modèle des micelles de caséines proposé par Holt (1992) sans sous-micelles distinctes. Dans ce modèle, les micelles sont vues comme un réseau de chaînes de caséines réticulées par des nanoclusters de phosphate de calcium. Ce modèle est soutenu par des analyses récentes (cryo-microscopie (Fig 03), SAXS) qui montrent une distribution homogène des protéines et des nanoclusters dans la micelle (Ahmadi et al., 2024).

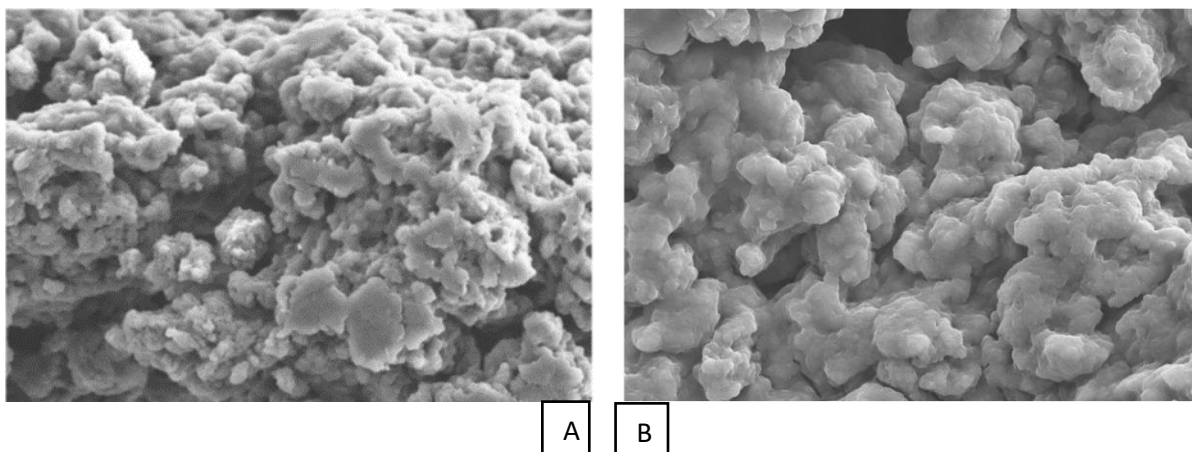


Figure 3. Analyse par MEB des micelles de caséine issues du lait de vache

Gr: (A) Gr 500 X ; (B) Gr 1000 X

(Erukainure et *al.*, 2020)

I.2.2.4.2.7. Propriétés des caséines

Le pHi des caséines est d'environ 4.6 – 4.7 : à ce pH, la charge globale est nulle et la solubilité minimale, ce qui explique leur précipitation à pH acide (Jain et *al.*, 2020). Selon Sandra (2001), cette valeur basse s'explique par la prédominance de groupements acides (glutamyle, aspartyle, phosphoryle) sur les groupements basiques (lysine, arginine), conférant aux caséines une charge nette négative à pH du lait (6.6 – 6.7), Plus le pH s'éloigne du pHi, plus la charge nette (positive ou négative) augmente, favorisant la solubilité et la stabilité colloïdale (réaction avec les métaux alcalino-terreux) (Jain et *al.*, 2020).

Propriétés associatives des caséines à pH = 7, sous l'action de la température, les caséines β et κ donnent des polymères de plusieurs unités, les différentes molécules étant unies par des liaisons hydrophobes. De plus, les polymères κ et $\alpha S2$ résultent de liaisons disulfures S-S intermoléculaires. Le Ca^{+2} diminue la charge des molécules $\alpha S1$, $\alpha S2$, β en les complexant, modifiant leur hydrophilie et les insolubilise (Rattray et *al.*, 1997 ; Sun et *al.*, 2024).

Changements induits par la chaleur dans les caséines et les micelles de caséines Bien que les caséines soient extrêmement stables à la chaleur, principalement en raison de leur manque de structure tertiaire, les micelles de caséine sont sensibles aux changements induits par la chaleur (O'connell et Fox, 2003; Takagi et *al.*, 2023). Le chauffage à une température relativement basse (particulièrement sensibles à l'hydrolyse thermique ainsi les liaisons peptidiques impliquant les résidus de l'acide aspartique sont hydrolysées rapidement. Enfin, le

chauffage du lait à haute température peut conduire à une réticulation inter et intramoléculaire des caséines en raison de la forte réactivité des résidus d'acides aminés nucléophiles (par exemple lysine ou cystéine) en présence du lactose (**Takagi et al., 2023**).

I.2.3. Eléments minéraux

La teneur du lait en minéraux est de 5%. Cette teneur est sous l'influence de plusieurs facteurs tels que l'espèce, la race, le stade de lactation et l'alimentation (**Hupperts et Kelly, 2009**). Le lait de vache est pratiquement riche en macroéléments cationiques et anioniques comme le phosphore, le calcium le potassium et le magnésium (**Fayolle, 2015**). Le lait contient aussi des oligo-éléments indispensables tels que le fer, le zinc, le cuivre l'iode et le fluor (**Sandra, 2001**). Les minéraux se présentent sous forme de sels minéraux dans le lait (phosphates, chlorures, potassium, calcium et magnésium). Une partie des sels minéraux se trouvent sous forme soluble, et une partie se trouve dans la phase colloïdale insoluble en association avec les caséines (**Hupperts et Kelly, 2009**). Les minéraux se répartissent entre les deux phases soluble et colloïdale ; le calcium et le magnésium (alcalino-terreux) sont distribués entre les deux phases, alors que le sodium et le potassium (alcalins) sont présents en totalité dans la phase soluble du lait (**Sandra, 2001**).

I.2.4. Vitamines

Le lait contient des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles : les vitamines liposolubles sont : vitamines A, D, E et K ; ces vitamines sont soit associées à la matière grasse soit au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie. Les vitamines hydrosolubles du groupe B et vitamine C ; ce sont les vitamines de la phase aqueuse du lait (**Perreau, 2014**).

La teneur du lait en vitamine C est relativement faible. Les teneurs en vitamines dépendent beaucoup de l'alimentation. Les vitamines du groupe B synthétisées par les bactéries du rumen sont stables par rapport à d'autres vitamines (**Fayolle, 2015**). Les vitamines liposolubles sont seules d'origine alimentaire (**Sandra, 2001**).

I.2.5. Enzymes

Dans le lait de vache, environ 20 enzymes ont été caractérisées. Quarante autres enzymes ont été démontrées via leur activité. On trouve des enzymes indigènes du lait dans les micelles de caséine, dans des globules gras du lait, dans le sérum du lait ou des cellules somatiques. Ces enzymes peuvent être utilisées comme indices de la santé animale ou de l'histoire thermique du lait, elles peuvent entraîner une détérioration de la qualité ou induire des changements souhaitables dans le lait et les produits laitiers comme elles peuvent également

offrir des effets protecteurs (**Fox, 2003a**). Les principales enzymes lactières indigènes importantes sur le plan technologique sont : la plasmine, la lipoprotéine lipase, la phosphatase alcaline et la lactoperoxydase (**Tamime, 2009**).

I.2.5.1. Plasmine

La plasmine est la protéinase indigène prédominante dans le lait. Elle fait partie d'un système protéase complexe dans le lait, constitué de son précurseur inactif, le plasminogène, le plasminogène activateur, qui catalyse la conversion du plasminogène en plasmine. La plasmine et le plasminogène proviennent du sang de l'animal et sont principalement associés à la micelle de caséine dans le lait. La plasmine est une sérine protéase, qui est active de manière optimale à pH 7.5 et 37°C (**Nielsen, 2003**). Elle est activée sur toutes les caséines, mais en particulier la caséine β et la caséine α_2 ; les sites de clivage de caséine β sont Lys28 – Lys29, Lys105 – His106 et Lys107 – Glu108, qui conduit à la formation de caséine γ et de protéose peptones. La plasmine clive la caséine α_2 sur huit sites (Lys21–Gln22, Lys24–Asn25, Arg114–Asn115, Lys149–Lys150, Lys150–Thr151, Lys181–Thr182, Lys188–Ala189 et Lys197–Thr198) (**Kelly et McSweeney, 2003**). Les autres caséines (à savoir la caséine α_1 et la caséine κ) sont hydrolysées à un taux considérablement inférieur, alors que α lactalbumine et la β lactoglobuline ne sont pas hydrolysés par la plasmine (**Tamime, 2009**).

I.2.5.2. Lipoprotéine lipase

La lipoprotéine lipase (LPL) est une enzyme lipolytique synthétisée dans la glande mammaire. C'est une glycoprotéine composée d'environ 450 résidus d'acides aminés, avec un poids moléculaire proche de 100 kDa. Son activité enzymatique atteint son pic en milieu alcalin, avec un pH d'environ 9.2 et une température de 37 °C (**Olivecrona et al., 2003**). Dans le lait de vache, la plupart des LPL sont associées à la micelle de caséine, certaines sont dans la phase sérique (**Farkye et Imafidon, 1995**).

I.2.5.3. Phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline est une phosphomonoestérase à activité optimale à pH 9.0–10.5 et à une température de 37°C qui provient de la glande mammaire. Il s'agit d'un dimère de deux sous-unités identiques de 85 kDa et contient quatre atomes de zinc par molécule, qui sont nécessaires pour son activité (**Shakeel-Ur-Rehman et al., 2003**).

I.2.5.4. Lactopéroxydase

La lactopéroxydase est synthétisée dans la glande mammaire et est une glycoprotéine d'un poids moléculaire d'environ 78 kDa avec un groupe hème. La lactopéroxydase a un pH

optimum de 8.0 et existe principalement dans le sérum de lait (**Pruitt, 2003**). La lactopéroxydase est l'enzyme thermostable du lait; il semble nécessaire de chauffer jusqu'à 80°C pour assurer l'inactivation thermique (**Farkye et Imafidon, 1995**).

I.3. Écosystème microbien laitier d'intérêt

Le lait cru est reconnu comme un véritable écosystème, composé d'une communauté microbienne (bactéries, levures, moisissures) en interaction constante avec son environnement physique, chimique et biologique (**Ouamba et al., 2022**). Cette biocénose évolue selon de nombreux facteurs : saison, alimentation, état de santé de l'animal, pratiques d'élevage, hygiène, matériel de traite, conditions de stockage et transport. Les principales sources de micro-organismes sont la surface du trayon, l'environnement de la ferme, l'air, l'eau, l'alimentation et les équipements (**Santamarina-García et al., 2024**).

La flore du lait a trois origines principales:

I.3.1. Flore originelle présente dans la mamelle

La composition microbienne du lait varie fortement selon l'état de santé de la mamelle. Les recherches récentes montrent que la diversité et la quantité de bactéries augmentent avec la sévérité de la mammite, et que certains genres pathogènes deviennent dominants lors de l'infection (**Steinberg et al., 2022**).

Dans le cas d'une mamelle saine,

- Diversité élevée : Le lait de vache saine contient une grande diversité bactérienne, principalement des genres non pathogènes ou commensaux comme *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Lactococcus*, *Pseudomonas* (**Steinberg et al., 2022**).
- Faible charge bactérienne : Le nombre total de germes reste bas, et la flore est influencée par la peau du trayon et l'environnement (**Yalçın et al., 2024**).

Dans le cas d'une mammite subclinique (pas de signe extérieur d'inflammation de la mamelle et aucune dégradation visible de la qualité du lait) :

- Changements subtils mais significatifs : La diversité bactérienne diminue, et certains pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* deviennent plus abondants (**Steinberg et al., 2022**).

- Augmentation de la charge bactérienne : Le nombre de germes augmente, souvent sans signe clinique visible, mais avec des altérations du microbiote et une hausse des cellules somatiques (Yalçın et al., 2024).

Dans le cas de mammites cliniques (la mamelle présente des caractéristiques visibles d'inflammation et l'aspect du lait est modifié) :

- Dysbiose marquée : La diversité chute fortement, avec une domination de pathogènes (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Salmonella*, *Listeria*) (Steinberg et al., 2022).
- Charge bactérienne très élevée : Le lait peut contenir des millions de germes/ml, et la flore bénéfique (ex. bactéries lactiques) est fortement réduite (Yalçın et al., 2024).

I.3.2. Flore exogène de contamination

Elle provient principalement de la peau des trayons, contaminée lors de la traite par des bactéries issues de l'environnement (sol, litière, eau, fourrages) (Verdier-Metz et al., 2022). Lorsque les trayons sont humides ou affectés par des facteurs tels que la saleté, une litière de mauvaise qualité et une hygiène de traite inadéquate, la contamination du lait augmente considérablement (Deddefo et al., 2023), dans ces conditions, la charge microbienne peut dépasser 100 000 germes/mL, ce qui altère la qualité du lait (Le Roux, 1994).

I.3.3. Multiplication de la flore originelle et exogène

Le lait est un milieu très favorable à la croissance bactérienne, mais la composition de la flore qui s'y développe dépend fortement des conditions de stockage et d'hygiène. Chaque facteur (température, nettoyage, réfrigération) favorise la croissance de groupes bactériens spécifiques, affectant ainsi la qualité et la sécurité du lait (Lee et al., 2024 ; Qin et al., 2024).

I.3.3.1. Flore psychrotrophe

Les bactéries psychrotrophes sont définies comme des micro-organismes capables de se développer à 7 °C ou moins, indépendamment de leur température optimale de croissance. Elles ne forment pas un groupe taxonomique spécifique, mais incluent de nombreux genres Gram+ et Gram-, coques ou bâtonnets, aérobies ou non, sporulants ou non (Du et al., 2022). La flore psychrotrophe du lait cru présente une diversité microbienne particulièrement élevée, comprenant de nombreux genres bactériens capables de se développer à basse température. Les genres dominants identifiés dans le lait cru appartiennent principalement à *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas azotoformans* et *Pseudomonas paralactis* ainsi qu'à *Acinetobacter*,

Chryseobacterium, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Lactococcus*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Stenotrophomonas* et *Enterobacter*, parmi d'autres groupes moins fréquents (Du et al., 2022).

La composition spécifique de cette flore varie considérablement selon plusieurs facteurs, tels que la saison, la région géographique, les conditions d'hygiène à la ferme, la qualité microbiologique de l'eau, ainsi que la propreté du matériel de traite et des équipements de stockage (Du et al., 2022).

L'origine de ces micro-organismes est multiple, ils proviennent généralement de l'eau utilisée pour le nettoyage, du sol, de l'air ambiant, des fourrages, de la surface des trayons, du matériel de traite et des réservoirs de stockage du lait. Cette diversité reflète la sensibilité du lait cru aux contaminations environnementales et souligne l'importance des pratiques d'hygiène dans la maîtrise de la qualité microbiologique du lait destiné à la transformation (Du et al., 2022). La présence de bactéries psychrotrophes dans le lait cru constitue un facteur critique influençant sa qualité microbiologique et technologique (Júnior et al., 2018). Ces micro-organismes, capables de se développer à basse température, produisent des enzymes extracellulaires thermostables, principalement des protéases et des lipases, qui résistent aux traitements thermiques tels que la pasteurisation et même la stérilisation UHT (Júnior et al., 2018). Ces enzymes décomposent les protéines du lait, notamment la caséine, et les matières grasses, ce qui entraîne des modifications physicochimiques et organoleptiques importantes du produit par l'apparition d'amertume, de rancissement, de séparation du lactosérum, ainsi que par des défauts de texture et d'odeur (Júnior et al., 2018).

I.3.3.2. Flore lactique

La flore lactique sauvage présente dans le lait cru se compose majoritairement de bactéries des genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Contrairement aux levains industriels standardisés, cette flore est naturelle, non contrôlée et hautement variable, reflétant l'environnement microbiologique du lait. Elle regroupe à la fois des souches homofermentaires, qui produisent exclusivement de l'acide lactique, et des souches hétérofermentaires, capables de générer, en plus, des acides gras volatils, des alcools et des gazs, ces caractéristiques métaboliques influencent directement la qualité, la stabilité et les propriétés organoleptiques du lait et des produits fermentés qui en dérivent (Apostolakis et al., 2023).

Le lait cru héberge une flore lactique très diversifiée, incluant notamment les genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus*. La composition

relative de ces populations dépend fortement de facteurs tels que l'environnement d'élevage, la saison, la région et les conditions d'hygiène, ces micro-organismes exercent plusieurs fonctions essentielles : ils assurent une acidification rapide du lait, limitent la prolifération des bactéries indésirables et produisent divers composés aromatiques ainsi que des substances antimicrobiennes (acides organiques, diacétyl, peroxyde d'hydrogène et bactériocines) (**Apostolakos et al., 2023**).

Les souches hétérofermentaires, telles que celles du genre *Leuconostoc*, participent à la production d'arômes caractéristiques et de gaz, contribuant au développement du profil sensoriel des produits fermentés. Cependant, lorsque leur croissance n'est pas maîtrisée, elles peuvent aussi engendrer des défauts sensoriels et altérer la qualité du produit fini (**Hamdaoui et al., 2022**).

Cette flore présente néanmoins certaines limites : les souches sauvages peuvent héberger des bactériophages, susceptibles d'inhiber ou de perturber la fermentation des levains industriels (**Apostolakos et al., 2023**). De plus, leur activité métabolique demeure variable et difficile à prévoir, rendant le processus de fermentation moins reproductible que celui obtenu avec des cultures pures. Enfin, la majorité de ces bactéries n'étant pas psychrotrophes, leur développement est fortement restreint lors de la réfrigération du lait, ce qui peut modifier l'équilibre microbien initial (**Bettera et al., 2023**).

I.3.3.3. Flore thermorésistante

Les bactéries thermorésistantes sont définies comme des micro-organismes capables de survivre aux traitements thermiques de pasteurisation, généralement appliqués à des températures de 70 à 74 °C pendant quelques secondes, ce groupe comprend principalement des bactéries sporulantes appartenant aux genres *Bacillus*, *Paenibacillus* et *Geobacillus*, ainsi que certaines espèces non sporulantes telles que *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* (**Zhao et al., 2024**). Le degré de résistance thermique varie notablement selon les espèces et peut également différer entre souches d'un même genre, en raison de facteurs physiologiques et environnementaux (**Le Roux, 1994; Júnior et al., 2018**).

Ces bactéries sont capables de persister dans le lait après pasteurisation et de se multiplier lors du stockage prolongé des produits laitiers, notamment à température de réfrigération (**Júnior et al., 2018**). Elles sécrètent des enzymes extracellulaires thermostables,

en particulier des protéases et des lipases, dont l'activité est responsable de diverses altérations organoleptiques et technologiques : apparition d'amertume, rancissement, gélification, séparation de phase, ainsi que défauts de texture et d'arôme dans le lait, les fromages et les poudres de lait, l'action de ces enzymes réduit significativement la durée de conservation, la stabilité et la qualité technologique des produits finis (**Rabêlo et al., 2021**).

Les sources de contamination de ces bactéries thermorésistantes sont variées. Elles proviennent principalement du sol, des fourrages (notamment l'ensilage), de l'eau, du matériel de traite, mais aussi de certains ingrédients déshydratés utilisés dans la transformation laitière (**Delaunay et al., 2021**).

I.3.3.4. Flore pathogène

La flore pathogène du lait cru représente un risque majeur pour la santé du consommateur, en raison de la persistance ou du développement de bactéries potentiellement dangereuses dans le lait et ses produits dérivés. La majorité des groupes bactériens identifiés dans le lait cru peut inclure des souches pathogènes, parmi lesquelles les plus préoccupantes sont *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* et *Escherichia coli*, ces micro-organismes sont responsables d'intoxications alimentaires et d'infections graves, parfois associées à des conséquences systémiques sévères, même lorsque leur concentration dans l'aliment est faible (**Williams et al., 2023**).

Le risque sanitaire lié à ces bactéries dépend de la combinaison de trois facteurs essentiels :

- a) Le pouvoir pathogène intrinsèque de la souche (**Deddefo et al., 2022**) ;
- b) La dose infectieuse ou toxique (**Paswan et Park, 2020**) ;
- c) La résistance de l'hôte (**Verraes et al., 2015**).

Chapitre II :

Les bactéries

lactiques

II.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BAL) constituent un groupe hétérogène de microorganismes procaryotes unicellulaires, caractérisés par leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique comme principal produit métabolique. Ces bactéries, à Gram positive, présentent généralement une morphologie coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire. Elles sont dépourvues de pigments, non sporulantes, immobiles et catalase négative, ce qui traduit l'absence de cytochromes dans leur système respiratoire. Les BAL sont aéro- anaérobies strictes ou aérotolérantes, mais elles montrent une remarquable tolérance aux milieux acides, propriété qui favorise leur implantation et leur activité dans les matrices laitières fermentées. Grâce à ces caractéristiques physiologiques et métaboliques, elles occupent une place essentielle dans les écosystèmes laitiers, notamment dans la transformation et la maturation des produits dérivés du lait tels que les fromages et les yaourts (Stiles et Holzapfel, 1997; Freire et al., 2023).

II.2. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques constituent un groupe microbien largement répandu dans la nature, notamment dans les écosystèmes végétaux, les produits fermentés et le microbiote intestinal humain (Hammi, 2016 ; Murata et al., 2025). Depuis plusieurs décennies, leur rôle bénéfique pour l'homme a été démontré, tant sur le plan alimentaire que sanitaire. Aujourd'hui, les BAL occupent une place prépondérante parmi les microorganismes d'intérêt technologique dans l'industrie agroalimentaire, où elles sont reconnues pour leurs activités antimicrobiennes, leurs effets organoleptiques positifs et leur capacité à prolonger la durée de conservation des aliments. Elles interviennent principalement dans la fermentation de produits laitiers, carnés, végétaux et céréaliers, ainsi qu'en panification (Carr et al., 2002; Anumudu et al., 2024).

Toutefois, certaines espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus* peuvent se comporter comme des pathogènes opportunistes ou des indicateurs de contamination fécale, et sont associées à certaines infections nosocomiales (König et Fröhlich, 2009; Aguilar-Galvez et al., 2012).

Les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique comme principal métabolite de la fermentation des glucides (Murata et al., 2025). Selon le mode de dégradation des sucres, elles peuvent être classées en deux groupes métaboliques : les homofermentaires, qui convertissent les glucides principalement en acide lactique via la voie glycolytique d'Embden-Meyerhof, et les hétérofermentaires, qui produisent en plus du dioxyde de carbone, de l'éthanol

et/ou de l'acide acétique par la voie du phosphokétolase ou du 6-phosphogluconate (Garvie, 1984; Anumudu et al., 2024).

II.3. Classification taxonomique des BAL

La classification des bactéries lactiques repose aujourd'hui principalement sur des critères phylogénétiques basés sur des approches moléculaires, notamment l'analyse des séquences du gène 16S rRNA, du gène *pheS* ou encore des profils génomiques complets. Ces outils permettent une distinction plus fine entre les espèces proches, souvent indiscernables par les seules méthodes phénotypiques classiques. Cependant, la caractérisation morphologique, les tests physiologiques (tab 03) et la composition en acides gras de la paroi cellulaire conservent un intérêt pratique pour l'identification préliminaire des isolats en laboratoire (Alexandre et al., 2008; He et al., 2023).

Tableau 3. Caractérisation de genres importants de BAL

(Von Wrighe et Axelsson 2012)

Famille	Genre	Forme	CO ₂ à partir du glucose	Croissance à 10°C	Croissance à 45°C	Croissance à 6.5 % Na Cl	Croissance à 18 % Na Cl	Croissance à pH 4.4	Croissance à pH 9.6	Acide lactique
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i>	cocci	-	+	-	+	-	-	+	L
<i>Coronobacteriaceae</i>	<i>coronobacterium</i>	bâtonnet	-	+	-	ND	-	ND	-	L
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	cocci	-	+	+	+	-	+	+	L
	<i>Tetragenococcus</i>			+	-	+	+	variable	+	
	<i>Vagococcus</i>	cocci		+	-	-	-		-	
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	bâtonnet	variable	variable	variable	variable	-	variable	-	D, L, DL
	<i>Pediococcus</i>	cocci	-	variable	variable	variable	-	+	-	L, DL
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	cocci	+	+	-	variable	-	variable	-	D
	<i>Oenococcus</i>		+	+	-	variable	-	variable	-	D
	<i>Weissella</i>			+	+	-	-	variable	-	D
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	cocci	-	+	-	-	-	variable	-	L
	<i>Streptococcus</i>		-	-	variable	-	-	-	-	L

ND : Non Déterminé ; D (-) acide lactique ; L(+) acide lactique

Sur la base de leur morphologie cellulaire et de leur métabolisme glucidique, les BAL sont traditionnellement réparties en trois grands groupes fonctionnels (**Strashnova et al., 2020**):

- **Groupe I** : Ce groupe regroupe principalement les espèces des genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*. Ces bactéries sont généralement homofermentaires, produisant exclusivement de l'acide lactique comme principal métabolite de la fermentation, et présentent une morphologie de cocci, souvent isolés ou en chaînes courtes (**Lee et al., 2022**).
- **Groupe II** : Les espèces de ce groupe sont ovoïdes et possèdent un métabolisme hétérofermentaire. On y retrouve notamment les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*, ainsi que certaines espèces du genre *Lactobacillus* ayant subi des révisions taxonomiques récentes (**Hakim et al., 2023**), ces bactéries produisent, en plus de l'acide lactique, du CO₂, de l'éthanol et/ou de l'acide acétique, ce qui contribue à la diversité aromatique des produits fermentés.
- **Groupe III** : Il s'agit de bacilles allongés, parfois légèrement incurvés, souvent groupés en chaînes (**fig 04**), ce groupe occupe une position intermédiaire entre les deux précédents, incluant des espèces capables d'adapter leur métabolisme fermentaire selon les conditions environnementales, et donc de produire soit uniquement de l'acide lactique, soit un mélange de métabolites secondaires (**Zhang et al., 2023; Ayed et al., 2024**).



A : *Lactobacillus casei*

B : *Lactobacillus acidophilus*

C : *Lactobacillus helveticus*

Figure 4. Aspect microscopique des *lactobacilles* (Gr 10 000x)

(**Kandler et Weiss, 1986**)

L'arbre phylogénétique met en évidence la proximité génétique entre plusieurs genres de bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Weissella* et *Enterococcus*, ainsi que d'autres genres apparentés tels que *Bifidobacterium*, *Macrococcus*, *Brevibacterium* et *Propionibacterium*, qui peuvent également être impliqués dans la fabrication de produits fermentés (Pfeiler et Klaenhammer, 2009) (Fig 05). Cet arbre a été construit à partir de l'analyse des séquences du gène 16S rRNA, la longueur des branches traduisant les distances génétiques entre les taxons. La barre d'échelle correspond à 10 % de divergence génétique.

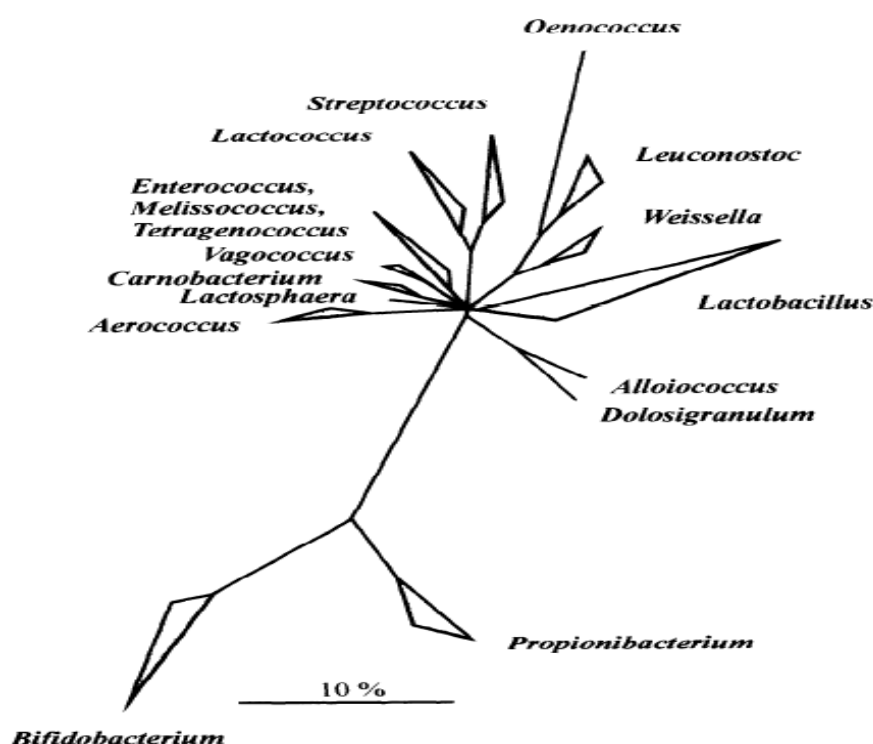


Figure 5. Arbre phylogénétique des différents genres des bactéries lactiques (Holzapfel et al., 2001).

II.4. Principaux genres des bactéries lactiques

II.4.1. *Lactobacillus*

Les lactobacilles constituent un groupe de bactéries à Gram positif, généralement microaérophiles, largement répandues dans divers environnements naturels et anthropiques. On les retrouve fréquemment dans les écosystèmes riches en nutriments, notamment les produits laitiers, les muqueuses humaines, les surfaces végétales et certains sols (Barrangou et al., 2012 ; Duar et al., 2023). Ces microorganismes appartiennent au *phylum Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales*.

Le genre *Lactobacillus* englobait plus de 145 espèces (Kant et al., 2011). Toutefois, les révisions taxonomiques récentes, fondées sur l'analyse phylogénomique, ont conduit à sa reclassification en 25 nouveaux genres, tout en conservant certaines espèces emblématiques comme *Lactobacillus delbrueckii* et *Lactobacillus acidophilus* au sein du genre type (Zheng et al., 2020). La plupart de ces espèces ont un lien fort avec l'humain ou jouent un rôle dans la fermentation industrielle de divers produits alimentaires, y compris les produits laitiers, les légumes fermentés, la viande et les boissons traditionnelles (Savadogo et al., 2011 ; Zhang et al., 2023).

Leur croissance optimale se situe entre 30 °C et 40 °C, avec un pH compris entre 5.5 et 6.2 (Tailliez, 2004). Ces bactéries se distinguent par des besoins nutritionnels complexes, incluant la nécessité d'un apport externe en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et minéraux essentiels (Ayed et al., 2024).

Leur taille génomique varie généralement entre 1.8 et 3.3 Mbp. *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* possède l'un des plus petits génomes (1.8 Mbp) codant environ 1 562 protéines, tandis que *Lactobacillus plantarum* dispose du génome le plus vaste (3.3 Mbp) avec plus de 3 000 gènes codants (Pfeiler et Klaenhammer, 2007).

Selon leurs caractéristiques physiologiques et métaboliques, notamment la température de croissance, la morphologie cellulaire et le mode de fermentation des hexoses, les lactobacilles peuvent être classés en deux groupes principaux : les homofermentaires, produisant essentiellement de l'acide lactique, et les hétérofermentaires, générant, en plus, du dioxyde de carbone, de l'éthanol et/ou de l'acide acétique (He et al., 2023).

Groupe 1 : *Thermobacterium*

Ce groupe réunit les espèces homofermentaires strictes, telles que *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *L. lactis* et *L. acidophilus* (fig 06). Ces bactéries utilisent la voie glycolytique d'Embden–Meyerhof–Parnas, convertissant une molécule d'hexose en deux molécules de lactate. Elles possèdent une aldolase, enzyme clé responsable de la conversion du fructose-1,6-diphosphate en deux molécules de triose phosphate. En revanche, elles ne disposent pas de phosphocétolase, ce qui les rend incapables de fermenter les pentoses ou le gluconate (Zhang et al., 2023). Les espèces de ce groupe jouent un rôle technologique majeur dans la fabrication du yaourt, des fromages affinés et des boissons probiotiques en raison de leur production d'acide lactique et de leur activité aromatique spécifique (Pfeiler et Klaenhammer, 2007; He et al., 2023).

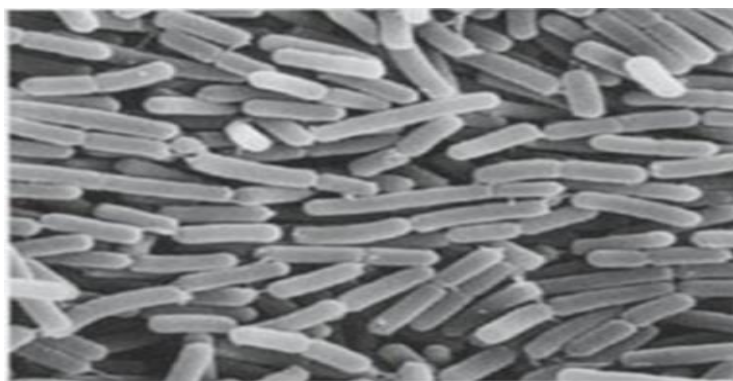


Figure 6. Morphologie de *Lactobacillus acidophilus* obtenues par MEB (Gr×7000)
(Bottazzi, 1988).

Groupe 2 : *Streptobacterium*

Les espèces appartenant à ce groupe, comme *Lactobacillus casei*, *L. plantarum* (**fig 07**) et *L. curvatus*, sont hétérofermentaires facultatives. Elles métabolisent les hexoses principalement via la voie d'Embden–Meyerhof, mais possèdent également la phosphocétolase, leur permettant de fermenter les pentoses et parfois le gluconate (**Batt, 2000**). En présence de glucose, les enzymes de la voie du phosphogluconate sont souvent réprimées, ce qui oriente le métabolisme vers une fermentation lactique plus rapide. Ces bactéries sont fréquemment isolées des aliments fermentés, des ensilages et des environnements végétaux riches en sucres (**Duar et al., 2023; Ayed et al., 2024**). Leur flexibilité métabolique en fait des espèces clés dans la stabilisation des fermentations mixtes et la conservation biologique des denrées alimentaires.

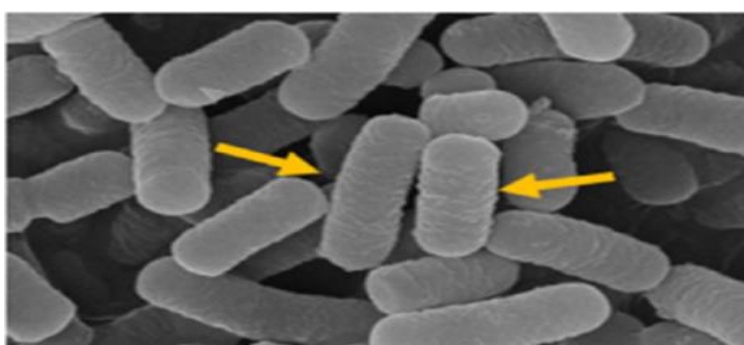


Figure 7. Aspect microscopie de *Lactobacillus plantarum* obtenues par MEB (Gr 10 000x)
(Chen et al., 2020)

Groupe 3 : *Betabacterium*

Le troisième groupe comprend les lactobacilles hétérofermentaires stricts, parmi lesquels *Lactobacillus fermentum*, *L. buchneri* et *L. brevis*. Chez ces espèces, la fermentation

des hexoses s'effectue par la voie du phosphogluconate, générant des quantités équimolaires d'acide lactique, d'éthanol (ou d'acide acétique) et de dioxyde de carbone (**Limsowtin et al., 2002**). Les pentoses peuvent également être métabolisés par cette voie, contribuant à la production d'énergie et de métabolites secondaires aromatiques. Ces bactéries se rencontrent fréquemment dans le tractus gastro-intestinal des mammifères et jouent un rôle important dans la maturation et l'aromatisation des fromages affinés et d'autres aliments fermentés riches en sucres complexes (**Ayed et al., 2024; He et al., 2023**).

II.4.2. *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* regroupe des bactéries lactiques Gram positif, de forme cocci (0.5–1.5 µm), formant des chaînes courtes, et classées parmi les mésophiles (**fig 8**). Elles fermentent les hexoses par voie homofermentaire, produisant principalement de l'acide lactique L (+), et présentent des exigences nutritionnelles complexes pour leur croissance (**Kleerebezem et al., 2020**). Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines (**Tamime, 2002**).

Le genre *Lactococcus* regroupe aujourd'hui plus d'une dizaine d'espèces connues, parmi lesquelles *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. raffinolactis*, *L. garviae*, *L. plantarum*, *L. piscium*, *L. chungengensis*, *L. fujiensis*, *L. taiwanensis*, *L. formosensis*, *L. hircilactis* et *L. laudensis* (**Mahony et al., 2023**).

D'un point de vue technologique, *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* représentent les espèces les plus importantes du genre, en raison de leur rôle central dans l'industrie laitière. Elles sont utilisées comme levains de fermentation pour l'acidification du lait et la production d'arômes, étapes essentielles à la fabrication de nombreux fromages et produits fermentés (**Kleerebezem et al., 2020**). Leur activité métabolique contribue non seulement à la stabilisation microbiologique du lait, mais aussi à l'élaboration des caractéristiques sensorielles et de la texture des produits finis (**Kleerebezem et al., 2020**).

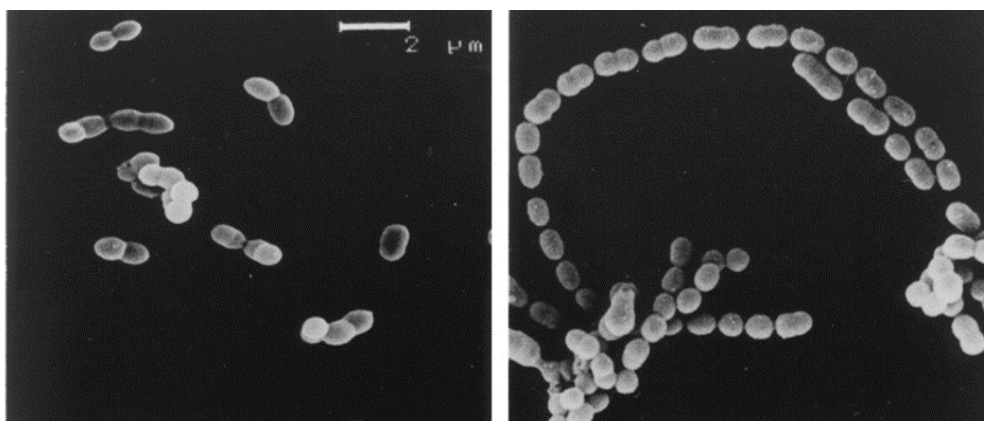


Figure 8. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie des cellules de *Lactococcus lactis* (Gr 10 000x) (**Grossiord et al., 2003**)

II.4.3. *Enterococcus*

Les entérocoques sont des cocci ovoïdes à Gram positif se présentant isolées, en paires, en chaînes courtes ou parfois regroupées en amas (**fig 09**), notamment lors de l'observation de la morphologie cellulaire à partir de cultures développées sur milieu solide. Les cellules bactériennes présentent souvent un allongement morphologique longitudinal, caractéristique des espèces appartenant à ce genre. Les entérocoques peuvent jouer un rôle bénéfique dans la maturation et le développement de l'arôme de certains produits alimentaires traditionnellement fermentés tels que les fromages et la charcuterie. Elles sont également utilisées comme probiotiques humains, pour traiter les maladies diarrhéiques causées par des pathogènes d'origine alimentaire (**Svec et Franz, 2014**).

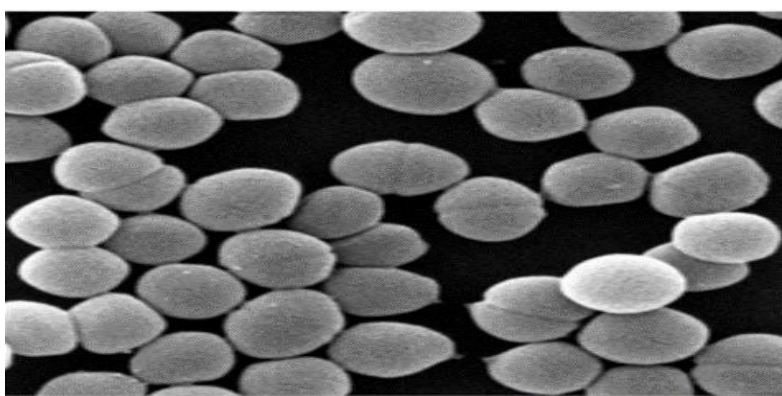


Figure 9. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie des cellules de *Lactococcus lactis* (Gr 10 000x)

(**Saelim et al., 2015**)

II.4.4. *Pediococcus*

Les bactéries du genre *Pediococcus* sont des cocci à Gram positif, caractérisés par une paroi cellulaire épaisse riche en peptidoglycane, ces microorganismes sont catalase, oxydase négatives et immobiles, non sporulants, dépourvus de flagelles (**fig 10**) et incapables de former des spores (**Doi et al., 2009 ; Porto et al., 2017**).

Sur le plan métabolique, les pédiocoques sont des bactéries homofermentaires, capables de fermenter le glucose principalement en acide lactique, sans production de gaz, ce profil fermentaire leur confère un rôle important dans la stabilisation microbiologique et la maturation de divers produits fermentés (**Doi et al., 2009**).

Concernant leur écologie, le genre *Pediococcus* est largement distribué dans la nature. Les pediocoques sont fréquemment isolés de matrices végétales, de produits fermentés (notamment les viandes et les produits laitiers), ainsi que du tractus digestif d'animaux et d'humains, ce qui témoigne de leur adaptation à des environnements variés et de leur importance dans les écosystèmes microbiens alimentaires (**Porto et al., 2017**).

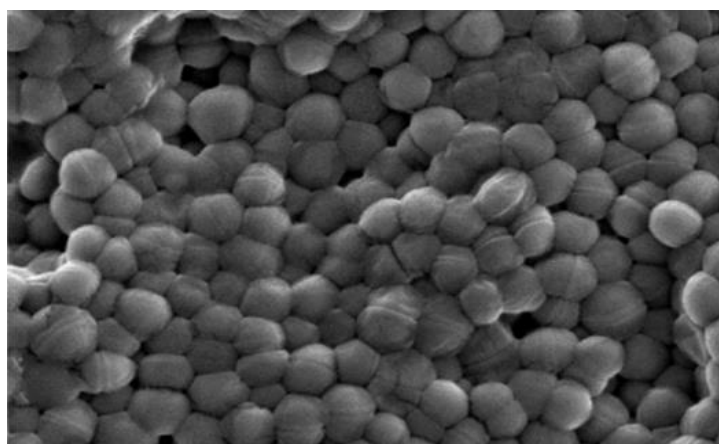


Figure 10. Micrographies obtenues par (MEB) illustrant la morphologie de Croissance des cellules de *Pediococcus acidilactici* MK20 sur milieu MRS, à 37°C pendant 18 heures (Gr 10 000x) (**Herdian et al., 2018**).

II.4.5. *Leuconostoc*, *Weissella* et *Oenococcus*

Les genres *Oenococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella* appartiennent au groupe des bactéries lactiques hétérofermentaires, caractérisées par la production d'acide lactique accompagnée d'autres métabolites tels que le dioxyde de carbone, l'éthanol ou l'acide acétique (**Bello et al., 2022**). Longtemps considérées comme appartenant à un même ensemble taxonomique, ces bactéries ont été clairement différenciées grâce aux approches modernes de phylogénie

moléculaire, notamment l'analyse des séquences de l'ARNr 16S et des gènes codant les protéines ribosomiques (Bello et al., 2022).

II.4.5.1 Taxonomie et évolution

Le genre *Oenococcus* a été détaché du genre *Leuconostoc* en 1995 à la suite de révisions phylogénétiques fondées sur des différences génomiques et métaboliques significatives. Il comprend actuellement quatre espèces reconnues : *O. oeni*, *O. kitaharae*, *O. alcoholitolerans* et *O. sicerae*. Parmi elles, *O. oeni* occupe une place particulière, étant spécialisée dans la fermentation malolactique du vin et du cidre, où elle transforme l'acide malique en acide lactique, adoucissant ainsi le goût tout en stabilisant le produit fini (Bello et al., 2022).

Le genre *Leuconostoc*, historiquement large, a été restreint par la création des genres *Oenococcus* et *Weissella*, ce qui a permis une meilleure classification des espèces selon leurs caractéristiques physiologiques et écologiques. Il regroupe aujourd'hui des espèces d'importance technologique majeure dans les fermentations alimentaires, notamment dans les produits laitiers, les légumes fermentés et certaines boissons traditionnelles. Ces bactéries sont reconnues pour leur capacité à produire des composés aromatiques, du dioxyde de carbone et des exopolysaccharides (EPS), qui contribuent à la texture et à la saveur des produits fermentés (Candelieri et al., 2024).

Le genre *Weissella*, quant à lui, a été établi en 1993 pour accueillir des espèces auparavant classées dans les genres *Leuconostoc* et *Lactobacillus*. Il compte désormais plus de vingt espèces identifiées, largement réparties dans les aliments fermentés, les végétaux, les milieux aquatiques, ainsi que le microbiote humain et animal. Certaines souches présentent un potentiel probiotique, notamment par la production de métabolites antimicrobiens et d'EPS, tandis que d'autres peuvent être opportunistes, responsables d'infections rares chez des individus immunodéprimés (Bello et al., 2022).

II.4.5.2. Caractéristiques écologiques et métaboliques

Sur le plan écologique, *Oenococcus* se distingue par sa capacité à tolérer des milieux acides et riches en alcool, tels que le vin, le cidre ou le kéfir, conditions dans lesquelles il réalise la fermentation malolactique essentielle à la stabilité microbiologique et à l'amélioration sensorielle des boissons fermentées (Verge et al., 2020).

Les espèces de *Leuconostoc* sont quant à elles ubiquitaires dans les environnements laitiers et végétaux, où elles participent activement aux fermentations spontanées. Leur activité métabolique aboutit à la production d'acide lactique, de gaz carbonique, d'arômes et d'exopolysaccharides, contribuant à la complexité organoleptique des produits et à leur stabilité microbiologique (**Candeliere et al., 2024**).

Enfin, le genre *Weissella* présente une écologie étendue et un métabolisme versatile, lui permettant de coloniser des niches très variées. Ses capacités à synthétiser des exopolysaccharides et à produire des composés bioactifs lui confèrent un intérêt croissant en biotechnologie alimentaire, notamment dans le développement de produits fonctionnels et probiotiques (**Ahmed et al., 2022**).

II.4.6. *Streptococcus*

Les membres du genre *Streptococcus* sont Gram positif, catalase négative, anaérobie facultatif ont la forme sphérique ou ovoïde, moins de 2µm de diamètre. Les streptocoques ne sont pas mobiles et ne forment pas de spores. La température optimale de croissance est habituellement d'environ 37°C, mais des températures de croissance minimale et maximale peuvent varier entre les espèces. Beaucoup d'entre elles sont commensales de l'homme et les animaux, et certaines sont hautement pathogènes (**Whiley et Hardie, 2009**).

II.4.7. Bifidobactéries

Les bifidobactéries constituent un groupe important de bactéries à Gram positif, appartenant à la famille des *Bifidobacteriaceae*. Elles se présentent sous forme de bacilles non mobiles, non sporulés, à métabolisme anaérobie strict ou aérotolérant selon les espèces, et sont dépourvues d'activité catalasique. Leur morphologie est variable, généralement en bâtonnets droits ou légèrement incurvés, parfois ramifiés en forme de Y ou de V (**fig 11**) (**Gavzy et al., 2023**).

Les conditions optimales de croissance varient selon l'origine de la souche ; les souches humaines se développent préférentiellement à des températures comprises entre 37 °C et 41 °C, sous un pH neutre ou légèrement acide (6.5 à 7.0) (**Andrade et al., 2020**).



Figure 11. Micrographies obtenues par (MEB) de la souche DSM 20083 (*Bifidobacterium Adolescentis*) (Gr 10 000x) (Dhanashree et al., 2017).

Les bifidobactéries occupent une niche écologique clé dans le tractus gastro-intestinal de l’homme et des animaux. Elles sont dominantes chez le nourrisson allaité, grâce à leur capacité à métaboliser les oligosaccharides du lait maternel (HMO), et sont également présentes dans certains environnements animaux et aliments fermentés d’origine végétale ou laitière (Gavzy et al., 2023).

Les bifidobactéries sont strictement saccharolytiques. Elles fermentent principalement les glucides complexes et les oligosaccharides pour produire de l’acide lactique et de l’acide acétique, selon la voie métabolique spécifique dite du fructose-6-phosphate phosphokétolase (ou voie bifidique) (Gavzy et al., 2023).

II.5. Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

La fonction principale des bactéries lactiques consiste à assurer l’acidification, la sécurité microbiologique et la fourniture de précurseurs d’arômes par le biais de la glycolyse, de la protéolyse voie métabolique majeure et de la lipolyse, généralement plus limitée (Coelho et al., 2022).

II.5.1. Pouvoir acidifiant

L’acidification du lait, via la production d’acide lactique à partir du lactose, est la propriété métabolique la plus recherchée chez les bactéries lactiques (BL) utilisées dans l’industrie laitière et en particulier dans l’industrie fromagère. Cette acidification rapide est cruciale pour la coagulation du lait et la suppression des microorganismes indésirables (Bintsis, 2018; Terzić-Vidojević et al., 2020).

Les starters (*Lactococcus*, *Streptococcus*) sont sélectionnés pour leur capacité à acidifier rapidement le lait, tandis que les bactéries lactiques non starter (BALNS), souvent issus de l'environnement laitier, présentent une acidification lente à modérée. Une acidification trop rapide par BALNS peut entraîner des défauts sensoriels, ces bactéries sont surtout valorisées pour leurs propriétés aromatiques et leur contribution à la texture et à la sécurité du produit final ((Grujović et al., 2024).

Ces différences fonctionnelles, ainsi que les types d'acidification observés selon les genres étudiés, sont synthétisées dans le **Tableau 4**, qui compare les capacités acidifiantes des principaux genres de bactéries lactiques.

Tableau 4. Comparaison des capacités acidifiantes des principaux genres de bactéries lactiques

Genre	Acidification	Rôle principal	Citations
<i>Lactococcus</i> / <i>Streptococcus</i>	Rapide	Coagulation, sécurité, starter	(Silva et al., 2023)
<i>Lactobacillus</i> (NSLAB)	Lente	Affinage, arômes, maturation	(Grujović et al., 2024).

II.5.2. Pouvoir protéolytique

La protéolyse, c'est-à-dire la dégradation enzymatique des caséines par BAL, est un événement central de la maturation fromagère. Les enzymes protéolytiques des BAL (protéinases de surface et peptidases intracellulaires) transforment les caséines en peptides puis en acides aminés libres (Olson, 1990; Asahina et al., 2020). Ces acides aminés sont ensuite catabolisés en composés aromatiques volatils, tels que des aldéhydes, alcools, composés soufrés et esters, qui contribuent fortement au profil sensoriel du fromage (Smit et al., 2005 ; Silva et al., 2023).

II.5.3. Pouvoir lipolytique

Les BAL présentent généralement une activité lipolytique faible ou nulle, ce qui est confirmé par de nombreux travaux où la majorité des souches testées n'exprime pas d'activité lipolytique détectable (Nicosia et al., 2023).

Cette caractéristique est considérée comme avantageuse, car une lipolyse excessive peut entraîner des défauts sensoriels, notamment des saveurs rances dans le fromage (Nicosia et al., 2023). Les BAL sont donc préférées comme cultures adjointes ou starters pour garantir un

développement aromatique équilibré sans excès d'acides gras libres (AGL) (Mukdsi et al., 2009).

Malgré leur faible activité lipolytique, la forte concentration de BAL et leur autolyse progressive pendant l'affinage libèrent des enzymes intracellulaires (notamment des estérases), qui contribuent à la libération d'AGL. Ces derniers sont des acides carboxyliques à longue chaîne à partir des triglycérides du lait (Collins et al., 2003 ; Mukdsi et al., 2009). Ces AGL, en particulier les acides gras à chaîne courte, sont des précurseurs majeurs de composés aromatiques volatils (esters, alcools, acides volatils) responsables du profil sensoriel du fromage (Coelho et al., 2022; Santamarina-García et al., 2022). L'action des estérases des BL est surtout marquée sur les mono- et diglycérides, et leur contribution à la lipolyse s'intensifie avec la durée de l'affinage et l'augmentation de la lyse cellulaire (Collins et al., 2003).

Une lipolyse trop intense d'origine microbienne ou enzymatique, conduit à la libération massive d'acides gras libres, notamment à chaîne courte (ex. butanoïque, hexanoïque). Lorsque leur concentration dépasse le seuil organoleptique, ces acides gras volatils génèrent des défauts sensoriels marqués, principalement des saveurs rances, piquantes, amères ou savonneuses, ce phénomène a été observé aussi bien avec des lipases microbiennes (ex. *Aspergillus oryzae*, *Pseudomonas spp.*) qu'avec des enzymes ajoutées ou issues de la flore naturelle du lait (Torres et al., 2021; Chintagavongse et al., 2024).

II.5.4. Pouvoir aromatisant

Les bactéries lactiques (BAL) transforment le lactose principalement en acide lactique, mais aussi en composés aromatiques tels que l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne, le 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate et le formiate. Ces composés proviennent de différentes voies métaboliques :

- **Lactose** : Par glycolyse, le lactose est converti en pyruvate, qui peut ensuite être transformé en diacétyl, acétoïne, acétaldéhyde, acétate, éthanol et formiate (Li et al., 2023).
- **Citrate** : Le métabolisme du citrate par certaines BAL (ex. *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuconostoc*) génère du diacétyl, de l'acétoïne et du 2,3-butanediol, responsables de l'arôme « beurré » (Melkonian et al., 2023).
- **Acides aminés** : Leur catabolisme produit des alcools, aldéhydes, acides, esters et composés soufrés, essentiels à la complexité aromatique (Widyastuti et al., 2014).

- **Lipides** : Les estérases des BAL libèrent des acides gras libres et des esters, contribuant à l'arôme, surtout dans les fromages à pâte molle (**Smit et al., 2005**).

Cette production de composés aromatiques par les BAL est fondamentale pour le profil sensoriel des laits fermentés, fromages frais, crèmes et beurre, où l'arôme dépend directement de l'activité microbienne (**Laslo et al., 2025**). La maîtrise des souches et des conditions de fermentation permet d'orienter la palette aromatique des produits laitiers.

II.5.5. Pouvoir texturant

Les BAL sont capables de synthétiser des exopolysaccharides (EPS) à partir de diverses sources de sucres (glucose, lactose, saccharose, etc.), ce qui confère aux aliments fermentés des propriétés fonctionnelles recherchées : augmentation de la viscosité, amélioration de la texture, réduction de la synérèse (rejet d'eau), et meilleure stabilité des gels (**Prete et al., 2021**). Les EPS agissent comme agents épaississants, émulsifiants et stabilisants naturels, remplaçant avantageusement les additifs synthétiques dans les produits laitiers, les alternatives végétales, les pains sans gluten et les produits carnés fermentés (**Jurášková et al., 2022**). La structure chimique, la masse moléculaire, la composition en monosaccharides et la concentration des EPS déterminent leur capacité à interagir avec les protéines du lait et autres composants alimentaires, modulant ainsi la fermeté, la viscosité et la sensation en appareil buccale (**Prete et al., 2021**). Même à faible concentration, les EPS produits in situ par les BAL peuvent significativement améliorer la texture et la stabilité des produits fermentés (**Mende et al., 2016; Fuso et al., 2023**).

Les EPS produits par BAL suscitent un intérêt croissant pour leurs effets bénéfiques sur la santé, notamment leur capacité à moduler le système immunitaire, à agir comme antioxydants, à réduire le cholestérol, à exercer des effets prébiotiques et à présenter des activités antitumorales et antimicrobiennes. Ces derniers peuvent stimuler ou réguler la réponse immunitaire selon leur structure, leur poids moléculaire et leur composition en sucres (**Jurášková et al., 2022**). Certaines études montrent aussi leur potentiel comme adjuvants vaccinaux ou agents de délivrance de médicaments (**Liu et al., 2025**).

II.5.6. Pouvoir antimicrobien

Les bactéries lactiques jouent un rôle clé dans la sécurité et la conservation des aliments fermentés grâce à la production de divers composés antimicrobiens. Leur action repose principalement sur l'acidification du milieu, la génération de peroxyde d'hydrogène, ainsi que la synthèse de bactériocines (**Ibrahim et al., 2021 ; Ahansaz et al., 2023**).

Chapitre III :

Fabrication

Fromagère

III.1. Définition du fromage

La production du fromage est un art qui remonte à l'Antiquité, et le fromage est mentionné dans les textes historiques comme un aliment précieux. C'est un aliment à haute valeur nutritionnelle, riche en protéines, en minéraux et à haute valeur biologique, largement décomposées et donc plus digestes (**Rinaldi et al., 2023**).

La fabrication fromagère peut être considérée comme un phénomène d'agglomération, correspondant à une synérèse, associée à un phénomène d'écoulement. Il s'agit d'une liaison des éléments protéiques du lait, de la caséine principalement, plus ou moins modifiées, qui emprisonnent les autres constituants et, ensuite, la formation d'une masse du caillé moulé. (**Luquet, 1990 ; Wu et al. 2023; Hueso et al., 2024**).

III.2. Principales étapes de la fabrication du fromage

La production du fromage comprend trois étapes technologiques fondamentales. La première consiste en la coagulation du lait, marquée par la formation d'un gel de caséines, induite soit par l'action enzymatique de la présure, soit par une acidification. La deuxième étape correspond à l'égouttage du gel et enfin, la troisième étape est le salage, réalisé soit par incorporation directe de sel, soit par immersion du caillé dans une saumure. L'enchaînement de ces trois opérations caractérise la technologie de fabrication des fromages frais (**Cipolat-Gotet et al., 2016 ; Kayihura, 2023 ; Soleimani et al., 2024**).

Les fromages affinés, quant à eux, subissent une étape supplémentaire, appelée affinage, au cours de laquelle se développent des transformations biochimiques et microbiologiques responsables de la texture et de la saveur caractéristiques du produit final (**McSweeney, 2004; Mureşan et al., 2021**).

III.2.1. Coagulation du lait

La coagulation du lait repose sur l'association des micelles de caséine, modifiées physico- chimiquement par acidification ou par l'action d'enzymes coagulantes. Ce processus aboutit à la formation d'un coagulum (gel) (**Yang et al., 2022**).

III.2.1.1. Coagulation enzymatique

L'enzyme (comme la présure) hydrolyse la liaison Phe105-Met106 de la caséine κ à la surface des micelles, réduisant leur stabilité colloïdale. Cela permet l'agrégation des micelles par interactions hydrophobes et les ponts calciques, formant un réseau gélifié. La vitesse et la

fermeté du gel dépendent du pH, de la concentration en enzyme et de la composition minérale du lait (Fox et al., 2017; Kayihura, 2023).

III.2.1.2. Coagulation acide

L'acidification du lait (par fermentation ou ajout d'acide) diminue la charge négative des micelles et dissout le phosphate de calcium colloïdal, favorisant leur rapprochement et leur agrégation à un pH proche du point isoélectrique des caséines (~4.6). Les interactions hydrophobes et la diminution des répulsions électrostatiques conduisent à la formation d'un gel (Foroutanparsa et al., 2021 ; Foroutanparsa et al., 2023).

III.2.2. Egouttage du caillé

L'égouttage est une étape clé du procédé fromager, déterminant la quantité de lactosérum éliminée, la texture, le pH, l'activité de l'eau (a_w) et la composition chimique du caillé, influençant ainsi l'affinage du fromage (Basset et al., 2023). Ces paramètres jouent un rôle essentiel dans le déroulement et la maîtrise de l'affinage du fromage. Les principaux facteurs technologiques impliqués dans cette phase ainsi que leur impact sur l'égouttage sont présentés dans le **Tableau 5**.

Tableau 5. Facteurs clés de la fabrication fromagère et impact sur l'égouttage

Facteur	Effet sur l'égouttage	Références
Pression/filtration	Accélère, mais résistance croissante	(Basset et al., 2023)
Température	Accélère à chaud, ralentit à froid	(Basset et al., 2023)
Acidification rapide (pH)	Favorise l'expulsion du lactosérum	(Basset et al., 2023)
Coagulation enzymatique	Réseau ferme, égouttage efficace	(Basset et al., 2023)
Caséine/matière grasse élevées	Ralentit l'égouttage	(Vacca et al., 2019)
Protéines solubles	Augmente la rétention d'eau	(Vacca et al., 2019)

III.2.2.1. Facteurs influençant l'égouttage

III.2.2.1.1. Facteurs directs (mécaniques et thermiques)

L'application de pressions (pressage, filtration frontale) accélère l'égouttage, mais la résistance du caillé augmente avec le temps, ralentissant le processus. La température de traitement influence aussi la vitesse d'expulsion du lactosérum (Basset et al., 2023).

III.2.2.1.2. Facteurs indirects (acidification, coagulation enzymatique)

L'acidification rapide (pH bas) favorise une meilleure expulsion du lactosérum. La coagulation enzymatique (présure) produit un réseau protéique plus ferme, facilitant l'égouttage par rapport à la coagulation lactique (**Basset et al., 2023**).

III.2.2.1.3. Facteurs liés à la matière première

La richesse en caséine, protéines solubles et matière grasse du lait influence la rétention d'eau et la vitesse d'égouttage. Un lait riche en caséine ou en matière grasse ralentit l'égouttage, tandis qu'une concentration élevée de protéines solubles peut augmenter la rétention d'eau dans le caillé (**Vacca et al., 2019**).

III.2.3. Salage

Le salage est une étape essentielle dans la fabrication des fromages affinés, influençant la conservation, la texture, la saveur, la sécurité microbiologique et l'affinage. La teneur en sel, la méthode de salage employée et leurs effets sur les propriétés texturales et sensorielles des différents types de fromages sont présentés dans le **tableau 06**.

Tableau 6. Salage et teneur en sel des fromages : méthodes et impact

Type de fromage	Teneur en sel (g/100g)	Méthode principale	Effets sur texture et goût	Références
Fromages à pâte dure	0,5–2	Saumure, sec	Texture ferme, goût équilibré	(Kaminarides et al., 2019)
Fromages bleus/chèvres	3–4	Sec, saumure	Saveur prononcée, texture friable	(Amer et al., 2023)
Fromages orientaux	8–15	Saumure concentrée	Conservation longue, goût salé	(Amer et al., 2023 ; Estrada et al., 2019)

III.2.3.1. Méthodes du salage

III.2.3.1.1. Salage en saumure (brining)

Utilisé pour l'Emmental, le Camembert et de nombreux fromages méditerranéens. La concentration de la saumure (7–24 % NaCl), la température et la durée influencent la pénétration du sel, la perte d'eau et la texture. Plus la saumure est concentrée et le temps long, plus la teneur en sel augmente et la texture devient ferme (**Amer et al., 2023; Estrada et al., 2019 ; Kaminarides et al., 2019**).

III.2.3.1.2. Salage à sec (dry salting)

Le sel est appliqué directement sur la surface ou mélangé au caillé. Cette méthode donne souvent une texture moins dure et une diffusion du sel plus homogène à court terme, mais peut être plus laborieuse (Amer et al., 2023 ; Kaminarides et al., 2019).

III.2.3.1.3. Salage en masse

Traditionnel dans certains fromages méditerranéens, il permet une conservation prolongée et influence la durée de coagulation et d'égouttage (Amer et al., 2023 ; Estrada et al., 2019).

III.2.3.2. Effets du sel sur la croissance microbienne

La concentration en sel dans le fromage exerce une action sélective sur la flore microbienne et inhibe l'activité enzymatique, avec des seuils d'inhibition (tab 07) pour différentes espèces (Gagnaire et al., 2022).

Tableau 7. Seuils d'inhibition des microflore selon la concentration en sel

Microorganisme	Inhibition observée à (g/100g)	Références
BAL	>2,5 (ralentie), >5 (quasi nulle)	(Balabanov et al., 2023 ; Leclercq-Perlat et al., 2024)
<i>Geotrichum candidum</i>	>2,4	(Leclercq-Perlat et al., 2024)
<i>Penicillium roqueforti</i>	3–6	(Huang et al., 2021)
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	>1,1	(Gagnaire et al., 2022)

III.2.3.2.1. Bactéries lactiques (levains)

La croissance des bactéries lactiques est significativement réduite lorsque la teneur en sel dépasse 2.5 g/100 g, et devient quasi nulle au-dessus de 5 g/100 g. Des études récentes montrent que dans des fromages avec 3.1% de NaCl (~3.1 g/100 g), la population de bactéries lactiques est nettement plus faible que dans des fromages à 0.7% ou 1.5% de sel (McMahon et al., 2014; Balabanov et al., 2023).

III.2.3.2.2. Levures et moisissures

À faible teneur en sel, la croissance des levures et moisissures est favorisée, mais elle est inhibée à des concentrations plus élevées. Par exemple, la croissance de *Geotrichum candidum* est fortement inhibée à 2.4% de sel (**Leclercq-Perlat et al., 2024**), la germination des spores de *Penicillium roqueforti* est inhibée dans une fourchette de 3 à 6 g/100 g de sel, ce qui limite son développement dans les fromages bleus fortement salés (**Huang et al., 2021**).

III.2.3.2.3. Autres bactéries

Certaines bactéries d'affinage (ex. *Propionibacterium*) voient leur croissance ralentie dans les fromages à forte teneur en sel (**Gagnaire et al., 2022**).

III.2.4. Affinage des fromages

L'affinage constitue l'étape la plus complexe et déterminante de la fabrication des fromages maturés. Il s'agit d'un processus biochimique, microbiologique et physique qui s'étend sur plusieurs semaines à plusieurs mois selon le type de fromage (**Anastasiou et al., 2022 ; Atasever et Mazlum, 2024**).

Durant cette phase, des transformations profondes se produisent dans la matière protéique, lipidique et glucidique du caillé, sous l'action combinée :

- Des enzymes endogènes du lait et de la présure,
- Des microorganismes (bactéries lactiques, levures, moisissures, microflore de surface ou internes),
- Et des facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité relative et la circulation d'air (**McSweeney, 2023**).

Ces interactions complexes entraînent une protéolyse, une lipolyse et une glycolyse progressives, qui modifient la structure du réseau de caséines, libèrent des acides aminés, des acides gras libres et des composés volatils responsables de la texture, de la saveur et de l'arôme caractéristiques du fromage affiné (**McSweeney, 2023**).

Le **tableau 08** présente les étapes clés de l'affinage ainsi que les transformations majeures associées à chaque processus.

Tableau 8. Étapes et transformations majeures durant l’affinage

Étape clé	Transformation principale	Impact sur le fromage	Références
Protéolyse	Dégradation des protéines	Texture, arômes, saveurs	(Atasever et Mazlum, 2024 ; McSweeney, 2004).
Lipolyse	Hydrolyse des lipides	Arômes, texture	(Atasever et Mazlum, 2024 ; McSweeney, 2004).
Métabolisme	Transformation des sucres/acides	Saveurs, couleur, porosité	(Atasever et Mazlum, 2024 ; McSweeney, 2004).
Microbiologie	Succession microbienne	Profil aromatique, sécurité	(Atasever et Mazlum, 2024 ; Anastasiou et al., 2022).

III.2.5. Rôle de la flore microbienne et des conditions d’affinage

La flore microbienne joue un rôle central dans la dynamique de l’affinage et la formation des caractéristiques sensorielles du fromage (Atasever et Mazlum, 2024).

Elle est composée de microorganismes starters (inoculés volontairement, comme les bactéries lactiques mésophiles ou thermophiles) et de microflore non-starters (levures, bactéries adventices et moisissures environnementales) qui colonisent naturellement la pâte ou la croûte au cours de la maturation (Atasever et Mazlum, 2024).

Ces populations se succèdent selon les conditions physico-chimiques du milieu (pH, teneur en sel, disponibilité en oxygène, humidité, température) et interagissent par compétition ou synergie. Cette succession microbienne régule la vitesse et la nature des réactions biochimiques telles que la protéolyse, la lipolyse et la glycolyse, déterminant ainsi la texture, la porosité, la couleur et surtout le profil aromatique du fromage (Dherbécourt et al., 2021).

Les bactéries lactiques assurent principalement l’acidification et la première dégradation des caséines, tandis que les levures neutralisent partiellement l’acidité et favorisent la croissance de microflore secondaires. Les moisissures de surface ou internes (comme *Penicillium camemberti* ou *Penicillium roqueforti*) produisent des enzymes extracellulaires

puissantes (protéases, lipases) qui approfondissent la maturation en générant des peptides, acides aminés et composés volatils responsables des arômes typiques (**Anastasiou et al., 2022; Bachmann et al., 2023**).

Les conditions d'affinage (température, humidité relative, aération, durée) modulent directement l'activité de ces microorganismes. Par exemple, une humidité élevée favorise la croissance des levures et des moisissures, alors qu'une température trop basse ralentit la protéolyse et la lipolyse (**Mureşan et al., 2021; Atasever et Mazlum, 2024**).

III.3. Fabrication fromagère à caractère lactique

Un fromage « à caractère lactique » repose d'abord sur l'acidification par les bactéries lactiques (BAL). Cette voie technologique conditionne la texture tendre, le goût acidulé et la typicité aromatique des fromages (**Coelho et al., 2022**).

III.3.1. Préparation et standardisation du lait

III.3.1.1. Sélection et Prétraitement

La qualité du lait est un facteur clé dans la fabrication du fromage, car sa composition initiale influence directement les propriétés finales du produit. Avant la transformation, le lait subit plusieurs opérations technologiques, notamment la filtration pour éliminer les impuretés et la standardisation de la matière grasse afin d'assurer une composition constante. Le traitement thermique appliqué dépend du type de fromage : le lait cru est maintenu à 4°C pour préserver la flore indigène, la thermisation à 63-65°C pendant 15-20s est utilisée pour les fromages traditionnels (**Garcia et al., 2022**).

III.3.1.2. Conditionnement Thermique

Selon la température d'ensemencement joue un rôle crucial dans l'optimisation du développement des ferments lactiques. À ce stade, le lait est chauffé à des températures précises en fonction du fromage souhaité : généralement entre 20 et 24 °C pour les fromages frais, et entre 30 et 35 °C pour les fromages destinés à l'affinage. Ces conditions de température stimulent l'activité métabolique des bactéries lactiques et déterminent la vitesse d'acidification ainsi que les propriétés sensorielles du produit fini (**Liu et al., 2023**).

III.3.2. Ensemencement et acidification

III.3.2.1. Sélection des Ferments

Le choix des ferments lactiques est crucial pour définir les propriétés technologiques et sensorielles du fromage. D'après **Zhang et al. (2023)**, certaines espèces de bactéries lactiques

sont essentielles pour le développement du caractère lactique et de la structure du produit. *Lactococcus lactis subsp. lactis* et *cremoris* jouent un rôle primordial dans la première acidification du lait et la formation de la structure fromagère. Quant à *Leuconostoc mesenteroides* pour produire CO₂, ce qui favorise l'apparition d'une ouverture et de notes aromatiques distinctes.

III.3.2.2. Techniques d'ensemencement

L'inoculation du lait, effectuée avec une quantité variant de 0.5 à 2 %, est suivie d'une étape de maturation de 30 à 60 minutes qui favorise l'activation des ferments lactiques. Il est crucial de maîtriser le pH, une mesure idéale se situant entre 6.2 et 6.4 influençant l'efficacité de l'emprésurage et la qualité du caillé produit (Zhang et al., 2023).

III.3.2.3. Coagulation lactique

La coagulation lactique est issue d'une acidification évolutive du lait provoquée par l'action des bactéries lactiques. Elle est perfectionnée par un contrôle minutieux du temps (12–24 h), de la température (20–25 °C) et du pH final (4.6–4.8), des paramètres essentiels pour garantir une coagulation performante et une texture pertinente pour le caillé (Chen et al., 2024).

III.3.2.4. Traitement du caillé

Le fromage est soumis à un découpage minutieux pour préserver son aspect, 1-2 cm pour les fromages frais, puis un égouttage naturel pendant 2-6 heures qui permet l'élimination graduelle du lactosérum. Par la suite, le moulage est effectué pour définir la forme finale du fromage, suivi par un pressage doux pendant 2-12 heures destinée à consolider la structure sans modifier la texture du fromage (Wang et al., 2023).

III.3.3. Techniques de Salage

Le salage est une phase cruciale du processus de fabrication du fromage, car il contribue à la régulation de la flore microbienne, à la gestion de l'activité enzymatique et au développement des propriétés sensorielles du fromage. Cela peut être effectué par salage à sec, par immersion dans une immersion ou selon une méthode combinée, chaque technique affectant de manière différente la propagation du sel et le développement microbologique du produit (Martinez et al., 2024).

III.3.4. Conditions d'Affinage

L'affinage est alors réalisé dans des conditions de température et d'humidité régulées, pour des périodes qui varient selon le type de fromage. Cette étape s'accompagne de traitements réguliers, comme le retournement, le nettoyage ou le brossage, dans le but de garantir un

développement uniforme de la texture, de la croûte et des éléments aromatiques (**Martinez et al., 2024**).

III.3.5. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est reconnue comme une méthode fondamentale et irremplaçable pour évaluer la qualité globale des produits laitiers, notamment le lait et les fromages. Elle repose sur l'évaluation structurée des caractéristiques organoleptiques (texture, arômes, aspect visuel) par un panel d'évaluateurs formés, permettant de juger l'acceptabilité et la typicité du produit (**Hernández-Arencibia et al., 2024**).

La texture du fromage, exprimée par la mollesse, l'onctuosité ou la friabilité, constitue un critère sensoriel majeur influençant l'acceptabilité du produit, ces attributs étant étroitement liés aux propriétés rhéologiques et au degré d'affinage (**Hutchings et al., 2024**).

Le profil aromatique, dominé par des notes lactiques et acidulées dans les fromages frais, évolue vers des arômes fruités au cours de l'affinage, sous l'effet des transformations biochimiques des protéines et des lipides par la flore microbienne (**Macedo et al., 2025**).

L'aspect visuel, notamment la présence d'une croûte naturelle ou fleurie et l'homogénéité de la pâte, constitue un indicateur essentiel de la maîtrise technologique et de la qualité globale du fromage (**Macedo et al., 2025**).

III.4. Les fromages traditionnels algériens

Les fromages traditionnels algériens constituent un patrimoine alimentaire et culturel majeur, intimement lié aux terroirs et aux savoir-faire pastoraux locaux. Ils se caractérisent par une grande diversité de formes, de textures et de goûts, allant des fromages frais aux fromages extra durs ou aux pâtes molles affinées. Elaborés artisanalement à partir de laits de vache, brebis ou chèvre, souvent crus, ils reposent sur des fermentations spontanées dominées par les bactéries lactiques natives, qui façonnent leurs qualités organoleptiques et nutritionnelles. Bien que certains soient aujourd'hui menacés par l'industrialisation et l'évolution des habitudes alimentaires, ils représentent un potentiel important de valorisation locale et de préservation d'un héritage fromager méditerranéen singulier.

III.4.1. Jben (Aguissi)

Le Jben (Aguissi) est un fromage traditionnellement fabriqué dans les pays du Maghreb ; cette appellation recouvre toutefois des itinéraires technologiques très diversifiés, conduisant

à des produits aux caractéristiques sensorielles et physico-chimiques variées (**Leksir et al., 2019 ; Benkirane et al., 2022**).

Le J'ben est l'un des plus populaires : sa méthode de fabrication artisanale demeure largement utilisée et sa consommation augmente dans les zones steppiques, en raison de ses agréables propriétés organoleptiques et nutritionnelles liées à une microflore indigène active (**Dahou et al., 2021 ; Boumediene et al., 2024**). En Algérie, le Jben est un fromage frais traditionnel produit à petite échelle dans certaines zones limitées de l'Est et de l'Ouest, il est élaboré à partir de laits crus de brebis, de vache ou de chèvre, coagulés à l'aide de fleurs séchées de chardon sauvage (*Cynara cardunculus L.*), sans ajout de levains industriels (**Benheddi et Hellal, 2019 ; Tabet et al., 2023**).

III.4.2. Klila

Le klila est un fromage traditionnel extra-dur obtenu à partir de lait caillé et totalement déshydraté. Après caillage spontané du lait par la flore adventice, le caillé est baratté pour séparer le beurre du lben (lait fermenté écrémé). Le lben est ensuite soumis à un chauffage modéré jusqu'à floculation et séparation du petit-lait ; le caillé obtenu est égoutté et légèrement pressé pour donner un fromage frais, pauvre en matière grasse, consommable tel quel ou destiné au séchage (**Mourad et Bettache, 2020 ; Benamara et al., 2022**).

Pour le séchage, le klila frais est émietté sur un linge propre et placé dans un endroit ombragé et bien aéré (ou exposé au soleil selon les régions), jusqu'à déshydratation complète. Une fois durci, il se présente sous forme de morceaux très durs, à faible activité de l'eau ($< 0,5$), qui peuvent être conservés plusieurs mois et utilisés en hiver comme source concentrée de protéines (**Mourad et Bettache, 2020**). Produit de manière empirique dans plusieurs régions d'Algérie, le klila était traditionnellement commercialisé par les tribus nomades sahariennes sur les marchés du Tell. Il peut être consommé frais ou sec : sous forme sèche, il est généralement râpé ou concassé et incorporé dans des préparations culinaires (couscous, berkoukes, plats céréaliers), tandis que sous forme fraîche il peut être ajouté à la pâte à pain pour la préparation de galettes locales comme le M'laoui ou la Kesra (**Leksir et Chemmam, 2015 ; Benamara et al., 2022**).

III.4.3. Adhghass

C'est un fromage élaboré à partir de colostrum. Celui-ci est chauffé jusqu'à séparation du lactosérum, puis le caillé obtenu est travaillé à feu doux avec addition de sel et d'œufs.

L'Adhghess est consommé tel quel ou accompagné de galette. Dans la wilaya d'Oum El-Bouaghi, 41 % des femmes enquêtées en assurent la fabrication (**Khoualdi, 2017**).

III.4.4. Kemariya (Takemmarite)

C'est un fromage traditionnel élaboré exclusivement à partir de lait de chèvre, produit par des femmes selon des procédés artisanaux dans la vallée du M'zab, notamment dans les wilayas de Ghardaïa et de Naâma (**Leksir et al., 2019**).

La Kemariya est le plus souvent consommée en dessert lors des fêtes de fin d'année, accompagnée de miel, de cacahuètes et servie avec du thé à la menthe. Sa coagulation se fait à l'aide de présure d'origine végétale ou animale, et elle peut également être préparée à partir de lait de vache ou de chamelle (**Leksir et al., 2019**).

III.4.5. Mechouna (Chnina)

C'est un fromage traditionnel, à pâte molle et consommé frais, élaboré à partir de lait de chèvre ou de vache. La fabrication débute par le chauffage du lait jusqu'à ébullition, puis l'ajout de « Lben » (lait fermenté) et de sel, la quantité de Lben correspondant à la moitié du volume de lait. Le mélange est ensuite réchauffé jusqu'à coagulation, entraînant la séparation du caillé et du petit-lait.

Le caillé est isolé par filtration à l'aide d'une passoire ménagère et d'une mousseline, puis suspendu pour un égouttage complet, généralement pendant toute une nuit, avant d'être pressé (**Derouiche et Zidoune, 2015**).

Le fromage obtenu est placé dans des récipients en verre au frais, pour une durée de conservation maximale de six jours. Pour enrichir ses qualités organoleptiques, il peut être aromatisé avec diverses épices ; dans ce cas, la « Mechouna » (**fig 12**) prend le nom de « Chnina » (**Derouiche et Zidoune, 2015**).



Figure 12. Fromage Mechouna (**Derouiche et Zidoune, 2015**)

III.4.6. Ioulsân (Aoules)

L'Ioulsân est un fromage traditionnel algérien produit par les Touaregs du Hoggar (Ihaggarren), peuple du Sahara algérien. Il s'agit d'un fromage sec à très forte teneur en matière sèche (87 à 92 %), obtenu par chauffage modéré de « Lben » écrémé de chèvre, coagulé spontanément (**Leksir et al., 2019**).

Ce lait fermenté est chauffé dans un récipient en argile jusqu'à précipitation des caséines ; le caillé est ensuite égoutté dans un panier en paille, façonné en petits cylindres plats, puis séché au soleil, ce qui lui confère sa texture très sèche et sa bonne conservation (**Leksir et al., 2019**).

III.4.7. Takammart

Takammart, qui signifie « fromage » en tamahaq (langue des Touaregs), est un produit traditionnel consommé dans la région du Hoggar. Il est élaboré à partir de lait cru de chèvre ou de chamelle, dans lequel on introduit un fragment de caillette séchée de chevreau servant de présure (**Meghoufel, 2019 ; Nyamakwere et al., 2021**).

Après coagulation, le caillé est prélevé à la louche, puis déposé et pétri sur des nattes garnies de tiges de fenouil, ce qui lui confère un arôme particulier, les nattes sont ensuite mises à sécher au soleil durant deux jours, avant d'être placées à l'ombre jusqu'au durcissement complet du fromage (**Leksir et al., 2019 ; Nyamakwere et al., 2021**).

III.4.8. Medghissa

« Imdeghest » ou « Medghissa » est un fromage fondu originaire de la région des Chaouias, dans le Nord-Est de l'Algérie. Il est obtenu en faisant cuire à feu doux du Klila semi-sec dans du lait entier de vache, de chèvre ou de brebis (**Leksir et al., 2019**).

Selon **Khoualdi (2017)**, le Medghissa se présente comme un fromage à pâte molle, à saveur légèrement acidulée. Il se consomme le plus souvent chaud, accompagné de son lactosérum, puis sa texture se raffermi après refroidissement.

III.4.9. J'ben El Gafs

Le J'ben El Gafs est un fromage traditionnel algérien mi-gras à pâte molle, présentant un affinage poussé qui lui confère une saveur et une texture spécifiques. Sa production reste concentrée dans les zones steppiques de la wilaya de M'sila, en particulier autour de Boussaâda, au Nord-Est de l'Algérie, où il est fabriqué de manière artisanale et constitue un élément important du patrimoine alimentaire local (**Kaddour Pacha, 2025**).

Le J'ben El Gafs parmi les fromages mous affinés, élaborés à partir de lait cru de vache et maturés environ 15 jours dans une « cage » végétale d'alfa (**fig 13**), sous l'action fermentaire de la microflore indigène. Cette flore lactique autochtone, dominée notamment par *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*, joue un rôle central dans l'acidification, la sécurité microbiologique et le développement de l'arôme typique du fromage (**Saidane et al., 2021**).



Figure 13. Fromage J'ben El Gafs (**Saidane, 2022**)

III.4.10. Bouhezza

C'est un fromage à pâte molle, typique de la région chaouie (Est algérien). À l'origine élaborée surtout à partir de laits de chèvre et de brebis, la bouhezza est aujourd'hui de plus en plus produite avec du lait de vache (**Leksir et al., 2019 ; Medjoudj et al., 2019**).

La technologie est particulière : le fromage est obtenu à partir de lait cru (de chèvre, brebis et/ou vache selon le troupeau familial). La coagulation spontanée, le salage, l'égouttage et l'affinage ont lieu simultanément à l'intérieur du sac en peau animale naturelle et perméable appelée chekoua ou jeld de bouhezza. L'analyse sensorielle montre que la bouhezza se caractérise principalement par deux descripteurs d'arôme et d'odeur, associés aux notes lactiques et animales (**Aissaoui Zitoun et al., 2011 ; Medjoudj et al., 2019**).

Chapitre IV:

Activité

protéolytique

en fromagerie

L'affinage du fromage est un processus complexe et multidimensionnel au cours duquel s'opèrent de nombreuses transformations biochimiques. Parmi celles-ci, la protéolyse désigne l'hydrolyse des protéines du lait, principalement les caséines, en peptides et en acides aminés libres sous l'action d'enzymes endogènes (présure, plasmines du lait) et exogènes (enzymes microbiennes des ferments et flores d'affinage) (Lepilkina et al., 2023; Atasever et Mazlum, 2024).

La protéolyse joue un rôle majeur, car elle influence à la fois la texture, la saveur, et l'arôme du produit fini (Fox et McSweeney, 2017). Ce processus se déroule en deux grandes étapes successives :

IV.1. Protéolyse primaire

La protéolyse primaire constitue donc la première étape clé de ce processus, déterminant l'évolution ultérieure du fromage pendant sa maturation. Elle correspond à la dégradation initiale des caséines (α 1, α 2, β et κ) par les enzymes coagulantes telles que la chymosine, la plasmine, ou certaines protéinases microbiennes. Les produits de cette étape sont principalement des peptides de haut et moyen poids moléculaire, qui servent de substrats à la microflore d'affinage (Lepilkina et al., 2023; Atasever et Mazlum, 2024).

IV.1.1. Mécanismes de la protéolyse primaire

La protéolyse primaire représente l'initiation de l'hydrolyse des protéines du lait lors du processus de maturation du fromage. Elle commence après la coagulation et est catalysée par la présure (chymosine), la plasmine ainsi que les protéinases microbiennes (Esmailzadeh et al., 2025).

IV.1.1.1. Nature et structure des caséines

Les caséines sont des phosphoprotéines majoritaires du lait, représentant environ 80 % des protéines totales. Elles comprennent les α 1-, α 2-, β - et κ -caséines, codées par des gènes distincts et présentes en proportions variables selon l'espèce. Leur richesse en proline limite la formation de structures secondaires régulières, leur conférant une conformation flexible et désordonnée (Głąb et Boratýnski, 2017; Runthala et al., 2023).

IV.1.1.2. Structure moléculaire des caséines

- **Structure primaire** : séquence d'acides aminés spécifique à chaque type de caséine, avec de nombreux sites de phosphorylation (surtout sur les α 1-, α 2- et β -caséines) et de glycosylation (κ -caséine).

- **Structure secondaire et tertiaire** : faible proportion d'hélices α et de feuillets β , absence de structure tertiaire compacte, conformation dite « random coil » ou intrinsèquement désordonnée.
- **Propriétés** : amphiphiles, avec des régions hydrophiles et hydrophobes, facilitant l'auto-assemblage.

Les caséines s'assemblent en micelles, structures colloïdales sphériques stabilisées par le calcium et le phosphate. Le cœur hydrophobe (α S1-, α S2-, β -caséines) est entouré d'une couche périphérique hydrophile de κ -caséine, qui empêche l'agrégation excessive, Les micelles contiennent aussi des nanoclusters de phosphate de calcium amorphe, liés aux résidus phosphorylés (Głąb et Boratýnski, 2017; Runthala et al., 2023).

IV.1.1.3. Action des enzymes

La chymosine, principale protéase de la présure, hydrolyse spécifiquement la liaison Phe105–Met106 de la κ -caséine, libérant la glycomacropeptide (GMP) dans le lactosérum et formant la para- κ -caséine insoluble. Cette réaction déstabilise la micelle de caséine, réduit la répulsion stérique et la charge négative de surface, et induit l'agrégation des micelles, formant ainsi le gel de caséine (caillé) (Chen et al., 2021 ; Nair et Corredig, 2021).

L'agrégation est facilitée par les interactions hydrophobes et la présence de calcium (Chen et al., 2021 ; Nair et Corredig, 2021).

Des résidus de chymosine restent actifs dans le fromage affiné et poursuivent l'hydrolyse des caséines internes (α s1- et β -caseines), générant des peptides de haut poids moléculaire (PHPM), qui servent de substrats à la protéolyse secondaire par les enzymes microbiennes (Gagnaire et al., 2011 ; Chen et al., 2021). Cette activité résiduelle influence la texture, la fermeté et le développement de la saveur du fromage (Li et al., 2023).

La plasmine, qui est la protéase endogène dominante du lait, joue un rôle primordial dans l'hydrolyse des β -caséines, surtout pendant le processus d'affinage ou suite à une conservation prolongée, en raison de l'activation du plasminogène. Elle favorise la coupure des liaisons Lys-X et Arg-X, produisant des peptides hydrosolubles tels que les γ -caséines et les proteose-peptones, très présents dans les fromages à pâte molle et responsables de leur consistance crémeuse. Une augmentation de l'activité de la plasmine intensifie la décomposition du réseau protéique, ce qui rend le fromage plus tendre, moins élastique et plus friable (O'Mahony et Kelly, 2021 ; France et al., 2023).

Outre la chymosine et la plasmine, des enzymes d'origine microbienne contribuent à la protéolyse primaire. Les protéines de l'enveloppe cellulaire (PEC) produites par des bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus* ont la capacité d'hydrolyser les caséines natives. Cette action provoque la libération de peptides et d'acides aminés, qui stimulent la prolifération bactérienne et participent à la formation de la texture et des saveurs du fromage, tout en stimulant la décomposition des protéines du lait (**Ahansaz et al., 2023**).

Certaines moisissures, notamment *Penicillium camemberti* (croûte fleurie) et *Penicillium roqueforti* (croûte persillée), sécrètent des protéases et peptidases extracellulaires puissantes. Ces enzymes accélèrent la dégradation initiale de la matrice protéique, surtout dans les fromages à pâte molle ou persillée, favorisant la formation d'une texture crémeuse et le développement d'arômes complexes (**Dherbécourt et al., 2021; Ahansaz et al., 2023**). Les peptides et acides aminés libérés servent aussi de précurseurs à des composés volatils responsables de la typicité sensorielle de ces fromages (**Dherbécourt et al., 2021**).

IV.1.2. Facteurs influençant la protéolyse primaire

La maîtrise des facteurs technologiques et métaboliques (**tab 09**) permet de réguler la décomposition des caséines, la formation des peptides et le degré global de protéolyse dans le fromage (**Kalit et al., 2016 ; Mane et McSweeney, 2019**).

Tableau 9. Impact de des facteurs technologiques et métaboliques sur la protéolyse primaire

Facteur	Impact	Références
Type de coagulant	Spécificité et intensité de l'hydrolyse	(Kalit et al., 2016).
Température	Modulation de l'activité enzymatique	(Kalit et al., 2016).
Sel et humidité	Ralentissement ou accélération	(Kalit et al., 2016).
pH	Optimum d'activité enzymatique	(Mane et McSweeney, 2019)
Enzymes bactériennes	Hydrolyse secondaire des peptides	(Zhao et al., 2023)
Flore microbienne	Diversité et localisation de l'activité	(Mane et McSweeney, 2019)

IV.1.2.1. Facteurs technologiques

La protéolyse primaire est influencée par des éléments technologiques tels que la nature et la quantité du coagulant, la température, le temps de préparation, la quantité de Sel, l'activité de l'eau et le pH. Ces facteurs déterminent l'activité enzymatique et le degré d'hydrolyse des caséines, notamment l' α s1- et la β -caséine (Mane et McSweeney, 2019).

IV.1.2.2. Facteurs biochimiques

Les facteurs métaboliques ont une importance cruciale dans la protéolyse primaire et secondaire du fromage. Les enzymes endogènes, notamment la plasmine et la présure utilisée comme agent coagulant, provoquent la décomposition des caséines en peptides de grande dimension. Cette opération est ensuite transmise par les peptidases bactériennes générées par les bactéries lactiques, que ce soit des starters ou non-starters, qui continuent le processus d'hydrolyse en produisant des peptides de plus courte longueur et des acides aminés libres. De plus, la flore présente à la surface et à l'intérieur, comprenant des moisissures (comme *Penicillium camemberti*), des levures (telles que *Geotrichum candidum*) et certains types de bactéries lactiques, influence la vitesse et l'intensité de la protéolyse en fonction de leur activité enzymatique et de leur position dans la pâte (Kalit et al., 2016 ; Zhao et al., 2023).

IV.1.3. Conséquences sur les propriétés sensorielles et structurales du fromage

La protéolyse primaire, considérée comme un processus important lors de la maturation, influence directement les propriétés sensorielles et structurelles des fromages affinés. Elle modifie la texture et la structure du réseau protéique (fig 14), tout en préparant la matrice à l'émission de précurseurs d'arômes et de goûts (Esmaeilzadeh et al., 2025).

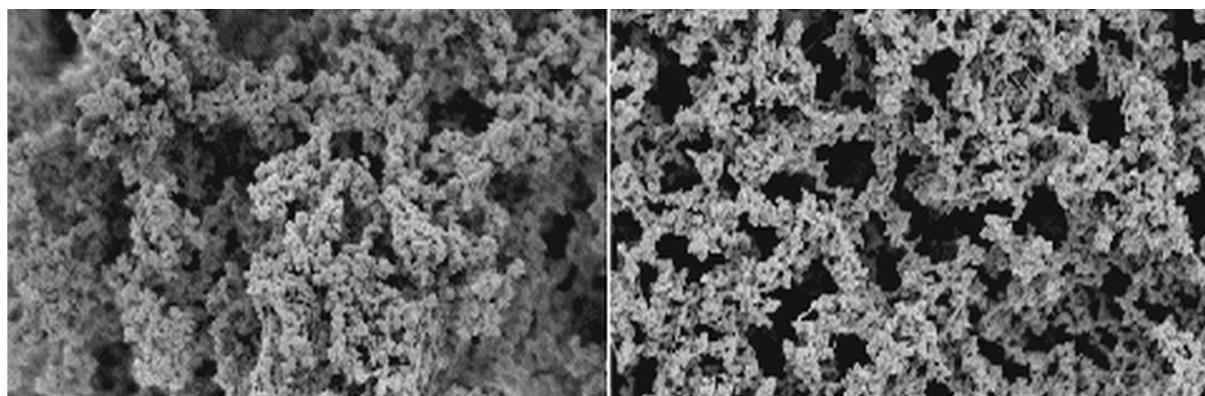


Figure 14. Observation en (MEB) du réseau protéique (gel de caséine) tridimensionnel obtenu à partir de laits présentant différentes tailles de micelles. À gauche : petites micelles ; à droite : grandes micelles (Gr : 10 000×) (Hristov et al., 2016)

La dégradation progressive des caséines (α_1 , β , κ) par la présure, la plasmine et les enzymes microbiennes fragilise le réseau protéique, modifiant la cohésion et la rigidité de la pâte. En fonction de l'intensité de cette hydrolyse, le fromage peut devenir plus souple, friable ou crémeux (**Lamichhane et al., 2019 ; Esmailzadeh et al., 2025**). Cependant, une hydrolyse trop intense peut fragiliser la structure du fromage et entraîner des problèmes mécaniques comme des fissures ou des écoulements, surtout pour fromages à pâte pressée (**Pellegrino et al., 2020**).

L'ouverture du réseau protéique facilite la migration de l'eau et des matières grasses, les peptides hydrophiles gardant l'eau libre et retardant le processus de dégradation, alors que les éléments amphiphiles favorisent la répartition des globules gras, donnant au fromage une texture délicate et crémeuse (**tab 10**). En parallèle, la protéolyse primaire produit des peptides de taille moyenne, transformés en acides aminés libres lors de la protéolyse secondaire. Ces derniers influencent la complexité aromatique, l'intensité et les caractéristiques spécifiques des fromages (**McSweeney, 2023**).

Donc, une protéolyse équilibrée garantit une texture fondante, une sensation crémeuse et un goût harmonieux, alors qu'une protéolyse trop rapide ou insuffisante peut conduire à une pâte collante ou pâteuse, ou encore à une pâte caoutchouteuse et peu aromatique (**Lucey et Fox, 2021**).

Tableau 10. Synthèse des effets de la protéolyse primaire sur le fromage
(**Esmailzadeh et al., 2025**)

Propriété affectée	Effet de la protéolyse primaire
Texture	Assouplissement la plasticité de la pâte, friabilité, crémeux
Cohésion	Diminution de la rigidité, ouverture du réseau
Précurseurs d'arômes	Libération de peptides et acides aminés
Typicité et identité	Dépendance au profil peptidique et à la variété

IV.2. Protéolyse secondaire

La protéolyse secondaire est un processus complexe dans l'affinage du fromage, impliquant une diversité d'enzymes exopeptidasiques (aminopeptidases, carboxypeptidases, dipeptidyl-peptidases) et endopeptidasiques, intracellulaires et extracellulaires (**Mane et**

McSweeney, 2019 ; Sousa et al., 2022), qui proviennent principalement de la flore d'affinage, constituée de bactéries lactiques (starters et non-starters) , de levures et de moisissures, responsable de la transformation des peptides issus de la protéolyse primaire en oligopeptides, dipeptides et acides aminés libres, précurseurs majeurs des arômes et de la texture (**Mane et McSweeney, 2019**).

IV.2.1. Origine des enzymes

- Les bactéries lactiques d'affinage (BALNS, Bactéries lactiques non-starter) telles que *Lactobacillus casei*, *L. plantarum* ou *L. rhamnosus*. Ces bactéries, issues de la microflore adventice ou des cultures de surface, possèdent un système protéolytique complet comprenant des peptidases intracellulaires très diversifiées (**Alais et Linden, 2023**).
- Les bactéries de surface (ex. *Brevibacterium linens*, *Corynebacterium glutamicum*) et les moisissures d'affinage (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*), responsables de la dégradation des peptides à la périphérie du fromage. Ces micro-organismes sécrètent des protéinases extracellulaires et des peptidases exogènes, jouant un rôle clé dans la texture et l'arôme des fromages à croûte lavée ou fleurie (**Mane et McSweeney, 2019**).
- Les enzymes du lait (plasmin et cathepsines), bien que peu actives à ce stade, continuent de participer faiblement à la libération de peptides dans les fromages à maturation longue (**Fox et al., 2022**).

IV.2.2. Facteurs influençant la protéolyse secondaire

La protéolyse secondaire est un processus dynamique dont l'intensité et la nature dépendent de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques liés à la composition du lait, aux conditions de fabrication, à la flore microbienne et aux paramètres d'affinage. Ces facteurs interagissent de manière complexe, influençant non seulement la cinétique enzymatique, mais aussi la distribution spatiale des peptides et acides aminés dans la matrice fromagère (**Fox et al., 2022**).

IV.2.2.1. Influence de la composition du lait

Le lait de départ joue un rôle crucial en raison de sa nature biochimique. La composition en protéines, la répartition des caséines (α_1 , β , κ), ainsi que la présence de minéraux (Ca^{2+} , Mg^{2+}) influencent la structure du réseau protéique établi pendant l'opération de coagulation et par conséquent, la diffusion des enzymes protéolytiques (**Alais et Linden, 2023**).

Les différences inter-espèces (vache, chèvre, brebis) influencent également la composition en caséines et la taille des micelles, modifiant la sensibilité des peptides aux peptidases microbiennes (**Yardımcı et Durak, 2023**).

De plus, la composition lipidique du lait influence la solubilisation et la localisation des enzymes lipophiles (**Ziarno et al., 2023**), tandis que la concentration en lactose détermine la croissance de la flore lactique, principale source d'enzymes protéolytiques secondaires (**Coelho et al., 2022**).

IV.2.2.2. Effet des paramètres technologiques

Les conditions de fabrication telles que la température de caillage, le pH initial, la vitesse d'égouttage et la teneur en sel influencent directement l'activité enzymatique.

- Un pH plus élevé (>5.5) favorise la stabilité et l'activité des aminopeptidases et carboxypeptidases, tandis qu'un pH acide (<5.0) limite leur expression (**McSweeney, 2023**).
- Le sel (NaCl), indispensable pour la conservation, exerce un effet inhibiteur partiel sur certaines enzymes, tout en modulant la croissance sélective des bactéries halotolérantes (**Upadhyay et al., 2023**).
- La température d'affinage exerce une influence majeure sur la vitesse de dégradation des peptides, le **(tableau 11)** présente les corrélations entre la température d'affinage, son impact sur la protéolyse et les résultats sensoriels (**Rezaei et al., 2020**).

Tableau 11. Impact de la température d'affinage sur la protéolyse et la qualité

(**Rezaei et al., 2020**)

Température d'affinage	Effet sur la protéolyse	Conséquences sensorielles
Basse (4–8°C)	Ralentissement	Texture ferme, arômes faibles
Modérée (12–13°C)	Optimale	Bon équilibre texture/arôme
Élevée (>15°C)	Accélération excessive	Défauts sensoriels possibles

IV.2.2.3. Influence de la flore microbienne

La composition et la dynamique de la flore microbienne jouent un rôle essentiel dans la protéolyse secondaire. Les bactéries lactiques mésophiles (*Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp.*) dominent les premières phases de l'affinage, tandis que les lactobacilles thermophiles et les BALNS prennent le relais au cours du mûrissement (Sousa et al., 2022).

Les moisissures et levures d'affinage, comme *Penicillium roqueforti*, *Geotrichum candidum* et *Debaryomyces hansenii*, sécrètent des protéases et des peptidases extracellulaires capables de pénétrer la matrice et de générer une grande diversité de peptides. Cette flore contribue également à la dégradation des acides aminés en composés volatils aromatiques (acides, alcools, esters, composés soufrés) responsables des arômes caractéristiques des fromages affinés (Gillot et al., 2017).

L'autolyse bactérienne, favorisée par les conditions de stress (acidité, salinité, carence nutritive), est un élément clé : elle libère dans le milieu les enzymes intracellulaires (aminopeptidases, endopeptidases), amplifiant la dégradation des peptides dans la pâte (Farnsworth et al., 2023).

IV.2.2.4. Paramètres d'affinage et environnement

Les conditions d'affinage (température, humidité relative, oxygène, durée) constituent des facteurs critiques qui conditionnent la cinétique de la protéolyse secondaire.

- Une température comprise entre 10 et 14°C favorise un équilibre optimal entre la croissance microbienne et l'activité enzymatique (Mane et McSweeney, 2019; Shulga et al., 2023).
- Une humidité relative élevée (90–95%) maintient la plasticité de la pâte et la diffusion des peptides (Kalit et al. 2016; Mane et McSweeney, 2019).
- La présence d'oxygène influence le métabolisme des micro-organismes aérobies de surface (notamment *Penicillium spp.*), tandis que la partie interne du fromage demeure un milieu plutôt anaérobie, où dominent les lactobacilles.

La durée d'affinage détermine enfin la l'intensité et la nature de la protéolyse secondaire. Les fromages à affinage long (>90 jours) présentent généralement une plus forte concentration en acides aminés libres et en peptides courts, témoignant d'une activité enzymatique soutenue et diversifiée (Fox et al., 2022).

IV.2.3. Conséquences sur les propriétés sensorielles et structurales du fromage

La protéolyse secondaire exerce une influence déterminante sur les caractéristiques sensorielles et la structure des fromages affinés (**tab 12**). En libérant des peptides et acides aminés libres, ce processus modifie profondément la texture, la saveur, l'arôme et la couleur du produit fini. Ces modifications résultent d'un ensemble de réactions enzymatiques et chimiques complexes, souvent interconnectées avec les phénomènes de lipolyse et de glycolyse (**Fox et al., 2022 ; McSweeney, 2023**).

Tableau 12. Effets de la protéolyse secondaire sur les propriétés du fromage

Propriété	Effet de la protéolyse secondaire	Références
Texture	Ramollissement, structure ouverte, friabilité	(Esmailzadeh et al., 2025).
Saveur/arôme	Umami, douceur, amertume, arômes complexes	(Zhang et al., 2022)
Couleur	Modifications liées à la structure et au pH	(Esmailzadeh et al., 2025).

IV.2.3.1. Texture

La protéolyse secondaire modifie progressivement la matrice protéique des fromages, entraînant un ramollissement de la pâte, une diminution de la fermeté et l'apparition d'une structure plus ouverte et friable durant l'affinage (**Abarquero et al., 2024 ; Esmailzadeh et al., 2025**). Ces changements se manifestent par :

- Une perte de rigidité et un accroissement de la souplesse dans les fromages à pâte molle tels que le Camembert et le Brie ;
- Une meilleure fondance et une friabilité réduite dans les fromages à pâte dure comme le Comté et l'Emmental (**Lucey et Fox, 2021**) ;
- Une migration accrue de l'eau et des lipides, favorisant onctuosité et plasticité.

L'intensité et la nature de ces modifications dépendent de la composition en caséines (α s1-, β -, κ -), du degré d'hydratation de la pâte et de la l'arrangement spatiale des peptides libérés. Les peptides de haut poids moléculaire conservent une certaine élasticité, tandis que les petits peptides et acides aminés renforcent la plasticité du réseau (**Alais et Linden, 2023**).

IV.2.3.2. Saveur et arôme

La protéolyse libère des peptides et des acides aminés qui participent directement au développement de saveurs du fromage (umami, sucré, amer) et agissent comme précurseurs dans la formation de substances aromatiques volatiles (alcools, acides, esters, composés soufrés) par le biais de réactions enzymatiques et chimiques. Cela contribue à la complexité aromatique (**Zhang et al., 2022**). Certains peptides donnent une saveur amère, en raison de résidus hydrophobes (valine, leucine, phénylalanine) à la position terminale (**Sousa et al., 2022**), alors que d'autres intensifient le goût umami, particulièrement ceux qui contiennent du glutamate ou de l'aspartate. Plusieurs peptides possèdent également une activité bioactive (antihypertensive, antioxydante), bien que ces propriétés soient surtout analysées pour leur valeur nutritive (**Zhang et al., 2022**). Finalement, le catabolisme des acides aminés représente une voie essentielle dans la production des arômes originaux des fromages affinés. Trois grandes classes de réactions sont impliquées :

- Transamination → formation d' α -cétoacides ;
- Décarboxylation → production d'amines biogènes et d'acides volatils ;
- Réduction/oxydation → formation d'alcools, d'esters et de composés soufrés (**McSweeney et Sousa, 2022**).

IV.2.3.3. Couleur

Les modifications de la structure protéique et l'évolution du pH influencent la répartition de l'eau et la réfraction de la lumière, pouvant modifier la couleur du fromage sous l'action de réactions secondaires de Maillard (en présence de sucres résiduels), générant des pigments brunâtres dans certaines zones de la pâte (**Esmailzadeh et al., 2025**).

IV.3. Maîtrise des systèmes protéolytiques des BAL

La maîtrise fine des systèmes protéolytiques des BAL constitue aujourd'hui un levier stratégique pour améliorer la qualité, la reproductibilité et la valorisation des fromages traditionnels et industriels. Des approches innovantes reposant sur l'analyse du métabolisme microbien (bactéries et levures) visent à contrôler la production de composés aromatiques et nutritionnels, en s'appuyant notamment sur l'optimisation des milieux de culture et l'utilisation de capteurs en temps réel pour un pilotage précis des procédés. Par ailleurs, Les outils de la génomique, de la protéomique et du métabolomique permettent une compréhension

approfondie des mécanismes et fonctions moléculaires impliqués, ce qui permet d'optimiser ces systèmes de manière concise (**Anastasiou et al., 2022**).

IV.3.1. Optimisation des milieux de culture

- Ajustement de la composition : L'optimisation des sources de carbone, d'azote, de minéraux et de facteurs de croissance permet d'augmenter la densité cellulaire, la productivité et la production d'arômes, tout en réduisant les coûts (utilisation de sous-produits comme le lactosérum) (**Chen et al., 2025**).
- Méthodes avancées : L'utilisation de l'intelligence artificielle permet d'identifier les conditions optimales pour la croissance et la fermentation (**Chen et al., 2025**).
- Impact sur la qualité : Un milieu optimisé favorise la croissance de souches spécifiques, la production de biomolécules (arômes, enzymes, antimicrobiens) et la maîtrise du profil sensoriel (**Chen et al., 2025**).

IV.3.2. Technologies de capteurs

Capteurs optiques et NIR : Les capteurs optiques (fibre optique, backscatter, extinction lumineuse) et la spectroscopie proche infrarouge (NIR) comme (Lactoscan, Foodscan) permettent de suivre en continu la coagulation, la synerèse, la concentration en matières grasses, le pH et la température, facilitant l'automatisation et l'ajustement instantané des paramètres (**Piana et al., 2025**).

Internet des objets (The Internet of Things) (IoT) : L'intégration de capteurs connectés et de solutions cloud permet un contrôle à distance, une traçabilité accrue et une amélioration de la productivité (**Piana et al., 2025**).

IV.3.3. Génomique et transcriptomique

L'analyse des génomes et de l'expression des gènes protéolytiques, permet d'identifier les souches de BAL les plus performantes et de suivre l'activité des enzymes clés tout au long de l'affinage. Ces outils révèlent la diversité des systèmes protéolytiques selon les espèces et souches, ouvrant la voie à une sélection raisonnée pour des profils sensoriels ciblés (**Kieliszek et al., 2021**).

IV.3.4. Protéomique et métabolomique

L'étude des protéines et des métabolites générés (peptides, acides aminés, composés volatils) permet de relier l'activité enzymatique à la texture, à l'arôme et à la qualité nutritionnelle du fromage. Ces analyses facilitent l'optimisation des conditions de maturation et la sélection de cultures adjointes adaptées (**Coelho et al., 2022 ; Nicosia et al., 2023**).

Partie II :

Étude

expérimentale

Chapitre I :

Matériel et

méthodes

I.1. Cadre et objectifs de l'étude

I.1.1. Cadre de l'étude

Cette étude contribue à apporter et à adapter la technologie de fabrication du fromage traditionnel algérien J'ben El Gafs, spécialité de la région de Boussaada, dans le bassin laitier de la wilaya de Relizane. Elle repose sur l'élaboration d'un fromage typique à partir de la flore lactique autochtone, via la caractérisation et l'évaluation de bactéries lactiques à potentiel protéolytique isolées du lait cru de la zone d'étude. Cette approche vise à concilier performance technologique, qualité du produit et préservation de l'identité traditionnelle de ce fromage.

I.1.2. Objectifs de l'étude

Les objectifs spécifiques de cette étude sont les suivants :

- Caractériser la microflore lactique autochtone : Identifier et inventorier les souches de bactéries lactiques (BAL) prédominantes présentes dans le lait cru produit dans la région de Relizane.
- Évaluer le potentiel protéolytique : Quantifier et caractériser l'activité protéolytique (capacité à décomposer les protéines) des souches de BAL isolées, en mettant en évidence les souches les plus performantes.
- Relier l'activité microbienne à la typicité : Établir la corrélation entre l'activité protéolytique spécifique des BAL locales et les caractéristiques organoleptiques (texture, saveur, arôme) du fromage J'ben El Gafs produit dans la région de Relizane, contribuant ainsi à sa typicité.
- Adapter la technologie de production : Utiliser les connaissances acquises sur la microflore pour optimiser le processus de fabrication du J'ben El Gafs à Relizane, potentiellement par le développement d'un levain (ferment) autochtone (mêlant les souches sélectionnées de Boussaada et de Relizane) adapté aux conditions locales.
- Valoriser le produit local : Contribuer à la valorisation du fromage J'ben El Gafs de la région de Relizane en lui attribuant l'authenticité traditionnelle, ouvrant la voie à une production standardisée et économiquement viable.

I.2. Présentation de la région

La wilaya de Relizane couvre une superficie de 4 851,21 km², composée principalement de zones rurales équivalant à 70 % de la superficie totale de la région. Elle est limitée par les wilayas suivantes : Mostaganem au nord, Chlef à l'est, Mascara à l'ouest, Tissemsilt et Tiaret au sud (**fig 15**).

Selon les données techniques de la Direction des Services Agricoles (DSA) de la wilaya de Relizane (**2020-2024**), le climat de la région est chaud et sec en été et frais et pluvieux en hiver, cette wilaya compte une superficie agricole de plus de 348 000 ha dont 23000 ha irriguée nécessitant annuellement 60 millions de m³ d'eau à partir des barrages de "Gargar" et "Sidi M'hamed Benaouda".



Figure 15. Localisation de la wilaya de Relizan.

(Source : https://d-maps.com/carte.php?num_car=191286&lang=ar)

La présente étude a été réalisée sur du lait de vache, collecté dans quatre exploitations laitières représentatives de la wilaya de Relizane, localisées dans les communes de Zemmora, Djidiouia, Oued Rhiou et Mazouna (**Fig 16**).

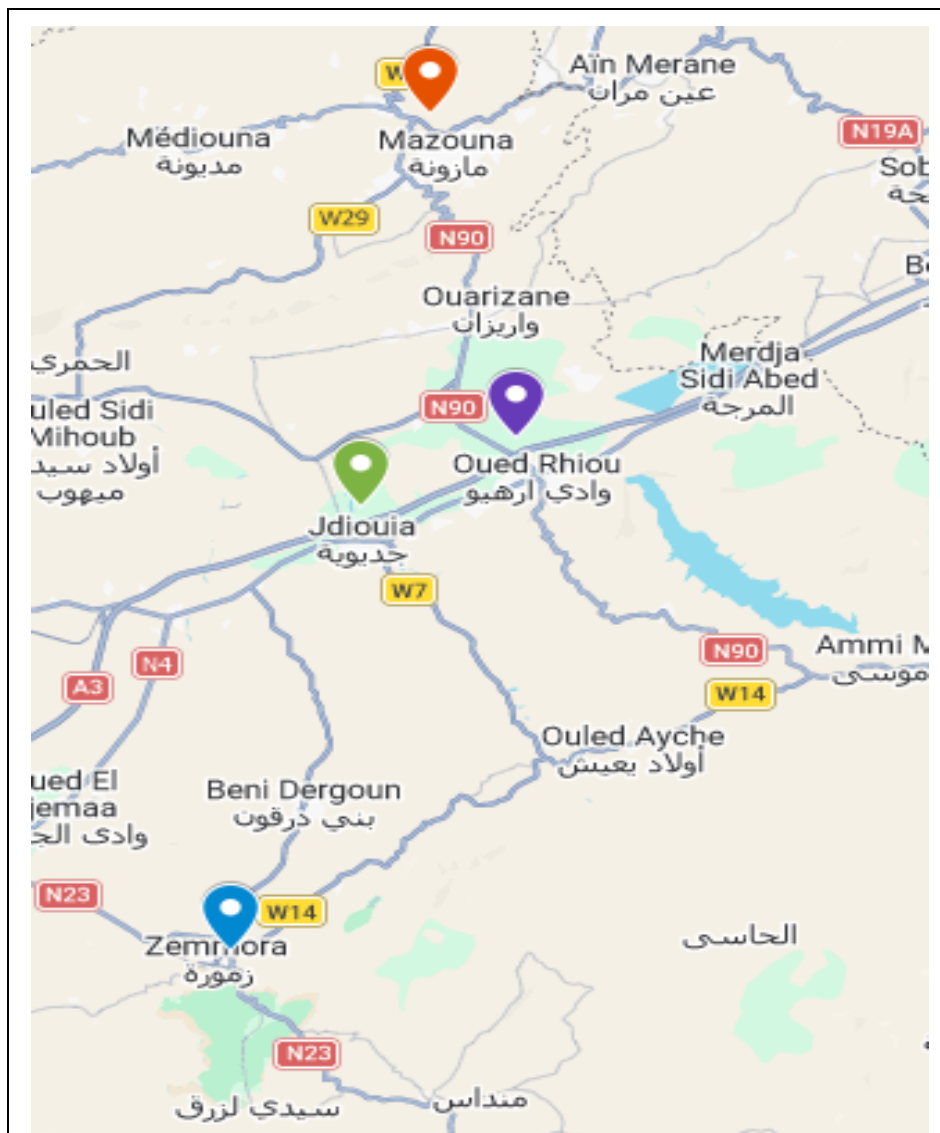


Figure 16. Positionnement géographique des sites d'échantillonnage

(Source : Google Maps)

Zemmora



Oued Rhiou



Djidiouia



Mazouna



I.3. Critères de choix des exploitations

Le choix de la wilaya de Relizane comme zone d'étude s'explique par son importance stratégique dans la production laitière nationale, puisqu'elle constitue l'un des principaux bassins laitiers de l'Ouest Algérien, se caractérise par une forte vocation laitière, avec une structure agricole dominée par l'élevage bovin laitier. Les exploitations y présentent une taille de troupeau estimée à 33.6 têtes, dont 58.3 % sont des vaches laitières, et une prédominance des races Holstein et Montbéliarde, reconnues pour leur haut rendement laitier (DSA, 2024).

Ces caractéristiques font de la wilaya de Relizane un territoire d'étude privilégié pour l'évaluation de la qualité technologique du lait et de ses paramètres de transformation fromagère.

La sélection des sites d'échantillonnage a été effectuée en collaboration avec le Complexe Laitier de Sidi Saada CLS (Relizane), sur la base des résultats antérieurs relatifs à la qualité et à la quantité du lait collecté. Les exploitations choisies se caractérisent par la qualité technologique de leur production, traduite par un lait riche en protéines et en matières grasses, deux paramètres déterminants pour la fabrication et la valorisation fromagère.

De plus, ces fermes présentent des systèmes d'alimentation et de conduite d'élevage variés, susceptibles d'influencer la composition physico-chimique du lait ainsi que ses aptitudes technologiques à la transformation.

I.4. Prospection de terrain

Dans le cadre de cette étude, une enquête préliminaire a été menée dans les principales exploitations laitières représentatives de la wilaya de Relizane dans le but de collecter des échantillons du lait.

Un questionnaire structuré (voir annexe 1) a été élaboré et soumis aux éleveurs afin de recueillir des informations précises sur les aspects zootechniques, sanitaires et technologiques des exploitations visitées.

Les données collectées ont concerné : la structure des exploitations (ressources hydriques, mode de faire-valoir), les caractéristiques des troupeaux (taille, races, âge et stade de lactation), les conditions d'hébergement, les pratiques alimentaires et de reproduction, ainsi que les mesures d'hygiène et de gestion sanitaire appliquées aux animaux et au matériel de traite. Cette enquête a permis d'obtenir une vision globale du fonctionnement technico-

économique des élevages et de leurs pratiques de production laitière, éléments déterminants pour la qualité physico-chimique et microbiologique du lait.

I.5. Techniques d'échantillonnage et procédures d'analyses de la qualité

Durant l'année 2022/2023, on a effectué douze collectes de lait au total. La traite automatique a été effectuée le matin et le soir dans chaque exploitation sélectionnée.

L'échantillonnage a été réalisé simultanément dans quatre exploitations représentatives de la wilaya de Relizane, couvrant les principales zones de production laitière de la région.

L'échantillonnage a été réalisé en fonction des trois saisons laitières : haute, moyenne et basse de lactation, afin de considérer en compte les variations saisonnières susceptibles d'affecter la composition du lait.

Le lait destiné aux analyses de laboratoire a été prélevé directement au sein des fermes immédiatement après la traite, dans des récipients préalablement stérilisés. Au départ, le lait a été recueilli dans un récipient propre et stérilisé. Ensuite, un échantillon de 100 ml a été prélevé pour des analyses physico-chimiques et microbiologiques. Les échantillons ont par la suite été mis disposés dans une glacière isotherme maintenue à une température de +4 °C, puis acheminés au laboratoire dans une durée ne dépassant pas 12 h pour maintenir leur intégrité physico-chimique et microbiologique.

La **figure 17** présente un organigramme du protocole expérimental mettant en évidence les différentes étapes de l'étude microbiologique et fromagère, depuis sélection de la région et des quatre exploitations agricoles, puis l'échantillonnage du lait et l'isolement des bactéries lactiques jusqu'aux aptitudes technologiques et à l'essai de fabrication du j'ben El Gafs.

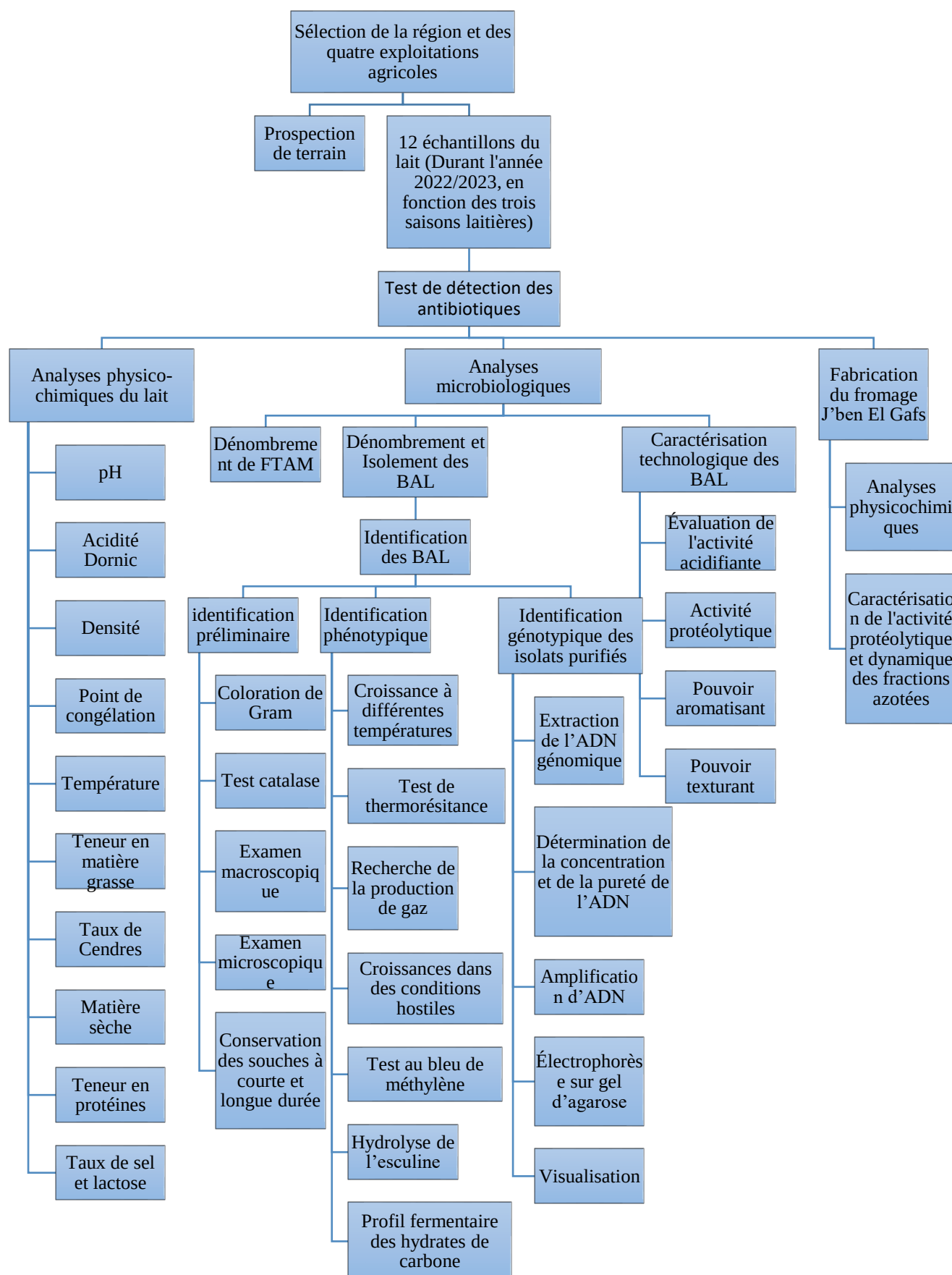


Figure 17. Représentation du protocole expérimental

I.6. Lait

Avant la réalisation des analyses physico-chimiques et microbiologiques, un dépistage rapide des résidus d'antibiotiques a été effectué sur place à la ferme à l'aide du test BetaStar® Combo (Neogen Corporation, Lansing, MI, USA). Ce test immunochromatographique conforme à la Commission Européenne 2002/657/CE permet de détecter la présence de β -lactamines et de tétracyclines dans le lait cru (**Meklati et al., 2022**).

I.6.1 Test de détection des antibiotiques

Selon le fabricant (Neogen Corporation, Lansing, Michigan, États-Unis), la limite de détection des résidus de bêta-lactamines et de tétracyclines est inférieure aux limites maximales de résidus (LMR) pour certains composés, telles que définies par le règlement 2010/37/CE de la Commission européenne (**Meklati et al., 2022**).

Ce test a pour objectif de vérifier l'absence de résidus d'antibiotiques susceptibles :

- D'inhiber la flore microbienne lors des analyses microbiologiques (**Chiesa et al., 2020**),
- Les résidus d'antibiotiques peuvent perturber la coagulation enzymatique du lait, entraînant des défauts de texture, une baisse de rendement ou l'échec total de la fabrication fromagère, c'est donc une étape préliminaire de contrôle de conformité du lait cru, avant toute autre analyse (**Chiesa et al., 2020**).

Conformément à la méthodologie décrite par **Meklati et al., (2022)**, une technique rapide de détection a été utilisée pour identifier la présence de β -lactamines, de tétracyclines et de sulfamides dans les échantillons de lait, avec un temps d'analyse de 5 à 10 minutes. Un volume de 0.2 mL de chaque échantillon a été introduit dans un flacon, puis incubé à 47.5 ± 1 °C pendant 2 minutes. Une bandelette de test, fournie par le fabricant et comportant trois lignes de récepteurs, a ensuite été immergée dans ce flacon. Durant cette première incubation, les antibiotiques éventuellement présents se lient aux récepteurs spécifiques. Une seconde incubation a été réalisée à la même température pendant 3 minutes. À l'issue du test, la bandelette a été retirée et le résultat immédiatement interprété en comparant l'intensité de coloration des lignes correspondant aux β -lactamines (ligne supérieure) et aux tétracyclines (ligne inférieure) à celle de la ligne témoin centrale servant de contrôle.

L'interprétation visuelle du résultat a été réalisée conformément aux recommandations du fabricant. Une ligne supérieure présentant une intensité de coloration faible, voire nulle, par

rapport à la ligne témoin, indiquait la présence de résidus d'antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines. De même, la ligne inférieure a été interprétée, révélant la présence de résidus d'antibiotiques de la famille des tétracyclines. Pour les deux familles, lorsque la coloration des deux lignes était égale ou supérieure à celle de la bande de référence, le test était considéré comme négatif, indiquant l'absence d'antibiotiques dans l'échantillon de lait analysé (**Meklati et al., 2022**).

I.6.2. Détermination des paramètres physicochimiques

L'analyse physico-chimique du lait de vache permet d'identifier ses constituants majeurs, tels que la matière grasse, le lactose, les protéines et les minéraux, ainsi que des paramètres technologiques essentiels comme la densité, le point de congélation et la présence d'eau ajoutée. Ces éléments constituent des indicateurs déterminants pour évaluer la qualité, la valeur nutritionnelle et l'authenticité du lait.

I.6.2.1. Détermination des paramètres physiques

I.6.2.1.1. Potentiel hydrogène

La mesure du pH des échantillons de lait a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre PHSJ-3F (Princeton Instruments) muni d'une sonde HANNA, conformément aux exigences des normes ISO 554 et ISO 707 (IDF 50) qui précisent les conditions de mesure et les protocoles d'échantillonnage du lait et des produits laitiers.

Avant chaque utilisation, la sonde était soigneusement nettoyée à l'eau du robinet, puis rincée à l'eau distillée et sécher avec du papier buvard afin d'éliminer tout résidu susceptible d'altérer le résultat.

L'étalonnage de l'appareil a été effectué à l'aide de deux solutions tampons standards (pH 4.00 et pH 7.00), garantissant la précision et la fiabilité des valeurs enregistrées. La température de mesure a été maintenue à 20 °C, conformément aux pratiques analytiques recommandées pour les examens physico-chimiques du lait (**Liu et al., 2024**).

Pour chaque analyse, 10 mL de lait ont été transférés dans un bécher propre, puis la sonde a été immergée directement dans l'échantillon. La lecture du pH apparaissait instantanément sur l'écran numérique du pH-mètre. Entre deux mesures successives, la sonde était de nouveau nettoyée et rincée selon le même protocole, afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons (**Liu et al., 2024**).

I.6.2.1.2. Acidité titrable

L'acidité titrable du lait a été déterminée conformément à la norme ISO 6901:2010, par titrage acido-basique à l'aide d'une solution de NaOH 0.1 N. Le titrage est mené jusqu'à l'obtention du point de virage de la phénolphthaléine, indiquant un pH proche de 8.6 .

Cette méthode, normalisée et recommandée par l'**AOAC**, constitue une référence pour l'évaluation de la qualité du lait. Elle permet d'estimer la concentration en acide lactique, produit majeur issu de la fermentation du lactose sous l'action des bactéries lactiques (**Dinau et al., 2024**).

Les résultats du titrage peuvent être exprimés soit en grammes d'acide lactique par litre (g/L), soit en degrés Dornic (°D), selon la relation établie par **Dinau et al. (2024)**.

$$1 \text{ D}^\circ = 0.1 \text{ g d'acide lactique/L}$$

Pour un lait frais et non altéré, l'acidité titrable se situe habituellement entre 15 et 17 °D, ce qui correspond à une teneur comprise entre 1.5 et 1.7 g/L d'acide lactique (**Dinau et al., 2024**).

L'acidité titrable du lait a été déterminée par titrage acido-basique à l'aide d'une solution standard de soude (NaOH 0.1 N), en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. Pour chaque analyse, prendre un volume de 10 ml de lait (pH $\approx$ 6.7). Après, ajouter quelques gouttes de phénolphthaléine, la solution a été titrée progressivement avec de la soude jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle persistante, correspondant au point de virage de l'indicateur (pH $\approx$ 8.6) et indiquant la neutralisation complète des acides présents dans l'échantillon.

I.6.2.1.3. Densité

La densité du lait est un paramètre clé pour le contrôle de qualité et l'estimation des solides totaux. La densité normale pour le lait frais est de 1.028 à 1.033 g/cm³ à 20°C (**Parmar et al., 2020**).

I.6.2.2. Détermination des paramètres biochimiques

Les analyses biochimiques (teneur en minéraux, matières grasses, matières protéiques, matière sèche, teneur en lactose, point de congélation) ont été effectuées au sein du laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale à l'aide d'un analyseur ultrasonique du lait de type Lactoscan (Milkotronic Ltd., Bulgarie). La performance et la fiabilité de cet appareil

sont reconnues et soutenues par plusieurs travaux récents, notamment celui de **Tadesse et al. (2024)**.

I.6.2.2.1. Description de l'appareil

Le lactoscan SP est un outil intéressant pour l'industrie laitière, un analyseur de lait à ultrasons de haute précision. Il se caractérise par sa rapidité d'analyse, avec un temps de mesure d'environ 30 à 60 sec par échantillon, ce qui en fait un outil efficace pour accélérer le contrôle de la qualité du lait en laboratoire et sur le site de production. L'appareil détermine automatiquement plusieurs paramètres physiques et chimiques, notamment la teneur en matières grasses, en protéines, en lactose, le point de congélation, la teneur en eau ajoutée, la température du lait, matière sèche, Teneur en minéraux.

Sa technologie ultrasonique garantit une mesure fiable et rapide, sans emploi de réactifs chimiques, réduisant ainsi les coûts et l'impact environnemental des analyses. De plus, sa construction simple, robuste et stable assure une longue durée de vie opérationnelle avec un entretien minimal. Le Lactoscan constitue un outil économiquement avantageux pour le suivi en temps réel de la production laitière et l'optimisation des procédés de transformation tout en garantissant la sécurité de l'opérateur et la fiabilité des résultats obtenus.

I.6.2.2.2. Principe de mesure

Le Lactoscan SP est équipé de trois pompes intégrées indépendantes : une pompe de dosage, une pompe de rinçage et une pompe de nettoyage, chacune reliée à un réservoir spécifique (boîte).

Au cours de la réalisation des mesures, un très petit volume de 20 ml de lait à température ambiante est automatiquement aspiré dans les cellules de dosage par la pompe principale.

La teneur en matière grasse et la matière sèche totale sont déterminées dans la Red Box, selon le principe de la mesure thermique, qui évalue les variations de conductivité thermique en fonction de la composition du lait (**Gustavsson et Gustafsson, 2006**).

Les protéines, le lactose et les minéraux sont chiffrés dans la Blue Box (spectroscopie optique) (**Gastélum-Barrios et al., 2020**), une cellule optique qui utilise quatre longueurs d'onde différentes pour analyser l'absorbance spécifique de ces éléments.

À partir des valeurs obtenues, l'appareil calcule automatiquement la densité et le point de congélation (cryoscopie) du lait à l'aide d'un algorithme interne d'estimation, fondé sur la corrélation entre les mesures thermiques et spectrales.



Figure 18. Appareil Lactoscan SP destiné à l'évaluation rapide des paramètres du lait
(Benkrizi, N., 2019)

I.6.3. Analyses microbiologiques

L'analyse de la qualité microbiologique du lait cru a été réalisée pour évaluer son état sanitaire et hygiénique, notamment par la détection éventuelle des bactéries pathogènes ou indicatrices de contamination (Bano et al., 2020).

En ce sens, des analyses microbiologiques normalisées ont été réalisées en appliquant un protocole standard comprenant les étapes de dilution, de comptage de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) et isolement de la flore lactique.

I.6.3.1. Préparation des dilutions

Des dilutions décimales successives du lait ont été préparées jusqu'à 10^{-6} pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) et jusqu'à 10^{-10} pour l'isolement et le dénombrement de la flore lactique. Ces dilutions ont été réalisées dans l'eau peptoneé. Les suspensions obtenues ont ensuite étéensemencées sur des milieux de culture sélectifs et différentiels adaptés aux groupes microbiens recherchés. Les boîtes de Pétri ont été incubées à

des températures définies selon le type de microorganisme ciblé (flore totale ou flore lactique). Après l'incubation, un comptage des colonies spécifiques a été établi (**Bano et al., 2020**).

I.6.3.2. Dénombrement de la flore totale aérobique mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la flore totale aérobique mésophile (FTAM) constitue une méthode de référence pour apprécier la qualité microbiologique du lait cru ou pasteurisé. Il permet notamment de révéler la présence éventuelle de microorganismes indésirables et d'estimer le potentiel de conservation du produit (**Freitas et al., 2009**).

Elle a été réalisée selon la méthode décrite par **Freitas et al. (2009)**. L'échantillon est ensemencé sur un milieu PCA (Plate Count Agar), puis incubé à 30 °C pendant 72 h, conformément à la norme NF V 04-016 (1985) ou ISO 4833.

I.6.3.3. Dénombrement et isolement de la flore lactique

Elle a été établie en suivant la méthode décrite par **El Ahmadi et al., (2025)**, Après homogénéisation des échantillons et la réalisation des dilutions décimales séquentielles en double séries, des dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-10} ont été préparées afin de réduire la concentration microbienne, et 0.1 ml de chaque dilution a été étalé sur gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe) à déférente pH ou M17 solidifiée. Ces boîtes de Pétri ont été incubées en anaérobiose à 37 °C pendant 24 à 48 h.

L'ajout d'autres boîtes en aérobiose à 37 °C pendant 24 à 48 h pour d'obtenir le plus grand nombre de diversité bactérienne sur le milieu M17.

Ajouté L-cystéine au MRS (0.5 g/L = 500 mg/L) pour améliorer la croissance de plusieurs espèces de lactobacilles, notamment *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* et *L. fermentum*, en agissant comme agent réducteur et source d'acides aminés, selon la méthode décrite par **Soto et al. (2019)**.

Versé l'amphotéricine B (20 µg/mL) dans divers milieux de culture, permet d'obtenir une inhibition totale de la croissance des champignons pathogènes, notamment celui de **Das et al. (2021)**.

Après incubation, les colonies présentant des caractéristiques morphologiques distinctes, telles que la taille, la forme et la couleur, ont été sélectionnées pour des analyses complémentaires (**El Ahmadi et al., 2025**).

I.6.3.3.1. Purification

La purification des souches de bactéries lactiques a été réalisée selon la méthode décrite par **El Ahmadi et al. (2025)**. Elle a consisté à effectuer des repiquages successifs des colonies sélectionnées sur des plaques de gélose MRS ou M17 afin d'obtenir des colonies pures présentant une morphologie uniforme. Les colonies isolées ont ensuite été transférées dans un bouillon MRS ou M17 et incubées à 37 °C pendant 24 h pour vérifier leur viabilité et leur pureté. Des repiquages complémentaires ont été effectués pour confirmer l'homogénéité des cultures.

I.6.3.3.2. Etude morphologique

La morphologie des colonies a été observée après obtention de cultures pures sur boîtes de Pétri (**Ismail et al., 2018**).

I.6.3.3.2.1. Examen macroscopique

Des observations macroscopiques ont été effectuées sur des boîtes de pétri contenant les milieux MRS et M17 afin d'évaluer les caractéristiques des colonies, notamment leur taille, leur forme et leur couleur (**El Ahmadi et al., 2025**).

I.6.3.3.2.2. Examen microscopique

Pour l'examen microscopique, des frottis ont été préparés à partir des colonies isolées et colorés selon la méthode de Gram. Cette technique a permis de déterminer la réaction de Gram et la morphologie cellulaire des isolats, facilitant leur classification comme bactéries Gram-positives et fournissant des informations clés pour l'identification des souches lactiques (**El Ahmadi et al., 2025**).

I.6.3.3.3. Test de catalase

Le test de catalase a été réalisé selon la méthode d'**Ismail et al. (2018)**. Deux gouttes de peroxyde d'hydrogène (5 %) ont été déposées sur des cultures jeune de 24 h sur une lame de verre. La formation de bulles d'oxygène a été considérée comme une réaction positive, indiquant que les bactéries produisent l'enzyme catalase, qui décompose le H₂O₂ en eau et oxygène.

I.6.3.3.4. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode décrite par **Ismail et al. (2018)**.

I.6.3.3.5. Conservations des souches

I.6.3.3.5.1. Conservation à courte durée

La conservation à courte durée a été réalisée selon la méthode décrite par **Ermenlieva et al. (2021)**, Dans cette technique, les cultures bactériennes ont été stockées en piqûres dans des flacons.

Les tubes ont été remplis avec 3 mL de milieu gélosé puis stérilisés. Les micro-organismes ont ensuite été introduits dans la gélose solidifiée à l'aide d'une aiguille stérile. Les cultures ont été incubées pendant 24 h, puis une fine couche de paraffine liquide a été versée à la surface de la gélose. Les flacons ont ensuite été fermés et conservés à 4 °C.

I.6.3.3.5.2. Conservation longue durée

La conservation en longue durée se fait par la méthode décrite par **Ermenlieva et al. (2021)**, Les tubes ont été remplis avec 2 mL de bouillon MRS puis stérilisés.

Une culture microbienne en phase logarithmique, standardisée à 10^7 UFC/mL, a été ajoutée à raison de 500 µL dans le milieu liquide.

Une solution de glycérol à 30 % (v/v) a été préparée pour la plupart des micro-organismes, Le glycérol a été stérilisé par autoclavage à 121 °C pendant 15 min. Les composants ont ensuite été mélangés à l'aide d'un vortex, puis les tubes ont été placés au congélateur à -20 °C pour la conservation à long terme.

I.6.3.3.6. Identification des isolats lactiques

Les colonies isolées sur les milieux de dénombrement sont identifiées à l'aide de méthodes phénotypiques, reposant sur des tests physiologiques et biochimiques.

I.6.3.3.6.1. Identification phénotypique

a. Croissance à différentes températures

Selon **El Ahmadi et al. (2025)**, le test de croissance différentielle, décrit par **Leveau et al. (1991)**, permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles et des thermophiles. Il s'applique aux cocci comme aux bacilles et repose sur l'évaluation de la croissance des souches à différentes températures : 10 °C, 37 °C et 45 °C.

- ✓ À 10 °C, seules les souches psychrotrophes présentent un développement visible ;
- ✓ À 37 °C, la croissance est typique des genres *Lactobacillus* et *Leuconostoc* cultivés sur milieu MRS ;
- ✓ Tandis qu'à 45 °C, elle caractérise principalement les *Streptococcus* et *Enterococcus*.

La croissance est mise en évidence par l'apparition d'un trouble dans le milieu après 24 heures d'incubation à 37 °C et 45 °C, ou après 7 jours à 10 °C.

b. Test de thermorésistance

Selon la méthode décrite par **Fossi et Ndjouenkeu (2017)**, ce test consiste à incubuer les souches dans un bouillon MRS à 63.5 °C pendant 30 min, puis à vérifier leur croissance après refroidissement et incubation à 37 °C pendant 24 h. Il permet d'identifier les bactéries capables de survivre à des températures proches de la pasteurisation. Seules certaines espèces, comme *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* et *Lactobacillus bulgaricus*, présentent une thermorésistance marquée (**Fossi et Ndjouenkeu., 2017**).

c. Recherche de la production de gaz

L'activité hétéro- et homofermentaire pour les bactéries à Gram positif et catalase négative ont été déterminées selon la méthode décrite par **Bano et al. (2020)**.

L'évaluation de l'activité fermentaire a été réalisée par l'ensemencement de la souche dans un tube de 10 ml du bouillon MRS contenant par cloche de Durham inversés, permettant de détecter la production de gaz CO₂ accumuler dans la cloche après incubation à 30 C° pendant 24 h à 48 h, et de différencier les souches hétérofermentaires des homofermentaires.

d. Croissances dans des conditions hostiles

• Test de la tolérance au sel

Selon la méthode décrite par **El Ahmadi et al. (2025)**, la tolérance au sel a été évaluée en suivant la croissance des isolats dans des milieux additionnés de NaCl à des concentrations de 4 % et 6.5 %, sur une période d'incubation de 07 jours.

Ces essais ont permis d'évaluer la capacité d'adaptation des souches à des conditions de salinité variables, fournissant ainsi des informations précieuses sur leur résistance physiologique et leur aptitude à croître dans des environnements stressants.

• Test de croissance à différents pH

La capacité des bactéries à croître à pH 4.5 (acide) et 9.6 (alcalin) varie fortement selon l'espèce et la souche. La plupart des bactéries lactiques et probiotiques présentent une croissance optimale à pH neutre ou légèrement acide, mais certaines souches tolèrent des conditions extrêmes, avec une croissance réduite.

- ✓ **pH acide (4.5) :** La croissance est possible pour plusieurs souches de *Lactobacillus*, *Enterococcus* et autres bactéries lactiques, mais elle est significativement ralentie par rapport à un pH optimal (6.0-6.5). Certaines souches survivent et se multiplient à pH 4.5, mais la densité cellulaire finale est plus faible (**Küçükçiftci et al., 2025**).
- ✓ **pH alcalin (9.6) :** Peu de bactéries lactiques ou probiotiques tolèrent un pH aussi élevé. La croissance est généralement très limitée (**Sanchez-Gonzalez et al., 2023**).

L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h à 48 h et la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

e. Test au bleu de méthylène

Ce test est réalisé selon la méthode citée par **Grujović et al. (2024)**. Ce test repose sur la réduction du bleu de méthylène par les bactéries en fonction de leur métabolisme respiratoire. Les lactocoques, étant microaérophiles, consomment peu d'oxygène, ce qui entraîne une décoloration partielle ou lente du lait, tandis que les entérocoques, aérobies, consomment rapidement l'oxygène, provoquant une décoloration rapide et complète.

Des isolats en forme de coques ont étéensemencés dans deux séries de tubes contenant chacun 10 mL de lait écrémé. La première série a été additionnée de 1 mL de bleu de méthylène à 1 % (v/v), tandis que la seconde a reçu 1 mL de bleu de méthylène à 3 % (v/v). L'ensemble des tubes a ensuite été incubé à 30 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, la décoloration du bleu de méthylène a été observée et interprétée comme un indicateur de la capacité réductrice et métabolique des souches testées dans le lait écrémé (**Grujović et al., 2024**).

f. Hydrolyse de l'esculine

Ce test est déterminé selon la méthode décrite par **Edberg et al. (1977)**, le test d'hydrolyse de l'esculine repose sur la capacité de certaines bactéries à cliver la liaison glucosidique de l'esculine, libérant du glucose et de l'esculetine. L'esculetine réagit ensuite avec des ions ferriques (souvent sous forme de citrate de fer ammoniacal), formant un complexe noir caractéristique autour des colonies positives. L'ajout de bile dans le milieu (bile-esculine) permet de sélectionner les entérocoques et streptocoques du groupe D, car la bile inhibe la plupart des autres cocci à Gram positif.

Le test à la bile-esculine sans azide a été obtenu auprès de Difco Laboratories (Détroit, Michigan). Il contenait 40 g/L de bile de bœuf, 0.5 g/L de citrate ferrique et 10 g/L d'esculine,

en plus d'une base favorisant la croissance. La gélose a été coulée en pente dans des boîtes de Pétri 15 ml de ce milieu.

L'inoculation du milieu bile-esculine a été réalisée en touchant le sommet d'une colonie avec un fil bactériologique, puis en ensemençant sur la surface de milieu.

Les milieux ont été incubés à 37 °C et la présence de noircissement a été observée 24 et 48 h après l'inoculation.

g. Profil fermentaire des hydrates de carbone

Selon **Dahou et al. (2016)**, la capacité d'utilisation des glucides de bactéries lactiques (BAL) sélectionnées a été évaluée avec le système API 50 CHL (bioMérieux, Inc., Marcy l'Étoile, France).

Le système API 50 CH/CHL (bioMérieux) est une méthode utilisée pour déterminer le profil métabolique des bactéries, en particulier des bactéries lactiques (BAL). Il s'appuie sur la fermentation de 49 glucides répartis dans autant de microcuvettes (puits) et utilise un indicateur de pH (bromocrésol pourpre) qui change de couleur lorsqu'un sucre est fermenté.

• Principe

Chaque puits de la galerie contient un substrat glucidique spécifique et un indicateur de pH (bromocrésol pourpre). Si la souche bactérienne inoculée est capable de métaboliser le glucide, elle produit des acides (par fermentation) : la baisse du pH provoque le passage de la couleur du pourpre (ou violet) vers le jaune, signalant une réaction positive. L'ensemble des réactions (pattern de + et -) constitue le profil métabolique utilisable pour l'identification et la caractérisation physiologique des isolats (**Ng et al., 2021**).

I.6.3.3.6.2. Identification génotypique des isolats purifiés

Les étapes principales de l'identification moléculaire ont été réalisées sur les différents isolats sélectionnés.

• Protocole de l'identification

Les principales étapes de l'identification moléculaire par REP-PCR ont été effectuées sur l'ensemble des isolats sélectionnés ainsi que sur les souches de référence utilisées à des fins comparatives. Cette méthode est décrite par **Dahou et al. (2015)**:

- Extraction de l'ADN génomique à partir des isolats bactériens.
- Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par spectrophotométrie
- Amplification d'ADN par PCR

- Électrophorèse sur gel d'agarose
- Visualisation

a. Extraction de l'ADN

L'ADN total bactérien (de nos isolats sélectionnés et des souches de références utilisées) a été contrôlée et extraite selon la méthode d'extraction élaborée par les laboratoires BIO-RAD et adoptée par (**Aidan et al., 2020 ; Chen et al., 2019 ; Retno et al., 2024 ; Seok-Hwan et al., 2017 et Zheng et al., 2020**), selon ce qui suit :

- A partir d'une colonie spécifique, une suspension de 1ml est préparée dans 1ml d'eau Pure stérile ensuite une centrifugation est établie à 3000 trs pendant 10 min. Le culot obtenu par la centrifugation est stocké à -20 °C pendant 1 h.
- Un lavage du culot obtenu est réalisé avec 1ml de tampon TES avec sa remise en suspension dans 300 µl de tampon STET.
- Un volume de 75 µl de tampon de lyse est ajouté à la suspension obtenue avec une incubation à 37 °C pendant 1 h.
- Un ajout de 40 µl d'une solution SDS (solution de dodécylsulfate de sodium) à 20% d'un tampon TE composé de 10 mM Tris-HCL et de 1mM EDTA, de pH= 8.0.
- Une agitation est menée au vortex pendant 60 sec avec une incubation à 37°C pendant 10 min.
- L'incubation est prolongée pour une durée de 10 min à 65°C avec l'ajout de 100 µl du tampon TE.
- L'extraction du lysat est réalisée avec un volume égal réparti entre du phenol, du chloroforme et de l'alcool iso amylique.
- Une séparation des phases est réalisée par une centrifugation à 3000 trs pendant 20 min
- Un mixage de la phase aqueuse est mené avec 70 µl de Nacl 5M et 1 ml d'isopropanol.
- De cela l'ADN est précipité dans la glace pendant 15 à 20 min.
- Le précipité de l'ADN est collecté par une centrifugation à 3000 trs pendant 15 à 20 min, le culot obtenu est lavé dans de l'éthanol à 70% refroidi à $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Une centrifugation supplémentaire est menée à 15000 trs pendant 10 min (à 4°C) afin de collecter l'ADN purifié au sein du culot.
- En dernière étape de l'extraction, le culot d'ADN pure est dissout dans l'eau pure stérile et préparé ainsi pour la REP-PCR ou conservé à -20C° pour une future analyse programmée.

b. Détermination de la concentration et de la pureté de l'ADN par spectrophotométrie

Selon **Bruijns et al. (2022)**, Le contrôle de La concentration et la pureté de l'ADN extrait ont été évaluées par spectrophotométrie UV à l'aide de l'appareil Thermo Scientific™ 840-210600, considéré comme une méthode de référence en biologie moléculaire. L'ADN pur présente un pic d'absorbance caractéristique à 260 nm.

c. Amplification de L'ADN par REP-PCR.

L'amplification des fragments d'ADN obtenus de l'extraction a été réalisée sur un cycleur de Biorad (Biorad, USA), par l'utilisation des amorces spécifiques qui permettront d'amplifier le fragment d'ADN codant la région 16S (**Rastegari et al., 2025**).

Les séquences spécifiques des amorces employées pour la réaction de REP-PCR ont été obtenues auprès du **laboratoire Qbiogène Research Service (Allemagne)** et présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13. Séquences des amorces spécifiques utilisées pour la réaction de REP-PCR

Nom de la souche	Séquence des amorces	Sens
<i>Lactobacillus Acidophilus</i>	5'-GTAAATCTGTTGGTTCCGCT-3' 3'-ATGGCTGCTCGCGTCTTTAA-5'	Sens Anti-sens
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	5'-TCTAATGTAAATCATGATGG-3' 3'-GCCCATCTTTAAGACCATCG-5'	Sens Anti-sens
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	5'-GCGACCAAAATCAATCAGGC-3' 3'-AAGTGTTATGGGCCTAGTCA-5'	Sens Anti-sens
<i>Lacticaseibacillus casei</i>	5'-TGTTGAAATCAAGTGCAAGG-3' 3'-CGCACCACCTTTTGCTTTAAT-5'	Sens Anti-sens
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	5'-AGAGTTACCAACTAGAGCAA-3' 3'-GGTTAAACTTGTACGATCGG-5'	Sens Anti-sens
<i>Levilactobacillus brevis</i>	5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGTTG-3' 3'-TCGCCTCATGTAGGATCCAT-5'	Sens Anti-sens

Source : La firme **Qbiogène Research Service Germany** Octobre (2020)

L'opération d'amplification consiste à mettre dans le thermocycleur un aliquote contenant un mélange de 4 µl de l'ADN génomique extraite avec un volume de 20 µl d'une solution mixte réactionnelle (aliquote mis dans un microtube eppendorf spécifique) (**Rastegari et al., 2025**).

La composition du mélange réactionnel de la PCR, adaptée selon les besoins expérimentaux et présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14. La composition du Mélange réactionnel de la PCR
(Chialva et al., 2018)

Réactifs de la solution mixte	Volume utilisé pour un microtube de 20 µl	Rôle dans la réaction
Solution Tampon	2.5µl	Maintien du pH et ions Mg ²⁺
DNTP	2 µl	Substrats pour la synthèse d'ADN
Amorce Fwd (50µm)	0.5 µl	Spécificité de l'amplification
Amorce Rev (50µm)	0.5 µl	Spécificité de l'amplification
Taq polymerase	0.25µl	Enzyme de synthèse d'ADN
Eau distillée stérile	14.25 µl	Ajustement du volume final

Après avoir placé les microtubes à eppendorf contenant l'ADN bactérien dans le thermocycleur, une pré dénaturation à 94°C pendant 15 min est entamée (Rastegari et al., 2025).

Celle-ci est suivie par un programme d'amplification spécifique comprenant quatre étapes répétées en 35 cycles :

- Une étape de dénaturation à une température de 94°C pendant 3 min.
- Une étape d'hybridation des amorces à une température de 53°C pendant 1 min.
- Une étape d'élongation par polymérisation à une température de 72°C pendant 2 min.
- Une dernière étape d'extension finale est programmée à 72°C pendant 5 min.
- Résultats : Obtention des produits de la PCR.

d. Électrophorèse sur gel d'agarose

La visualisation des amplicons de la REP-PCR a été réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1.2% et confirmée par Lee et al. (2012).

✓ Constitution du gel

- Peser 1.2 g d'agarose déshydraté dans un Erlenmeyer de capacité suffisante.
- Ajouter 100 mL du tampon TBE.
- Une étape de régénération du mélange Agarose + tampon TBE dans un micro-onde pendant 4 min jusqu'à dissolution complète.
- Après dissolution complète de l'agarose et son refroidissement à une température comprise entre 45-50°C (palpable au toucher de la main) pour éviter d'endommager le moule et faciliter l'ajout du colorant.
- Incorporer 10 µl de Bromure d'Ethidium (BET) au mélange Agarose-TBE pour permettre la visualisation de l'ADN sous UV.

- Une agitation douce sans chauffage est menée pour éviter la formation de bulles d'air.
- Le moule de l'électrophorèse préparé, le coulage du gel est réalisé.
- Le moule est placé sur une surface bien horizontale.

N.B : le gel doit être coulé lentement sur une épaisseur de 3 à 5mm. Un peigne spécifique est utilisé pour former les espaces destinés aux puits.

- Un temps de refroidissement de 25 à 30 min est assuré avant d'enlever délicatement le peigne.
- Une remarque importante : Les puits sont toujours placés du côté de la cathode car l'ADN migre vers l'anode.

✓ Dépôt des produits de l'amplification

Parks et Torres (2023) décrivent la méthode de dépôt des produits PCR sur gel d'agarose qui nécessite de mélanger l'ADN amplifié avec une solution de charge (bleu de bromophénol) pour assurer la migration correcte et la visualisation des fragments. Il est essentiel de remplir les puits sans toucher le fond du gel avec la pointe de la micropipette afin d'éviter de perforer le gel et de compromettre la séparation des fragments.

✓ Migration

Selon **Bogiel et al. (2022)** la migration des fragments d'ADN lors de l'électrophorèse sur gel d'agarose s'effectue en appliquant des paramètres qui assure le déroulement de la migration.

- Tension appliquée : Un voltage de 90 à 100 V est standard pour des gels de taille moyenne, permettant une séparation efficace sans surchauffe.
- Durée : La migration dure généralement 30 à 60 min, selon la taille du gel et des fragments. Le suivi se fait grâce au colorant de charge (bleu de bromophénol), qui indique la progression.
- Arrêt de la migration : Le courant est coupé lorsque le front du colorant atteint l'extrémité du gel, évitant que les fragments d'ADN ne sortent du gel.

e. Visualisation

Green et Sambrook (2019) décrivent le protocole détaillé pour la visualisation de l'ADN après électrophorèse sur gel d'agarose repose sur l'utilisation du bromure d'éthidium (BET), un colorant fluorescent qui s'intercale entre les paires de bases de l'ADN. Après migration, le gel est placé dans un système d'imagerie (Labomoderne) équipé d'une source UV et d'un appareil photo numérique (CSL15) pour capturer les bandes fluorescentes. Les images

obtenues sont traitées par un logiciel d'analyse de gels (CSL 030) pour quantifier et documenter les résultats.

- **Comparaison des séquences d'ADN obtenues**

Les séquences obtenues par la REP-PCR sont comparées d'une part avec celles obtenues des souches de références et d'autre part avec celles de la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) de NCBI.

Lorsque la comparaison de la séquence obtenue avec celles des espèces de référence présente un taux de similarité supérieur ou égal à 99 %, l'isolat analysé est attribué à l'espèce correspondante (**Green et Sambrook, 2019**).

Les souches de référence ATCC utilisées pour la validation et la comparaison des séquences sont répertoriées dans le **tableau 15**.

Tableau 15. Souches de références ATCC utilisées (en utilisant les séquences de leurs gènes 16S rRNA) (**Fab : 18/11/2024 DLU : 17/11/2026**)

Nom de la souche	Souche de référence
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	ATCC 8014
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	ATCC 9338
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4356
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	ATCC 12315
<i>Levilactobacillus brevis</i>	ATCC 367

I.6.4. Test des aptitudes technologiques des souches lactiques

La caractérisation technologique des bactéries lactiques isolées est essentielle pour leur application dans l'industrie alimentaire et la santé humaine.

I.6.4.1. Pouvoir acidifiant

I.6.4.1.1 Activité acidifiante

L'activité acidifiante des souches de bactéries lactiques (BAL) a été évaluée en inoculant 10 mL de lait écrémé stérilisé avec 1 % de la culture de BAL. Les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 24 h. La coagulation a été suivie chaque 2 h afin d'évaluer la production d'acide. L'acidité du lait a été quantifiée par titrage avec une solution standardisée de NaOH, et les résultats ont été exprimés en degrés Dornic (D°) (**Taye et al., 2021**).

I.6.4.1.2. Cinétique d'acidité

La cinétique d'acidification de souches de BAL fortement acidifiantes a été évaluée en mesurant le pH du milieu de culture à intervalles de 2 h pendant la période d'incubation. Ceci a permis d'évaluer la vitesse et l'importance de la production d'acide au cours du temps (**Taye et al., 2021**).

I.6.4.2. Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactiques constitue un critère technologique majeur dans les procédés de transformation et d'affinage fromager. Cette activité est réalisée selon la méthode qui décrite par (**Dahou et al., 2024**), Sur un milieu PCA (Plate Count Agar) supplémenté en lait écrémé stérile à différentes concentrations (10 %, 5 %, 3 % et 1 %), permettant d'apporter une matrice protéique représentative du substrat laitier. Cette supplémentation, riche en caséine, favorise la mise en évidence des mécanismes d'hydrolyse protéique induits par les enzymes extracellulaires ou associées à la paroi bactérienne.

L'expression de l'activité protéolytique est révélée par l'apparition d'un halo claire autour des colonies, résultant de la dégradation de la caséine. L'ampleur de ce halo est proportionnelle à l'intensité de l'activité enzymatique de la souche.

Cette approche constitue un outil analytique pertinent pour la comparaison inter-souches et la sélection des bactéries lactiques à fort potentiel technologique. Elle est particulièrement employée dans le domaine de la technologie fromagère afin d'identifier les souches présentant une aptitude favorable à l'hydrolyse des protéines laitières, un processus essentiel à la texture, à l'arôme et à la qualité finale des fromages.

I.6.4.3. Pouvoir aromatisant

L'activité enzymatique des souches bactériennes a été évaluée selon le protocole décrit par **Monteiro et al. (2020)**, Le test de production d'acétoïne est réalisé sur le milieu de Clark et Lubs afin de vérifier la capacité de certaines bactéries à produire de l'acétoïne au cours de la fermentation du glucose. Ce milieu, favorise le développement des voies fermentaires nécessaires à la formation de ce composé. Après ensemencement, les cultures sont incubées à 37 °C pendant une durée comprise entre 24 et 48 heures. À l'issue de l'incubation, deux réactifs sont ajoutés successivement : le réactif VP I, constitué d'une solution de NaOH à 16 %, puis le réactif VP II, composé d' α -naphthol à 6 % dissous dans de l'alcool à 95 %. Le tube est ensuite

agité délicatement avant d'être laissé au repos pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rose à rouge à la surface du milieu indique un résultat positif, révélant la présence d'acétoïne et confirmant ainsi la capacité fermentaire spécifique de la souche bactérienne testée.

I.6.4.4. Pouvoir texturant

L'utilisation de milieux solides enrichis en saccharose, comme le MSE, est largement reconnue pour le criblage des bactéries productrices d'EPS. La production d'EPS se manifeste typiquement par la formation de colonies mucoïdes, gluantes ou filamenteuses, facilement détectables à l'œil nu ou à l'aide d'une anse d'inoculation. Après incubation à 37°C pendant 24h, Les colonies présentant un aspect brillant, visqueux ou la formation de longs filaments lors de la manipulation sont des indicateurs directs d'une production active d'EPS. Cette méthode simple et rapide est couramment utilisée pour la sélection initiale de souches à fort potentiel de production (Yadav et al., 2024).

I.6.5. Critères de choix des BAL à caractère protéolytique

Les critères de choix des bactéries lactiques protéolytiques pour la production de fromage incluent leurs caractéristiques morphologiques et tinctoriales (coloration de Gram, catalase), leur capacité à dégrader les protéines du lait sur un milieu sélectif et leur aptitude à produire des peptides et des acides aminés. La sélection se base sur des tests de protéolyse sur un lait enrichi en protéines et sur un milieu sélectif pour isoler et caractériser les souches les plus efficaces.

I.6.5.1. Critères de sélection

La sélection des souches de bactéries lactiques (LAB) pour la fabrication fromagère est une étape critique qui conditionne la qualité et la typicité du produit fini. Selon les travaux de Coelho et al. (2022), cette sélection repose sur plusieurs piliers technologiques et biologiques :

a) Tests morphologiques et tinctoriels

- Aspect des colonies sur le milieu sélectif (forme, taille, couleur).
- Capacité à produire une enzyme catalase (positif ou négatif).
- Coloration de Gram (positif ou négatif).

b) Tests fonctionnels des bactéries lactiques

- Dégradation du lait : évaluation de l'activité protéolytique sur un lait riche en protéines en milieu sélectif, en mesurant l'évolution du pH, l'acidification et la formation de gel.
- Tests de tolérance : vérification de la capacité des bactéries à survivre dans des conditions du fromage (pH, température, teneur en sel).

c) Tests de protéolyse

- Évaluer la capacité de la bactérie à dégrader les protéines (notamment la caséine) du lait sur un milieu sélectif.
- Analyser les produits de la protéolyse Azote soluble/ Azote total (peptides et acides aminés) pour évaluer l'efficacité de la dégradation.

d) Tests de sélectivité et de fermentation

- Tester la capacité de la bactérie à fermenter le lactose et à produire de l'acide lactique, un paramètre essentiel à la coagulation du lait.
- S'assurer que la bactérie est capable de croître sur un milieu sélectif contenant le lait enrichi en protéines, tout en étant adaptée aux conditions de production fromagère.

I.7. Fromage J'ben El Gafs

I.7.1. Échantillonnage des laits et période de prélèvement

Le 12 novembre 2024, quatre collectes du lait ont été réalisées par traite automatique, le matin, dans chacune des exploitations sélectionnées de la wilaya de Relizane.

Le lait destiné à la fabrication du fromage a été prélevé directement après la traite, dans des récipients préalablement stérilisés, afin de garantir l'absence de contamination exogène. Le lait a ensuite été placé dans une glacière isotherme à +4 °C et transporté vers le laboratoire dans un délai inférieur à 12 heures, afin de préserver son intégrité physico-chimique et microbiologique.

I.7.2. Fabrication du fromage J'ben El Gafs

I.7.2.1. Déroulement

La fabrication du J'ben El Gafs a été réalisée de manière artisanale au sein du laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale LSTPA, sous la direction du fromager Dr DAHOU Abdelkader El Amine - Enseignant chercheur en sciences alimentaires - et en

collaboration avec l'un des principaux producteurs de la région de Boussaâda. J'ai visité son atelier, observé l'ensemble des étapes de production, ce qui m'a permis de réaliser ensuite la fabrication de ce fromage J'ben El Gafs.

I.7.2.2. Essai de fabrication du j'ben El Gafs à partir du lait de vache

Le processus commence par l'incubation du lait à 37°C pendant 24 h. Cette étape clé permet une fermentation lactique spontanée grâce à la flore microbienne autochtone, menant à une acidification suffisante ($\text{pH} \approx 4.6$) qui assure la coagulation complète et la formation d'un coagulum homogène.

Le caillé obtenu est ensuite découpé grossièrement – une méthode douce pour prévenir l'expulsion excessive de lactosérum – puis transféré dans un moule tapissé de mousseline. L'égouttage se fait d'abord de manière statique, suivi d'une suspension dans un environnement réfrigéré pendant 24 h. Ce procédé permet d'éliminer un maximum de lactosérum tout en préservant la texture et la structure de la pâte.

Par la suite, le coagulum est moulé à la main, lui conférant son aspect typique, avant d'être pesé pour un contrôle qualité rigoureux. Les portions de fromage sont alors recouvertes d'un mélange spécifique de plantes aromatiques locales de Boussaâda : le Chih (*Artemisia vulgaris*), le Tgouft (*Artemisia campestris*) et le Romarin (*Salvia rosmarinus*). Ces herbes sont réputées pour leurs propriétés médicinales et leurs effets analgésiques.

Le fromage est ensuite emballé de manière traditionnelle dans des nattes tressées d'« *El halfa* » (*Stipa tenacissima*). Cette fibre naturelle joue un rôle crucial dans la conservation et la protection du produit durant l'affinage. Enfin, le fromage subit un salage en saumure (1% - 2%) pendant 30 min ; une étape qui favorise sa conservation microbiologique tout en développant ses arômes et sa saveur caractéristiques.

Enfin, le processus d'affinage du J'ben El Gafs se déroule sur +15 jours, dans un environnement contrôlé à une température de 12–15°C et une humidité de 85% - 95%. Des échantillons de caillé et de fromage sont prélevés à des intervalles réguliers (jours 5 ; 10 et 15) pour des analyses physico-chimiques telles que la mesure de l'humidité, du pH, de matière protéique, de matière gras et l'analyse de la protéolyse des pâtes fromagères au fil de la lactation.

I.7.2.3. Essai de fabrication du j'ben El Gafs avec un microbiote contrôlé

Les souches purifiées et identifiées seront utilisées pour la fabrication d'un fromage traditionnel du terroir El Gafs à partir d'un lait épuré, constituant une innovation technologique

dans le traitement initial de la matière première. Cette étape est essentielle pour assurer la maîtrise des populations microbiennes et obtenir un fromage élaboré avec un microbiote contrôlé.

Selon le référentiel IFS « International Food Standard Dairy and cheese ». Le microbiote destiné à l'essai technologique sera constitué des souches présentées dans le **tableau 16**. Les proportions retenues serviront à préparer un levain d'ensemencement à raison de 3 %, conformément aux pratiques normalisées en technologie fromagère (**Eck et al., 2006**).

La qualité du levain lactique sera évaluée à travers sa capacité de production d'acide lactique et son activité protéolytique, critères essentiels pour garantir un affinage contrôlé du fromage.

Tableau 16. Composition du microbiote sélectionné pour l'essai technologique

Composition	Action enzymatique	Effet sur l'affinage	Proportion utilisée %
<i>Lactocoques</i>	Acidification	Protection acide	50%
<i>Lactobacilles</i>	Acidification-protéolyse	Consistance –goût	30%
<i>Leuconostocs</i>	Fermentation du citrate et production du CO ₂	Goût-tenue du fromage	10%
Ferment d'affinage	Protéolyse-lipolyse	Coloration de la croûte- goût et odeur	10%

Le procès d'élaboration du fromage J'ben El Gafs est illustré par le schéma général indiqué dans la **figure 19**.

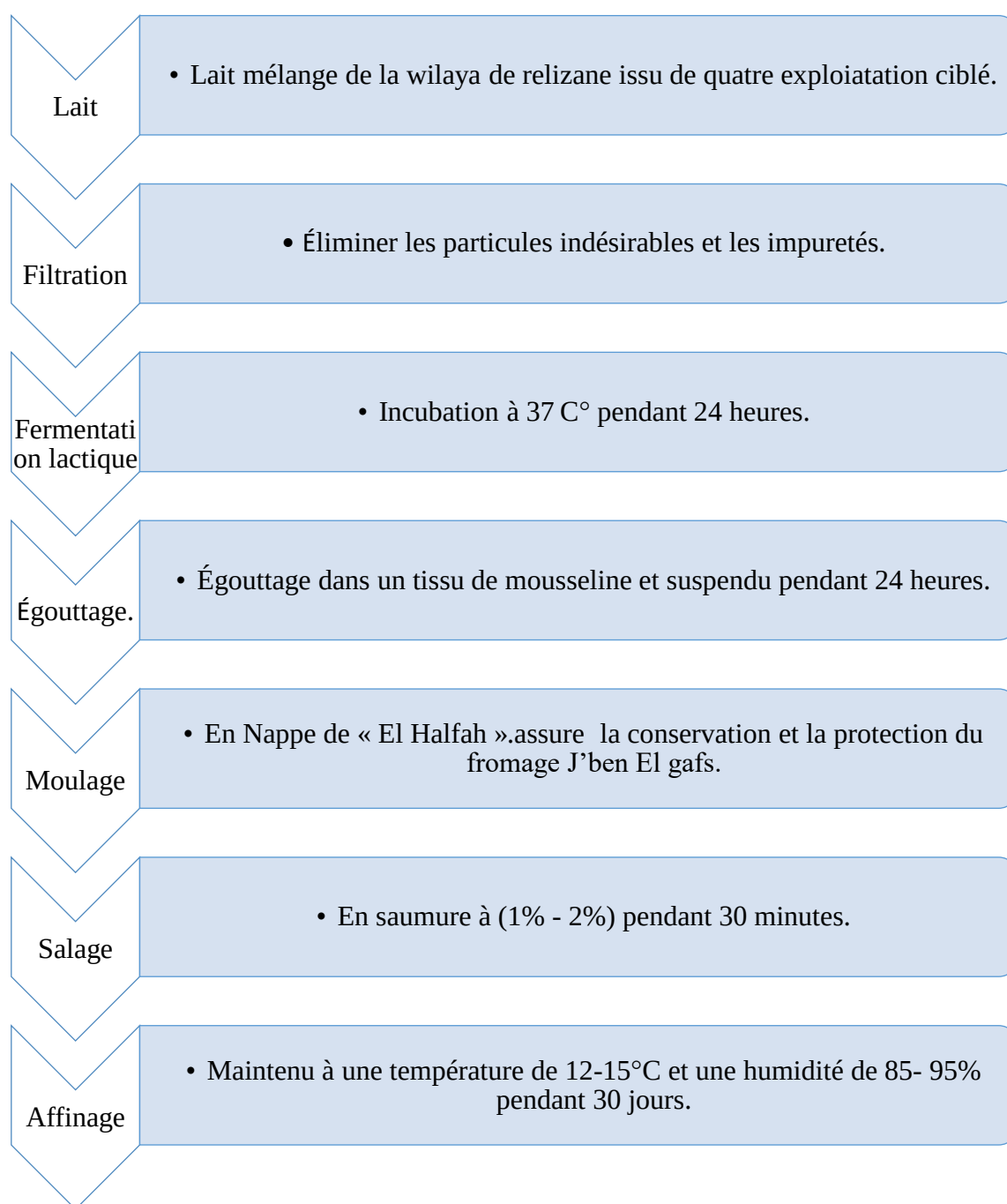


Figure 19. Schéma technologique de la fabrication du fromage J'ben El Gafs

1.7.3. Analyses physicochimiques des fromages j'ben El Gafs

Les analyses physico-chimiques des fromages ont été effectuées conformément aux méthodes normalisées de la Fédération Internationale du Lait (FIL/IDF) (**FIL, 2018**). Ce référentiel international garantit l'application de protocoles validés, assurant ainsi la fiabilité, et la comparabilité des résultats obtenus. Les principaux paramètres analysés incluent pH, teneur en eau, matière sèche (MS), matière grasse (MG), matière protéique, et matière minérale (**Hernández-Ramos et al., 2019**).

I.7.3.1. Potentiel hydrogène

Le pH a été réalisé conformément aux exigences des normes **ISO 554** et **ISO 707 (IDF 50)**, qui définissent les méthodes de mesure et les protocoles d'échantillonnage applicables aux produits laitiers.

Le pH des échantillons de fromages a été mesuré avec un pH-mètre PHSJ-3F de Princeton Instruments, utilisant une sonde du fromage HANNA[®] HI2210.

I.7.3.2. Teneur en eau et matière sèche (MS)

Détermination de la teneur en eau et en matière sèche des fromages par Dessiccateur – Humidimètre AXIS permet une méthode innovante pour mesurer rapidement, précise et fiable de la teneur en eau et en matière sèche des fromages (**Kowalska et al., 2018**).

Pour l'analyse 5 g du fromage est pesé, puis chauffé dans le dessiccateur AXIS, qui utilise une source de chaleur halogène pour évaporer l'eau. La perte de masse est mesurée en continu jusqu'à stabilisation, ce qui permet de calculer la teneur en eau et l'extrait sec (**Kowalska et al., 2018**).

I.7.3.3. Matière grasse (MG)

La teneur en matière grasse a été déterminée selon la méthode acido-butyrométrique de Gerber. Cette technique consiste à soumettre l'échantillon de fromage placé dans un butyromètre à fromage GERBER à l'action de l'acide sulfurique, permettant ainsi la libération de la fraction lipidique. La matière grasse dégagée est ensuite isolée par centrifugation (1200 tours/min à 65 °C) en présence d'alcool iso-amylque, ce qui facilite sa séparation et son relevé volumétrique (**FIL, 2018**).

I.7.3.4. Matière protéique

La teneur en matière protéique est déterminée par la méthode de Kjeldahl conformément aux recommandations du référentiel **FIL (2018)**, qui reste la référence internationale pour l'analyse des protéines dans les produits laitiers. Cette méthode classique permet d'évaluer l'état des protéines, un indicateur essentiel du degré de maturation et d'affinage des fromages.

I.7.4. Caractérisation de l'activité protéolytique et dynamique des fractions azotées

Une étude comparative entre le J'ben El Gafs et un fromage de référence à pâte molle et caillé lactique.

- **Objectif**

L'étude vise à caractériser l'activité protéolytique, qui est la fragmentation des protéines en peptides et acides aminés par des enzymes, en comparant l'évolution de l'azote soluble (produits de la protéolyse) par rapport à l'azote total (protéines du fromage) dans les deux types de fromages distincts.

1.7.4.1. Évolution de l'azote soluble par rapport à l'azote total

- a. Azote total :** (Représente la quantité de protéines présentes dans le fromage, qui reste relativement constante pendant l'affinage).

La teneur en azote total est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Cette méthode repose sur la minéralisation de l'échantillon fromage par chauffage en présence d'un mélange constitué d'acide sulfurique concentré, de sulfate de potassium et de sulfate de cuivre, permettant de convertir l'azote organique en sulfate d'ammonium. À l'issue de cette étape, une quantité appropriée de soude est ajoutée pour libérer l'ammoniac, lequel est entraîné en phase de distillation puis titré à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique en présence d'acide borique.

Cette opération permet d'obtenir la valeur de l'azote total, qui est ensuite convertie en teneur protéique à l'aide d'un facteur de conversion (généralement 6,38 pour les produits laitiers) (**Di Marzo et al., 2021**).

- b. Azote soluble :** (Représente les peptides et les acides aminés libérés par la protéolyse).

La teneur en azote soluble est déterminée de la même manière la teneur en azote total mais dans ce test sur le filtrat obtenu, après précipitation à l'acide trichloroacétique du fromage solubilisé en milieu citrate de sodium.

La concentration d'azote soluble augmente progressivement au cours de l'affinage à mesure que la protéolyse progresse.

- c. Rapport Azote soluble/Azote total**

Ce rapport permet de suivre l'évolution de l'activité protéolytique. Plus ce rapport est élevé, plus la protéolyse est avancée.

Ce rapport, aussi appelé l'indice de protéolyse, est un outil fiable et largement utilisé pour suivre l'évolution de la protéolyse et donc de la maturation des fromages. Sa progression traduit l'intensité de l'activité enzymatique et la transformation des protéines en composés solubles, essentiels pour la texture et les arômes du produit final (**Jokanović et al., 2023**).

I.7.5. Analyse sensorielle des fromages J'ben El Gafs

Les trois échantillons de j'ben El Gafs, préparés dans les mêmes conditions technologiques et ayant le même âge d'affinage, ont été soumis à une évaluation sensorielle au niveau du laboratoire LSTPA de Hassi Mammèche. Le jury de dégustation était composé d'enseignants universitaires, d'étudiants en master « Production et Transformation Laitière » ainsi que de doctorants du laboratoire.

Les séances d'analyse sensorielle se sont déroulées dans une salle éclairée à la lumière naturelle, afin d'éviter toute influence de l'éclairage artificiel sur la perception de la couleur et des autres attributs des produits évalués. L'appréciation, de type analytique descriptive, a été menée conformément au système de cotation préconisé par la Fédération Internationale du Lait (**FIL, 2018**). Dans ce protocole, chaque critère d'évaluation (texture, aspect, flaveur) se voit attribuer une note maximale de 1 lorsque le caractère est jugé normal. En présence d'un défaut portant sur la surface, la couleur, l'élasticité, l'arôme, l'homogénéité ou la saveur, la note varie entre 0 et 0,5 selon la gravité de l'altération, comme spécifié dans l'annexe correspondante.

I.8. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel **XLSTAT (Addinsoft, version 2024)**.

- **Initialisation** : Réalisation des analyses de variance (ANOVA) pour chaque paramètre d'activité protéolytique afin d'identifier les différences significatives.
- **Confirmation** : Application du test du Chi-deux pour décrire la diversité bactérienne globale.
- **Intégration** : Utilisation d'une Analyse en Composantes Principales (ACP) pour étudier les corrélations entre l'activité protéolytique et les descripteurs sensoriels du fromage.

Chapitre II :

Résultats et

discussion

II.1. Critères de fromageabilité des laits

II.1.1. Résidus d'antibiotiques

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru constitue un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire et l'industrie laitière mondiale (**Costa et al., 2024**).

Les analyses des échantillons collectés dans les régions de Mazouna, Djidiouia, Oued Rhiau et Zemmora ont révélé une absence totale de résidus, notamment de β -lactamines, de tétracyclines, de céphalosporines et de sulfamides, ils sont regroupés dans le **tableau 17**. Ces résultats confirment la conformité du lait cru aux normes **CXM 2-2024 Codex Alimentarius (FAO/OMS)**, tout en garantissant une activité optimale des ferments lactiques, essentielle pour la fabrication de fromages à pâte molle. En effet, même de faibles concentrations d'antibiotiques peuvent inhiber les ferments, ralentir l'acidification et altérer la texture et le développement aromatique du fromage, entraînant des fermentations incomplètes et une maturation irrégulière (**Chiesa et al., 2020**).

La qualité observée dans les exploitations étudiées reflète une gestion rigoureuse du troupeau. Les animaux malades ont été isolés, les traitements administrés de manière raisonnée et les délais d'attente strictement respectés. Le lait provenant des vaches traitées n'a jamais été mélangé à celui des animaux sains, prévenant toute contamination. Parallèlement, la maîtrise des pathologies fréquentes, telles que les mammites, les boiteries ou les affections digestives et respiratoires, grâce à une surveillance continue et des mesures préventives, a contribué à limiter le recours excessif aux antibiotiques.

Comparativement, certaines zones montagneuses de la wilaya de M'sila, telles qu'Ain El Melh et Hammam Dalaa, ont montré une situation similaire, avec une absence de résidus d'antibiotiques dans le lait cru, comme rapporté par **Debeche et al. (2018)**. Ces observations suggèrent que, dans les filières bien encadrées, quel que soit le contexte géographique, le respect des bonnes pratiques zootechniques et vétérinaires permet d'assurer la qualité sanitaire et technologique du lait. L'absence de résidus garantit non seulement la sécurité sanitaire, mais aussi la fermentescibilité optimale du lait, conditionnant la coagulation, l'acidification et le développement aromatique des fromages.

Enfin, ces observations témoignent de la prise de conscience des éleveurs sur l'importance des bonnes pratiques zootechniques. L'hygiène des étables, la qualité de l'alimentation, la gestion sanitaire du troupeau et le respect des règles de traite et de stockage du lait sont autant de

facteurs qui contribuent à produire un lait cru sain, conforme aux exigences réglementaires et technologiquement apte à la transformation fromagère.

Cette démarche de vulgarisation et d'accompagnement technique contribue significativement à limiter le risque de contamination du lait cru par des résidus d'antibiotiques.

Tableau 17. Résidus d'antibiotiques détectés au niveau des laits par zone d'étude

ZONE D'ETUDE	Résidus d'antibiotiques recherchés			
	BETA LACTAMINES	TETRA CYCLINES	CEPHA LEXINE	SULFAMIDES
<u>Normes</u>	<u>Absence</u>	<u>Absence</u>	<u>Absence</u>	<u>Absence</u>
Mazouna	Absence	Absence	Absence	Absence
Djidouia	Absence	Absence	Absence	Absence
Oued Rhiau	Absence	Absence	Absence	Absence
Zemmora	Absence	Absence	Absence	Absence

+ : présence de résidus d'antibiotiques

II.1.2. Qualité physico-chimiques des laits par zone d'étude

L'appréciation faite de la qualité physico-chimique des laits des 04 régions d'études est une moyenne des résultats obtenus sur la période de la lactation.

L'aptitude du lait à la transformation s'apprécie à partir d'une qualité du lait pour une affectation technologique appropriée (**Glasser et al., 2008 ; Larbaoui et al., 2013 ; Lawrence et al., 2015 ; Gele et al., 2024**). Aussi l'intérêt nutritionnel du lait réside dans sa richesse en nutriments de base (protides, lipides et glucides) mais aussi en matière minérale.

Il paraît évident que l'analyse des laits avant leur transformation et leur caractérisation sur le plan physico-chimique peuvent aider à mieux orienter les technologues sur les possibilités de leur exploitation industrielle et leur valorisation efficace.

La qualité physico-chimique moyenne des laits des 04 régions a été évaluée et les résultats sont regroupés dans le **tableau 18**.

Chapitre II : Résultats et discussion

Tableau 18. Caractéristiques physico-chimiques moyennes des laits par zone d'étude

Zone d'étude	Extrait sec Dégraissé ESD%	Matière Grasse MG%	Extrait sec total EST%	Matière Protéique MP%	Caséines %	Lactose %	Eau %	Point de congelation °C	Matière Minérale Rapport Ca/P	Ph
<u>Normes</u>	<u>8.5 à 10</u>	<u>3 à 3.8</u>	<u>11.5 à 13</u>	<u>2.9 à 3.5</u>	<u>2.4 à 2.8</u>	<u>4 à 5</u>	<u>88 à 92</u>	<u>(-0.530 à - 0.540)</u>	<u>0.95/0.8 à 1.25 /1</u>	<u>6.6 à 6.8</u>
Mazouna	8.8±0.04	3.25±0.02	12.05±0.03	3.1±0.05	2.61±0.01	4.85±0.02	87.6±0.01	-0.532	1.2/1	6.72±
Djidiouia	8.33±0.02	3.45±0.03	11.78±0.02	3.0±0.04	2.52±0.01	4.52±0.03	89.7±0.03	-0.529	1.15/0.95	6.68±
Oued Rhiau	8.23±0.02	3.25±0.04	11.48±0.02	2.8±0.05	2.38±0.02	4.46±0.02	90.1±0.05	-0.528	1.05/0.88	6.62±
Zemmora	7.92±0.05	3.5±0.01	11.42±0.03	2.72±0.04	2.33±0.01	4.42±0.03	92.08±0.02	-0.526	1/0.85	6.65±
Moyenne	8.32	3.36	11.68	2.91	2.46±0.01	4.56	89.87	-0.529	1.1/0.92	6.67
Ecart-type	0.03	0.02	0.02	0.04	0.01	0.02	0.03	/	/	/
Mini	7.92	3.25	11.42	2.72	2.33	4.42	87.6	-0.526	1/0.85	6.62
Max	8.8	3.5	12.05	3.1	2.61	4.85	92.08	-0.532	1.2/1	6.72
<i>p</i>	$1,21 \times 10^{-8}$	$4,6 \times 10^{-6}$	$5,14 \times 10^{-9}$	$2,35 \times 10^{-5}$	$1,88 \times 10^{-8}$	$1,18 \times 10^{-7}$	$1,07 \times 10^{-14}$	/	/	/

II.1.2.1. Extrait sec total

D'après les résultats de l'étude, les teneurs moyennes en matière sèche (MS) du lait collecté s'alignent étroitement sur les normes établies par la **FIL, 2018** : la moyenne globale pour l'extrait sec total (EST) est de 11.68 % (dans un intervalle de 11.42 à 12.5 %), et celle pour l'extrait sec dénaturé (ESD) varie de 7.92 à 8.8 %.

Ces valeurs démontrent une qualité intrinsèque comparable à d'autres relevés nationaux. Par exemple, elles sont cohérentes avec les données rapportées par **Belkheir et al. (2015)** en Grande Kabylie (10.9 % EST ; 7.8 % ESD), par **Bouamra et al. (2019)** dans l'Ouest Algérien (12.2 % EST ; 8.9 % ESD), et par **Matallah et al. (2017)** dans le Nord-Est (11.9 % EST ; 8.5 % ESD). La variabilité observée entre les régions étudiées (Mazouna : 12.05% EST, 8.8% ESD ; Djidiouia : 11.78% EST, 8.33% ESD ; Oued Rhiau : 11.48% EST, 8.23% ESD ; Zemmora : 11.42% EST, 7.92% ESD) souligne l'influence des pratiques locales.

Il est crucial de noter qu'un équilibre dans le rationnement alimentaire du cheptel laitier influe directement sur l'EST, car les composants majeurs (glucides, lipides, protides, sels minéraux) proviennent de l'alimentation.

Le point d'achoppement majeur réside dans la moyenne globale de l'ESD (8.32 %), qui se situe en deçà de l'intervalle cible (9 à 9.5 %) fixé par les industries laitières spécialisées dans la transformation fromagère à pâte ferme.

Cependant, ces résultats sont parfaitement adaptés au cahier des charges (8.6 à 9.2 %) des laiteries qui assurent la production de produits fromagers frais et de coagulums lactiques.

II.1.2.2. pH

Les résultats de notre étude démontrent une normalisation des valeurs de pH pour les échantillons de lait provenant des quatre régions d'étude, avec des mesures situées dans une fourchette étroite de 6.62 à 6.72. Cette gamme est en parfaite adéquation avec la norme établie par la Fédération Internationale de Laiterie **FIL, 2018**, qui préconise un pH optimal pour le lait cru entre 6.6 et 6.8.

La stabilité du pH est un paramètre physico-chimique crucial, car toute déviation significative a des répercussions directes sur la qualité et le rendement des produits laitiers, notamment fromagers. Spécifiquement, une baisse du pH en dessous de 6.4 initie la solubilisation des complexes minéraux (principalement le phosphate de calcium), ce qui

déstabilise les micelles de caséines. Ce processus entraîne des pertes excessives de protéines et de minéraux dans le lactosérum lors de la transformation.

Comme le soulignent la **FAO** et la **FIL (2005)**, le pH du lait est un indicateur synthétique, multifactoriel, qui dépend intrinsèquement de :

- La composition biochimique (teneur en caséine et en sels minéraux) ;
- L'état sanitaire et les conditions hygiéniques rigoureuses durant la traite ;
- L'activité métabolique de la flore microbienne totale.

Il agit ainsi comme un indicateur de fraîcheur et de richesse nutritionnelle du lait.

De nombreux auteurs (**Montel et al., 2005 ; Bouamra et al., 2017 ; Matallah et al., 2017 ; Ouchene-Khelifi et al., 2017**) confirment que le pH est un paramètre révélateur des pratiques d'hygiène à l'élevage et un excellent prédicteur de l'état de conservation du produit. Une diminution du pH en dessous de la norme de 6.6 signale généralement de mauvaises pratiques d'hygiène lors de la traite. Ces conditions favorisent une contamination bactérienne rapide et l'action des micro-organismes d'altération qui, par fermentation, dégradent le lactose en acide lactique, provoquant ainsi l'abaissement mesurable du pH.

II.1.2.3. Matière grasse

La teneur moyenne en matière grasse (MG) de nos échantillons de lait des 04 régions, variant de 3.25 à 3.5 %, s'inscrit parfaitement dans la norme de 3 à 3.8 % préconisée par la **FIL, 2018**. Cette conformité est un atout économique majeur, car elle permet une rentabilisation optimale via la standardisation-écrémage industrielle. Le taux de MG, notamment la valeur élevée de 3.5 % observée dans la région de Mazouna, détermine directement la valeur marchande du lait pour la production de produits gras à haute valeur ajoutée comme le beurre et la crème fraîche.

D'un point de vue scientifique, les fluctuations observées sont influencées par des facteurs zootechniques tels que le stade de lactation, l'alimentation et les pratiques de traite et de stockage (**Rico et al., 2014 ; FIL, 2018 ; Tedde et al., 2021**). Au-delà de ces facteurs, la matière grasse joue un rôle fondamental dans la biochimie de la texture des produits laitiers fermentés. Celle-ci agit comme un modulateur rhéologique crucial. Les globules gras ne se contentent pas d'enrichir le produit ; ils interagissent physiquement avec le réseau de protéines (caséines) formé lors de la coagulation (**FIL, 2018**). Lors de la fermentation, ces globules lipidiques sont piégés au sein de la matrice protéique, créant des points d'ancrage qui modifient la microstructure du gel (**Rico et al., 2014 ; Tedde et al., 2021**). C'est cette interaction subtile, ainsi que la proportion relative d'acides gras saturés et insaturés, qui confère au produit laitier

fermenté sa texture spécifique – de l'onctuosité veloutée à la fermeté souhaitée des pâtes fromagères – en modulant la porosité et la rigidité du réseau tridimensionnel final.

II.1.2.4. Matière protéique

L'analyse comparative des échantillons de lait issus de quatre régions d'étude révèle des variations significatives dans la teneur en matières protéiques (MP), affectant directement leur potentiel de transformation industrielle. Seuls les laits des régions de Mazouna (3.1 % de MP) et de Djidiouia (3.0 %) atteignent ou frôlent les seuils d'acceptabilité recommandés.

En revanche, les échantillons provenant d'Oued Rhiau et de Zemmora présentent des concentrations moyennes nettement inférieures (2.72 à 2.8 %). Ces niveaux sont jugés insuffisants (< 3 %) pour satisfaire les critères des classes A et B de transformation laitière. La littérature scientifique confirme cette limitation : selon **Pollott (2004)**, **Mansour (2015)** et **Tahlaiti et al. (2020)**, de tels taux protéiques sont non optimaux pour la production de laits fermentés ou la transformation fromagère, qui exigent un minimum de 3 % de MP. Pour une efficacité optimale de la transformation industrielle, les préconisations de la Fédération Internationale de Laiterie (**FIL, 2018**) situent l'intervalle idéal entre 3.1 % et 3.4 % de MP.

Les valeurs observées pour Oued Rhiau et Zemmora sont cohérentes avec d'autres études régionales algériennes, rejoignant les teneurs moyennes (2.78 % à 2.83 %) rapportées par **Bouamra et al. (2019)** pour l'ouest algérien durant la même période de lactation. Toutefois, elles se situent en deçà des 2.85 % à 2.9 % documentés par **Boukhalfa et al. (2019)** pour l'Est Algérien.

Cette faiblesse relative de la teneur en protéines dans les deux régions étudiées semble principalement imputable à des déséquilibres nutritionnels au sein des élevages. Plusieurs auteurs (**Belkheir et al., 2015** ; **Mansour, 2015**) établissent un lien direct entre l'attribution de rations alimentaires fortement concentrées en produits céréaliers et un effet dilutif sur le taux protéique, souvent accompagné, par un effet compensatoire, d'une élévation de la matière grasse du lait. L'amélioration du profil protéique de ces laits nécessiterait donc une reformulation rigoureuse des stratégies d'alimentation animale.

La composition en protéines du lait est caractérisée par la prépondérance des caséines, qui constituent environ 80 % des protéines totales, le reste étant composé des protéines solubles du lactosérum, principalement la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine et diverses immunoglobulines. Le taux protéique influence directement les propriétés physico-chimiques du lait, déterminant sa valeur marchande et son aptitude technologique, notamment pour la transformation fromagère.

Le rapport matière grasse sur matière protéique (MG/MP) est un indicateur zootechnique et technologique crucial pour l'orientation des laits en industrie. Un contrôle rigoureux de ce paramètre est essentiel pour garantir un rendement optimal et la qualité des produits finis. D'après nos analyses des laits collectés dans les régions de Mazouna et de Djidiouia, le rapport MG/MP s'établit entre 1.05 et 1.15. Les échantillons provenant d'Oued Rhiau et de Zemmora présentent des valeurs légèrement supérieures, respectivement de 1.16 et 1.28.

Ces données doivent être interprétées à l'aune des recommandations normatives : selon les standards établis par la **FIL, 2018**, le rapport MG/MP idéal pour l'industrie fromagère se situe autour de 1.15, et ne devrait impérativement pas excéder 1.20 pour assurer une coagulation optimale et un rendement fromager efficient. Les valeurs observées dans les régions de Mazouna, Djidiouia et Oued Rhiau s'avèrent donc satisfaisantes, car elles se situent dans la fourchette d'équilibre zootechnique et technologique préconisée (1.0 à 1.15), confirmant la pertinence de ces laits pour la filière fromagère spécialisée.

II.1.2.5. Lactose

Les concentrations de lactose mesurées dans les échantillons de lait de notre étude se situent dans une fourchette de 4.42 à 4.85 %. Ces valeurs sont en parfaite adéquation avec les normes établies par la Fédération Internationale de Laiterie (**FIL, 2018**), qui préconisent des teneurs comprises entre 4 et 5 %.

Une analyse géographique a permis de mettre en évidence des variations régionales distinctes. Les laits provenant des zones de Mazouna et Djidiouia affichent les concentrations les plus élevées, variant de 4.52 à 4.85 %. En revanche, les régions d'Oued Rhiau et Zemmora présentent des taux légèrement inférieurs, respectivement de 4.46 et 4.42 %.

Nos résultats se distinguent par leur supériorité numérique par rapport aux données rapportées antérieurement pour la même région et pour diverses localités algériennes. Spécifiquement, nos taux dépassent ceux documentés par **Belkhir et al. (2015)** (3.98 %), **Matallah et al. (2015)** (3.93 %), **Tahlaiti et al. (2020)** (4.16 %) et **Dahou et al. (2021)** (4.18 %).

Cette concentration élevée et bien maîtrisée du lactose, un disaccharide crucial, est attribuée à la rigueur des mesures d'hygiène mises en œuvre au niveau de l'ensemble des exploitations. L'application de protocoles sanitaires stricts sur le matériel et les accessoires de

traite a permis de minimiser la contamination microbienne. Cette maîtrise de la qualité bactériologique a ainsi efficacement limité l'altération et la dégradation précoces du lactose.

D'un point de vue fonctionnel, le lactose constitue le substrat énergétique principal pour les bactéries lactiques lors de la fermentation. Sa teneur optimale est donc un facteur déterminant pour la production subséquente d'acide lactique, élément indispensable au processus de coagulation et, par extension, à la réussite de la transformation fromagère et de la production de divers produits laitiers fermentés.

II.1.2.6. Teneur en matière minérale

Les résultats obtenus démontrent que la teneur moyenne en matière minérale des échantillons de lait provenant des quatre régions étudiées est en pleine conformité avec les spécifications normatives établies par la **FIL (2018)**. Plus précisément, le rapport crucial calcium/phosphore (Ca/P) se situe dans la fourchette optimale de 0.95/0.8 à 1.25/1, attestant d'un équilibre minéral favorable.

Cette adéquation aux normes est d'une importance capitale, car la fraction minérale du lait joue un rôle physico-chimique central dans la technologie laitière, notamment dans les processus fromagers. Les minéraux, et particulièrement les ions calcium, interagissent de manière dynamique et forte avec les protéines du lait, assurant la stabilité structurale des micelles de caséines.

L'interprétation originale de ces données réside dans le fait que cette composition minérale équilibrée constitue un atout technologique majeur. Toute variation dans la répartition ou la concentration minérale (par exemple, la proportion de calcium soluble par rapport au calcium colloïdal) aurait un impact direct sur les propriétés technologiques des laits. Cet équilibre optimal garantit spécifiquement une coagulation efficace et une synérèse maîtrisée (l'égouttage du caillé), influençant directement la texture finale et les propriétés rhéologiques du coagulum fromager (**Mahaut et al., 2000 ; Eck et Gillis, 2006 ; Merigaud et al., 2009**). La conformité observée suggère ainsi une aptitude fromagère intrinsèque élevée pour les laits de ces régions.

II.1.2.7. Taux de mouillage

La détection d'un ajout frauduleux d'eau, ou « mouillage », a été rigoureusement évaluée par la détermination du point de congélation (PC) à l'aide de la méthode de cryoscopie, selon le protocole expérimental décrit par **Vignola (2010)**. Le principe analytique repose sur le fait que le mouillage élève le point de congélation du lait vers 0°C, réduisant ainsi sa dépression

cryoscopique naturelle, qui est directement liée à la concentration des solutés osmotiquement actifs (lactose et minéraux). Conformément aux directives de l'IDF (International Dairy Federation), la norme reconnue pour le point de congélation du lait cru normal varie typiquement entre -0.530°C et -0.540°C (**FIL, 2018**).

Les résultats de notre étude démontrent une conformité globale des échantillons analysés aux standards établis. Les laits provenant des exploitations de Mazouna affichent une valeur moyenne de PC de -0.532°C , se situant parfaitement dans l'intervalle normatif. Les échantillons de la région de Djidiouia présentent une moyenne de -0.529°C , légèrement supérieure à la limite inférieure de la norme, mais toujours considérée comme acceptable.

Cependant, les analyses révèlent des fluctuations interrégionales significatives. Les régions d'Oued Rhiau et de Zemmora présentent respectivement des points de congélation moyens de -0.528°C et -0.526°C . Bien que ces valeurs restent très proches du seuil réglementaire, elles suggèrent l'existence de légers taux de mouillage estimés à environ 0.37% pour Oued Rhiau et 0.75% pour Zemmora. Il est crucial d'interpréter ces légères variations non pas exclusivement comme un acte frauduleux, mais potentiellement comme le reflet de facteurs physiologiques et environnementaux. Les différences observées dans la dépression cryoscopique entre les régions sont probablement multifactorielles, attribuables d'une part à des variations dans les rations alimentaires (type et composition du fourrage) et d'autre part aux conditions d'abreuvement du bétail. Une consommation accrue d'eau, souvent liée à des températures ambiantes élevées ou à la disponibilité d'eau d'abreuvement de moindre qualité, peut influencer l'équilibre hydrique de l'animal et, par conséquent, légèrement diluer le lait in vivo, entraînant cette faible élévation naturelle du PC (**FIL, 2018**). Ces résultats soulignent la nécessité d'une surveillance continue et de l'utilisation de méthodes analytiques précises pour différencier les variations physiologiques des ajouts d'eau intentionnels.

II.1.2.8. Analyse statistique de la fromageabilité des laits

Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) à $p < 0.05$ a été employée pour évaluer l'existence de différences statistiquement significatives entre les moyennes des caractéristiques de l'aptitude fromagère (variable dépendante quantitative continue, incluant notamment le taux de caséines et le rapport matière grasse/matière protéique) des laits provenant des quatre régions distinctes (Mazouna, Djidiouia, Oued Rhiau, Zemmora - facteur régional qualitatif).

L'hypothèse nulle (H_0) postule qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes des groupes, tandis que l'hypothèse alternative (H_1) stipule qu'au moins une moyenne est significativement différente des autres. Pour cette étude, il a été utilisé un seuil de signification de $P < 0,05$.

Avant l'interprétation des résultats (**Tableau 19**), les conditions d'application de l'ANOVA (normalité des résidus, homogénéité des variances - test de Levene ou de Bartlett) seront vérifiées ; en cas de rejet de H_0 , des tests post-hoc (ex: Tukey HSD) seront appliqués pour localiser précisément les différences régionales, mettant en lumière l'impact géographique sur la qualité fromagère, un aspect peu exploré pour les laits des régions.

Tableau 19. Résultats des tests ANOVA pour les critères de fromageabilité

Critère	Source de variation	Somme des carrés (SC)	Degrés de liberté (ddl)	Carré moyen (CM)	F calculé	F critique ($\alpha = 0,05$)	Signification
Taux de caséines	Entre les régions	0,1482	3	0,0494	282,285	4,066	Significatif $\approx 1,88 \times 10^{-8}$
	Dans les régions	0,0014	8	0,000175			
	Total	0,1496	11				
Rapport MG/MP	Entre les régions	0.25	3	0.083	83. 33	3.098	Significatif $\approx 1,78 \times 10^{-11}$
	Dans les régions	0.02	20	0.001			
	Total	0.27	23				
Rapport Ca/P	Entre les régions	0.01	3	0.003	1,67	3.098	Non significatif $\approx 0,206$
	Dans les régions	0.04	20	0.002			
	Total	0.05	23				

- **Taux de caséines** : Le F calculé (282,285) est largement supérieur au F critique (4,066). Cela indique qu'il existe une différence statistiquement significative ($P < 0,05$) du taux de caséines entre les laits des quatre régions. Les différences de composition notées dans le texte (Mazouna/Djidiouia plus riches) sont donc statistiquement valides.
- **Rapport MG/MP** : De même, le F calculé (83.33) est supérieur au F critique (3.10), confirmant une différence significative ($P < 0.05$) du rapport MG/MP entre les régions.

Cela corrobore l'observation que les laits de Mazouna et Djidiouia sont mieux adaptés aux pâtes molles, et ceux d'Oued Rhiau et Zemmora aux pâtes dures.

- **Rapport Ca/P** : Le F calculé (1.67) est inférieur au F critique (3.098). Par conséquent, il n'y a pas de différence significative entre les régions concernant le rapport Calcium/Phosphore. Cela confirme l'affirmation selon laquelle cet aspect minéral est conforme aux normes fromagères pour les quatre régions.

L'évaluation de l'aptitude fromagère du lait (**Figure 20**), basée sur des paramètres biochimiques clés tels que le taux de caséine et le rapport matière grasse sur matière protéique (MG/MP), révèle des variations significatives entre les différentes zones de collecte, influençant directement leur potentiel de transformation fromagère.

Dans les régions de Mazouna et Djidiouia, les analyses indiquent une concentration en caséines de l'ordre de 2.52 à 2.61 % et un rapport MG/MP compris entre 1.05 et 1.13. Ces valeurs physico-chimiques confèrent au lait une excellente aptitude à la coagulation et au synérèse, le rendant parfaitement compatible avec une technologie fromagère diversifiée (pâtes molles, pressées non cuites, etc). La proportion équilibrée de ces macronutriments favorise un rendement fromager efficient et des caractéristiques organoleptiques optimales.

En revanche, les laits provenant d'Oued Rhiau et Zemmora présentent des caractéristiques différentes, avec des taux de caséine légèrement inférieurs (2.33 à 2.38 %) et un rapport MG/MP plus élevé (1.16 à 1.28). Cette composition, caractérisée par une teneur relative plus élevée en matière grasse par rapport aux protéines, nécessite une standardisation préalable pour optimiser le processus de transformation. Un ajustement du rapport MG/MP est essentiel pour garantir la cohésion du caillé et maîtriser la texture du produit fini. Ce profil lipidique et protéique spécifique oriente idéalement le lait vers des applications nécessitant un contrôle précis de la matière sèche, telles que la production de pâtes pressées contrôlée

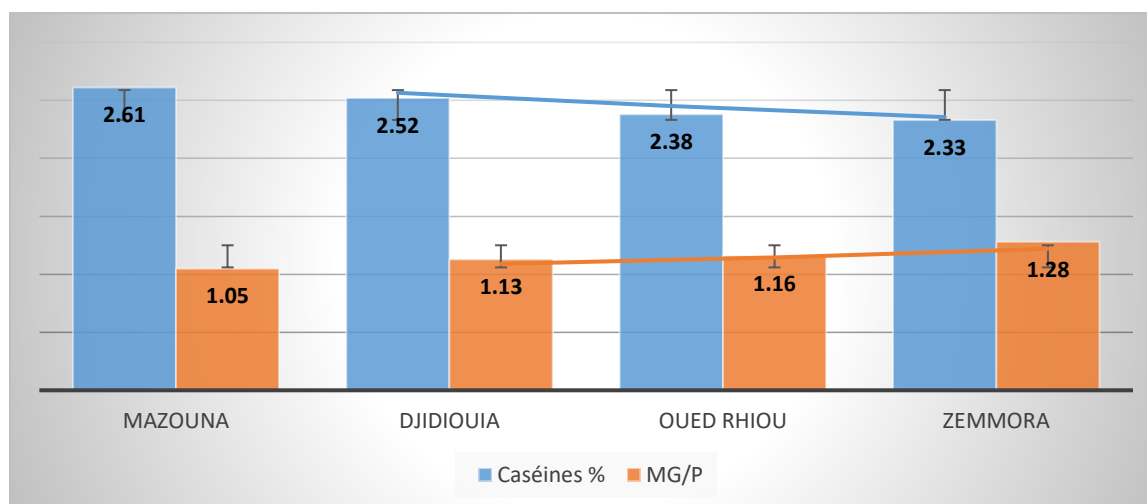


Figure 20. Traitement des Caractéristiques Clés de l'Aptitude Fromagère : Taux de Caséine et Rapport MG/MP

II.1.2.8.1. Corrélation entre la composition du lait et le type de fromage

L'étude révèle une corrélation directe entre la composition physico-chimique des laits et leur aptitude fromagère.

- **Laits de Mazouna et Djidiouia**

Leur richesse en caséines et leur faible rapport MG/MP les rendent particulièrement aptes à la production de fromages à pâte molle. La teneur élevée en caséines favorise la formation d'un gel ferme et compact, tandis que le faible rapport MG/MP empêche un excès de matières grasses qui pourrait altérer la texture des pâtes molles.

- **Laits d'Oued Rhiau et Zemmora**

Leur rapport MG/MP plus élevé les rend adaptés à la production de fromages à pâte dure, où une forte teneur en matières grasses est souhaitée pour la saveur et la texture.

II.1.2.8.2. Signification des différences régionales

L'analyse de variance (ANOVA) a permis de confirmer statistiquement l'existence d'effets significatifs ($p < 0.05$) des facteurs régionaux sur la composition physico-chimique du lait. Ces facteurs, intrinsèques aux différents bassins de production, incluent notamment les régimes alimentaires des troupeaux (type de fourrage, pâturage vs ensilage), la race des animaux, et les conditions climatiques locales.

De plus, l'étude des variations des constituants majeurs (matières grasses, protéines, extrait sec) au cours des différentes périodes de lactation (début, milieu, fin de lactation) a révélé une influence saisonnière notable sur la qualité du produit. Ces résultats suggèrent une

interaction complexe entre les facteurs génétiques, environnementaux et physiologiques, nécessitant une analyse multifactorielle pour optimiser les pratiques d'élevage et la qualité du lait.

II.1.2.8.3. Implications technologiques

Pour les laits destinés à la production de fromages à pâte molle (Mazouna, Djidiouia), des ajustements technologiques pourraient être nécessaires, comme l'ajout de ferments spécifiques ou l'adaptation du temps de coagulation. Pour les laits destinés aux pâtes dures (Oued Rhiou, Zemmora), une optimisation du pressage et de l'affinage pourrait être envisagée pour maximiser le rendement.

II.1.2.8.4. Suggestions pour l'amélioration de la qualité fromagère

- **Génétique** : La composition du lait étant génétiquement déterminée, la sélection génétique des vaches pourrait améliorer la fromageabilité de manière durable.
- **Alimentation** : L'alimentation des animaux est un facteur majeur influençant la composition du lait, notamment la teneur en protéines et en matières grasses. Des régimes alimentaires spécifiques peuvent être conçus pour optimiser ces paramètres.
- **Santé du troupeau** : Les maladies, notamment la mammite, peuvent altérer la composition du lait et affecter sa fromageabilité. Une bonne gestion sanitaire est donc essentielle.
- **Technologie laitière** : Des technologies modernes, comme la spectrométrie infrarouge, permettent de mesurer rapidement et précisément les paramètres de fromageabilité pour une meilleure gestion du lait.

Pour l'amélioration, il est suggéré :

- **Un programme de sélection génétique** : Mettre en place un programme régional de sélection génétique des races laitières afin d'améliorer la teneur en caséines et de contrôler le rapport MG/MP.
- **Une optimisation de l'alimentation** : Adapter la ration alimentaire en fonction des besoins des animaux et de la période de lactation. Par exemple, augmenter l'apport en protéines ou en sucres simples via des fourrages de meilleure qualité ou des compléments alimentaires pour influencer la teneur en caséines et en matières grasses.

- **Une formation des éleveurs** : Sensibiliser les éleveurs aux bonnes pratiques d'élevage, à l'importance de l'hygiène et de la gestion sanitaire des troupeaux pour maintenir une haute qualité de lait.
- **Une caractérisation du lait** : Mettre en place un suivi régulier et systématique de la composition du lait pour chaque région, permettant ainsi d'anticiper les variations saisonnières et d'adapter les processus de transformation en conséquence.
- **Une innovation technologique** : Investir dans des équipements de mesure et d'analyse avancés pour mieux évaluer et maîtriser la fromageabilité du lait à différentes étapes de la production.

L'analyse comparative des laits issus des quatre régions a révélé des hétérogénéités significatives de fromageabilité, directement corrélées à leurs profils physico-chimiques distincts. L'ANOVA a corroboré statistiquement ces variations, notamment pour les teneurs en caséines totales (ΣCN) et le ratio Matière Grasse/ Matière Protéique (MG/MP), deux paramètres cruciaux pour la coagulation et le rendement fromager. Ces données ouvrent la voie à l'élaboration de stratégies de valorisation régionales, ciblant des améliorations génétiques (sélection des aptitudes fromagères) ou des ajustements de la conduite d'élevage (alimentation, traite) pour optimiser le rendement et la qualité organoleptique des produits finis, ancrant ainsi la performance fromagère dans un territoire.

II.2. Qualité microbiologiques des laits

II.2.1. Analyse comparative de la charge bactérienne totale et de la flore lactique dans les différentes régions d'étude

Les résultats des dénombrements bactériens révèlent une variation notable de la charge microbienne totale ainsi que de la composition de la flore lactique entre les quatre régions étudiées Mazouna, Djidouia, Oued Rhiou et Zemmora (**Tableau 20**).

Tableau 20. Incidence moyenne des bactéries lactiques isolées des laits durant les 03 périodes de lactation

Type d'analyse	Haute lactation	Moyenne Lactation	Basse lactation	Moyenne obtenue
1/Région de Djidouia				
Flore totale UFC/ml	$1.7 \cdot 10^6$	$1.3 \cdot 10^6$	$1.05 \cdot 10^6$	$1.35 \cdot 10^6$
Flore lactique sur MRS UFC/ml à pH 5.6	$3.2 \cdot 10^3$	$2.7 \cdot 10^3$	$1.4 \cdot 10^3$	$2.43 \cdot 10^3$
Flore lactique sur M17 UFC/ml à pH 6.6	$5.8 \cdot 10^3$	$4.1 \cdot 10^3$	$3.8 \cdot 10^3$	$4.57 \cdot 10^3$

Étude expérimentale

2/ Région de Mazouna Flore totale UFC/ml Flore lactique sur MRS UFC/ml à pH 5.6 Flore lactique sur M17 UFC/ml à pH 6.6	2.6 10 ⁶ 4.3 10 ³ 7.2 10 ³	1.7 10 ⁶ 3.1 10 ³ 5.8 10 ³	1.4 10 ⁶ 2.6 10 ³ 4.5 10 ³	1.90 10⁶ 3.33 10³ 5.83 10³
3 / Région de Oued Rhiau Flore totale UFC/ml Flore lactique sur MRS UFC/ml à pH 5.6 Flore lactique sur M17 UFC/ml à pH 6.6	1.64 10 ⁶ 2.8 10 ³ 4.3 10 ³	1.27 10 ⁶ 1.48 10 ³ 3.26 10 ³	1.08 10 ⁶ 1.12 10 ³ 2.12 10 ³	1.32 10⁶ 1.80 10³ 3.23 10³
4 / Région de Zemmora Flore totale UFC/ml Flore lactique sur MRS UFC/ml à pH 5.6 Flore lactique sur M17 UFC/ml à pH 6.6	1.58 10 ⁶ 2.65 10 ³ 4.8 10 ³	1.29 10 ⁶ 1.37 10 ³ 3.12 10 ³	0.85 10 ⁶ 0.74 10 ³ 2.05 10 ³	1.24 10⁶ 1.59 10³ 3.32 10³
5/ Espèces apparentées Lactocoques Leuconostocs Lactobacilles	67.20% 15.95% 20.10%	66.13% 15.58% 19.29%	62.60% 14.37% 18.78%	65.31% 15.30% 19.39%
Isolats	38	33	27	

Concernant la flore bactérienne totale, les concentrations moyennes les plus élevées ont été observées dans la région de Mazouna, atteignant environ 1.90×10^6 UFC.ml⁻¹. Les autres régions présentent des niveaux comparables, mais légèrement inférieurs :

1.35×10^6 UFC.ml⁻¹ pour Djidiouia, 1.32×10^6 UFC.ml⁻¹ pour Oued Rhiau, et 1.24×10^6 UFC.ml⁻¹ pour Zemmora.

Ces niveaux de population atteints sont globalement comparables à ceux rapportés dans des études antérieures sur des laits similaires collectés dans l'Ouest de l'Algérie, notamment ceux décrits par **Aguad et al. (2009)** ; **Dahou et al. (2015)** ; **Medjahed et al. (2021)**.

La variabilité observée dans ces niveaux de contamination pourrait être multifactorielle. Elle semble intrinsèquement liée à la qualité de l'échantillonnage, mais dépend surtout de facteurs zootechniques (race animale), ainsi que des pratiques d'hygiène lors de la traite et de la gestion globale de l'exploitation d'élevage.

S'agissant spécifiquement de la flore lactique (FL), les dénombrements effectués sur les trois périodes de lactation ont montré une excellente répétabilité des mesures. La densité de la FL (acidifiante et protéolytique) présente également des variations régionales (**Figures 21, 22 et 23**). Pour toutes les régions, les comptages sur milieu M17 (spécifique aux *Lactococcus* et

Leuconostocs) sont systématiquement supérieurs à ceux obtenus sur milieu MRS (dénombrement des lactobacilles et autres genres).

Bien que d'autres colonies aient été détectées sur le milieu M17, l'identification a révélé la présence d'entérocoques, présumément *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Conformément aux protocoles rigoureux de sélection des flores lactiques d'intérêt technologique et à la lumière de leur pouvoir pathogène avéré rapporté dans de nombreuses publications scientifiques, notamment de **Fisher et Phillips, (2009)** ; **Aguilar-Galvez et al. (2012)**, ces isolats ont été délibérément exclus de notre panel d'étude. Notre démarche visait à garantir la sécurité et la pertinence de la sélection des souches candidates pour des applications potentielles.

La diversité microbienne des échantillons de lait étudiés montre que la flore totale pour la production fromagère est dominée par la région de Mazouna avec 35 %, suivie par la région de Djidiouia avec 26 %, la région d'Oued Rhiou avec 20 % et enfin la région de Zemmora avec 19 %. Pour les bactéries lactiques acidifiantes (BAL), la répartition régionale est similaire, la région de Mazouna restant dominante avec 40 %, suivie par la région de Djidiouia avec 26 %, la région d'Oued Rhiou avec 20 % et enfin la région de Zemmora avec 14 %. Pour la flore lactique protéolytique, la répartition régionale est identique, la région de Mazouna dominant avec 32 %, suivie de la région de Djidiouia avec 28 %, de la région d'Oued Rhiou avec 23 % et enfin de la région de Zemmora avec 17 %.

Cette domination prononcée dans les régions de Mazouna et de Djidiouia est multifactorielle. Elle est en partie attribuée aux pratiques alimentaires traditionnelles qui prévalent dans ces régions, qui impliquent un pâturage extensif dans les prairies et les bosquets voisins. Plusieurs études fondatrices, notamment celles de **Montel et al. (2012)** ; **Labrie (2015)**, ont établi un lien robuste entre les systèmes de pâturage et l'augmentation de la diversité bactérienne dans le sol et les environnements fourragers. Comparativement aux systèmes d'alimentation en intérieur, plus intensifs et aseptisés, le pâturage agit comme un véritable "inoculum naturel", enrichissant potentiellement le microbiote du lait avec un éventail plus large de bactéries environnementales. Le transfert de ces communautés bactériennes diverses du fourrage brouté, du sol adhérent et de l'environnement de la ferme (air, surfaces, mamelles) vers la citerne à lait n'est pas seulement une conséquence directe de la méthode de production ; c'est un processus bioprédicatif de la qualité et de la complexité intrinsèques du produit final. Ce lait cru, riche d'une biodiversité microbienne façonnée par son écosystème d'origine, offre un

potentiel inexploité pour la transformation fromagère (favorisant des profils sensoriels uniques et une meilleure sécurité sanitaire par effet d'exclusion compétitive) et, potentiellement, pour la santé humaine via l'exposition à des bactéries commensales ou symbiotiques.

De plus, l'environnement montagneux de ces régions joue un rôle essentiel, agissant potentiellement comme un filtre biogéographique qui favorise la présence de niches et de communautés microbiennes uniques, moins répandues dans les régions plus plates comme Oued Rhiou et Zemmora. Le microclimat et la composition du sol spécifique des pâturages montagneux peuvent influencer les types d'espèces végétales disponibles pour le pâturage, ce qui a à son tour une incidence sur les communautés microbiennes (y compris certaines espèces spécifiques de *Lactobacillus* qui ont été isolées dans des environnements similaires) qui colonisent les animaux et leur lait.

Le nombre plus élevé de groupes fonctionnels spécifiques, en particulier les LAB protéolytiques et acidifiants à Mazouna et Djidiouia, suggère non seulement une contamination initiale plus élevée (au sens non hygiénique, mais en tant que source autochtone de cultures starter), mais aussi la présence de souches ayant de fortes activités métaboliques adaptées à l'environnement inhérent et aux processus traditionnels de fabrication du fromage. La présence importante de cette flore fonctionnelle (**Figure 24**) indique une source potentiellement plus riche de cultures starter indigènes pour la production artisanale de fromage, contribuant aux profils organoleptiques et texturaux distinctifs des produits laitiers de la région. Les niveaux plus faibles observés à Oued Rhiou et Zemmora pourraient suggérer une dynamique microbienne locale différente ou éventuellement des variations dans les pratiques locales ou les conditions environnementales (par exemple, le pH du sol, la disponibilité des nutriments ou la composition de la communauté végétale) qui favorisent différentes populations microbiennes.

Enfin, la surveillance continue des animaux et les conditions généralement bonnes de traite et de santé animale dans toutes les régions contribuent à la gestion de la flore pathogène potentielle, garantissant que la flore dominante, bien que diversifiée, est principalement constituée de microbiotes utiles et technologiquement pertinents qui favorisent les caractéristiques de fermentation souhaitées pour une production de fromage sûre et de haute qualité.

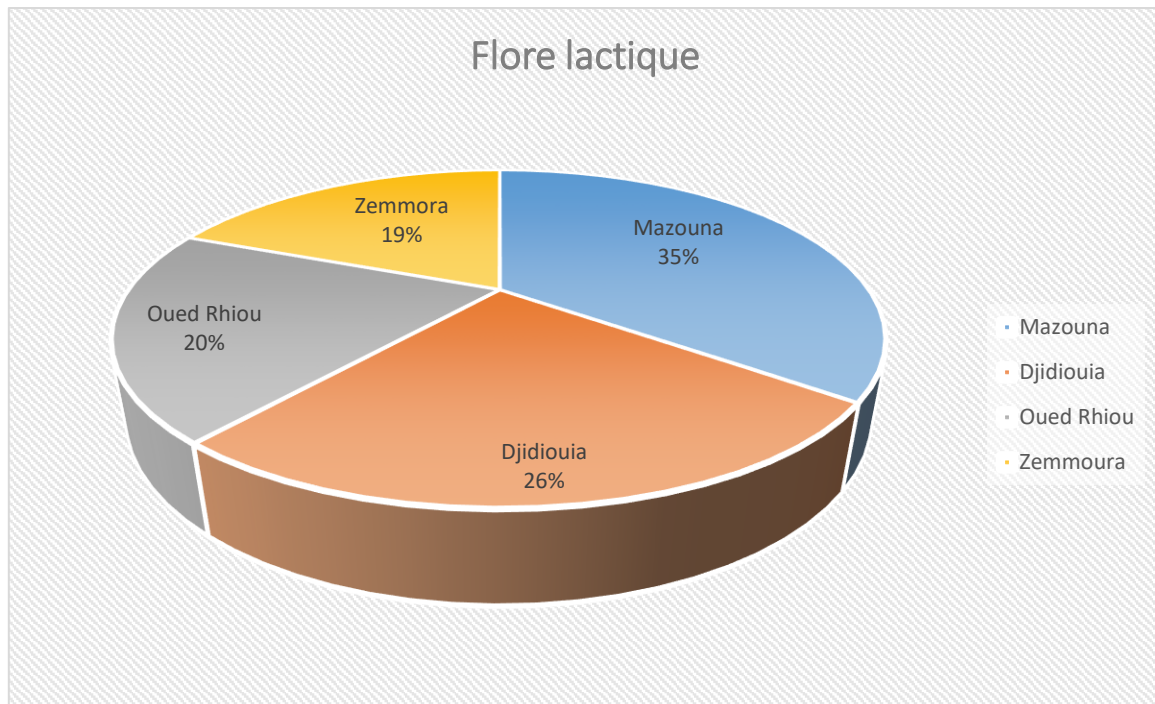


Figure 21. Répartition de la flore lactique par région

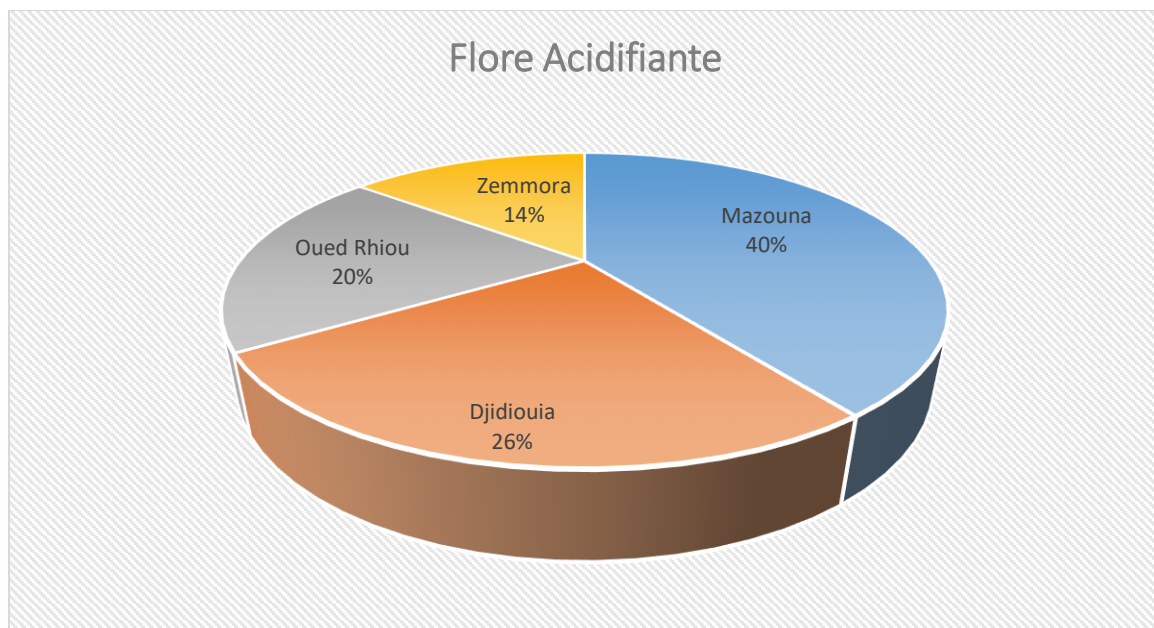


Figure 22. Répartition de la flore acidifiante (*Lactococcus* et *Leuconstocs*) par région

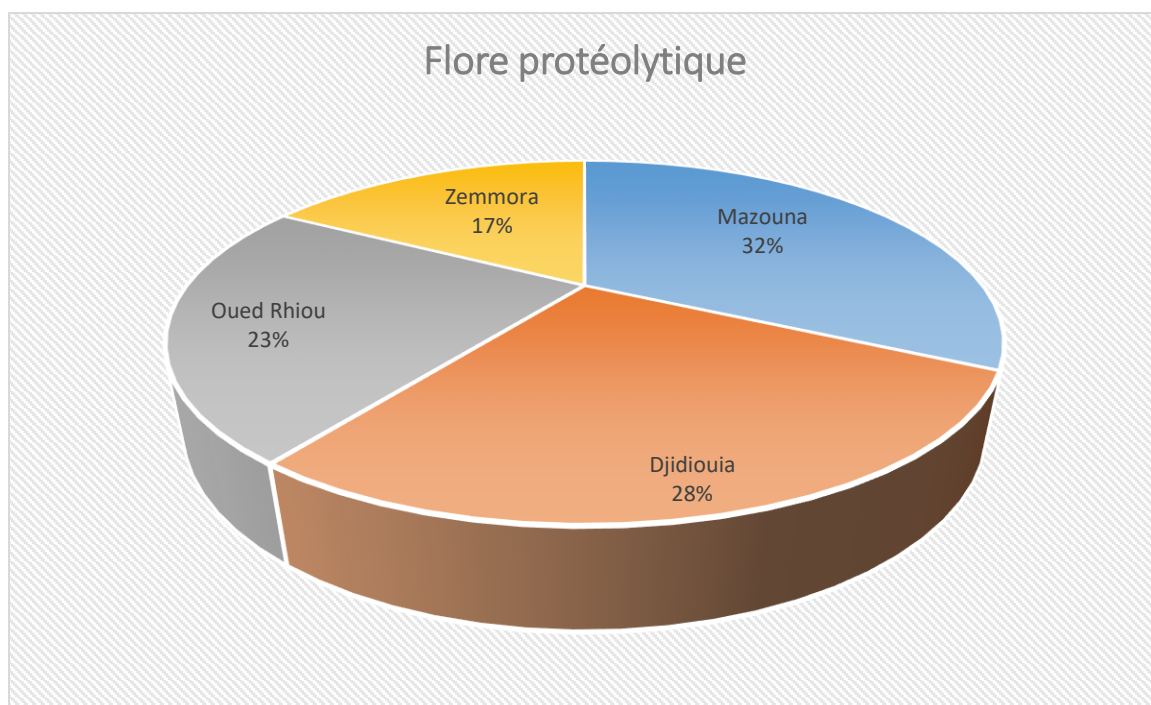
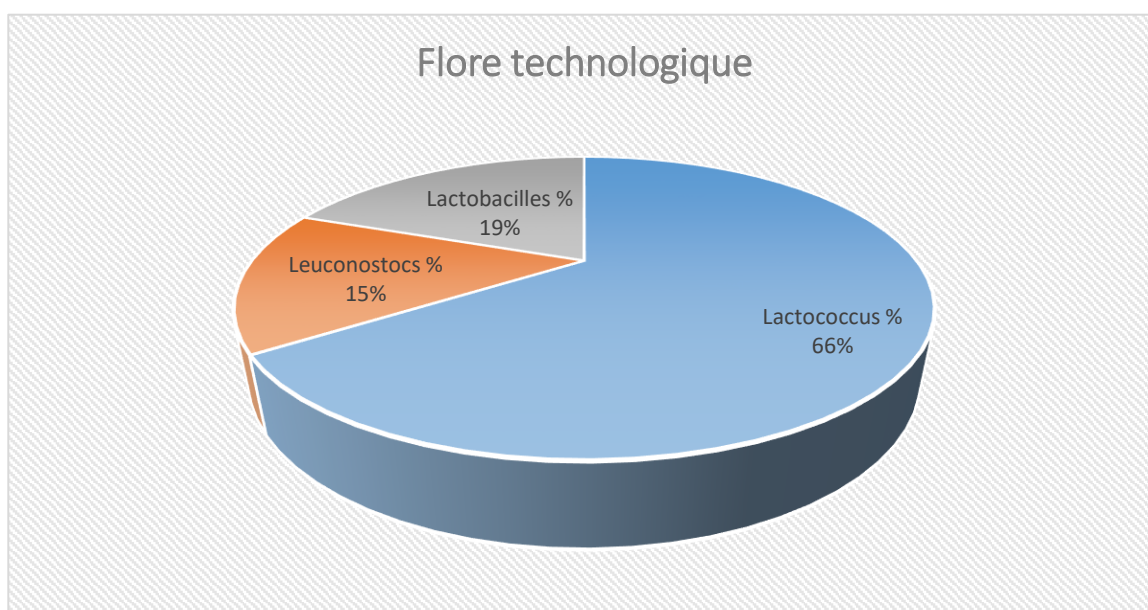


Figure 23. Répartition de la flore protéolytique (*Lactobacillus*) par région

L'analyse des résultats révèle une microflore lactique diversifiée (98 souches identifiées) caractérisée principalement par une population acidifiante, dominée notamment par *Lactococcus* (65.31 %, 64 souches) et *Leuconostoc* (15.30 %, 15 souches). Une flore technologique distincte présentant une activité protéolytique, principalement *Lactobacillus* (19.39 %, 19 souches), est également présente.

Sur le plan géographique, la région de Mazouna présente la plus grande diversité microbienne, représentant 55 % de la microflore lactique (54 souches, dont 18 protéolytiques), suivie par la



région de Djidiouia (18 %, 18 souches, 7 protéolytiques), Oued Rhiau (14 %, 14 souches, dont 5 protéolytiques) et Zemmora (13 %, 12 souches, dont 3 protéolytiques). La répartition de la flore technologique protéolytique montre spécifiquement un schéma similaire de dominance à Mazouna (32 %), suivie par Oued Rhiau (26 %), Zemmora (22 %) et Djidiouia (20 %). Cette variation spatiale observée dans la diversité microbienne, bien que tous les échantillons proviennent des mêmes races, Montbéliarde et Prim'Holstein, souligne l'impact profond des facteurs environnementaux et des pratiques de gestion. La grande diversité observée dans les zones de pâturage montagneuses de Mazouna et les prairies d'Oued Rhiau est probablement liée à des régimes alimentaires variés et à un pâturage extensif, qui facilitent une plus grande exposition à une flore microbienne environnementale diversifiée. À l'inverse, la diversité réduite dans les régions de Djidiouia et Zemmora, caractérisées par un élevage semi-attaché et une alimentation à base de concentrés, suggère que les régimes alimentaires standardisés et contrôlés et les environnements confinés limitent la gamme de microbes entrant dans le système. Cela confirme directement l'hypothèse selon laquelle les systèmes de pâturage, la composition et le potentiel fonctionnel de la microflore lactique sont primordialement dictés par les conditions environnementales locales (diversité végétale, pratiques d'élevage) plutôt que par la race de l'hôte, une observation corroborée par plusieurs études. Ces facteurs écologiques surpassent l'influence génétique de l'animal, façonnant un microbiote unique lié à l'écosystème spécifique (Lamontagne et al., 2010 ; Peyraud, 2019).

Figure 24. Répartition de la flore technologique identifiée dans l'étude régionale

L'analyse de la flore lactique des laits des quatre régions montre une dominance de la flore d'acidification, mais avec une différence significative entre la diversité de Mazouna et celle des autres régions, qui est plus faible en raison de l'alimentation. Un test de chi-deux serait nécessaire pour évaluer la significativité des différences observées entre les régions, en comparant les distributions de leurs flores acidifiantes et protéolytiques. La comparaison avec les standards de la **F.I.L., 2018** (55-60% d'acidifiantes contre 40-45% de protéolytiques) est nécessaire pour évaluer la qualité fromagère de ces laits.

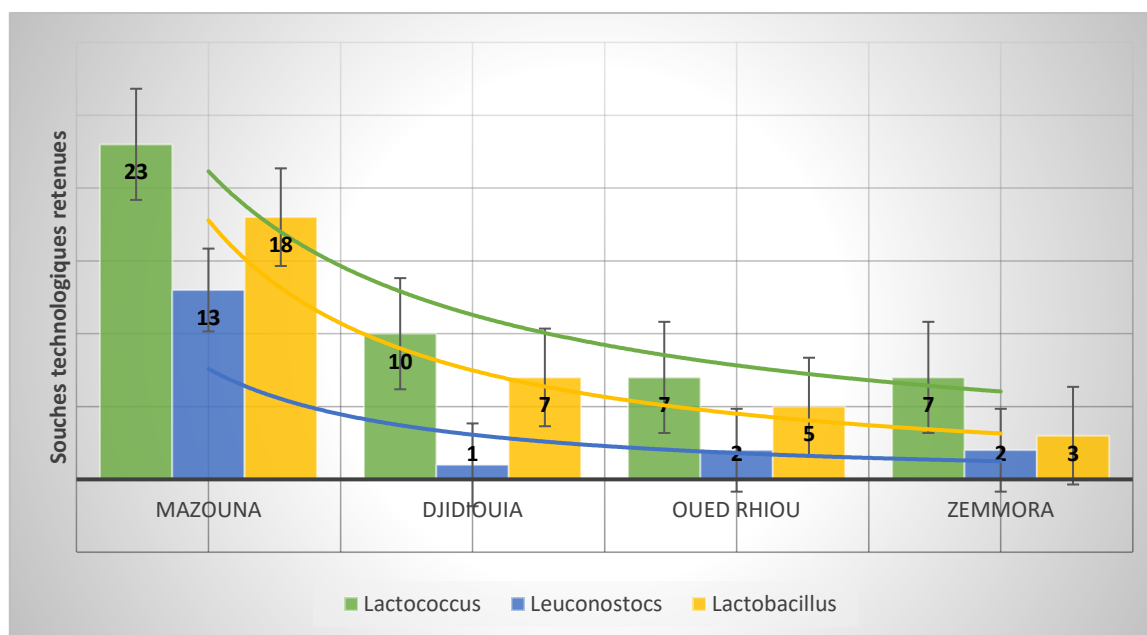


Figure 25. Distribution des souches lactiques retenues par région

L'analyse de la diversité microbienne au sein de l'écosystème laitier (**Figure 25**), durant les périodes de basse, moyenne et haute lactation, révèle une variation significative de la dominance des espèces bactériennes selon les différentes zones géographiques d'étude. Sur un total de 98 isolats bactériens collectés, trois espèces principales ont été identifiées, tant par des méthodes phénotypiques que génotypiques, comme étant les plus répandues et dominantes dans les quatre régions étudiées (**Tableau 24**). Ces espèces appartiennent majoritairement, par ordre d'importance, aux genres *Lactococcus*, *Lactobacillus*, et *Leuconostoc*.

Ces observations sont cohérentes avec des études antérieures, notamment celles menées par **Montel et al. (2012)** ; **De Filippis et al. (2024)** ; **Ghezal et al. (2025)**, qui ont également mis en évidence la composition complexe des flores microbiennes indigènes des laits crus et leur rôle crucial dans les processus fromagers. La présence et la prédominance de ces bactéries lactiques (BAL) spécifiques sont d'une importance capitale, car, comme le soulignent plusieurs auteurs, l'objectif fondamental de la caractérisation de l'écosystème laitier est de pouvoir orienter et maîtriser le comportement de cette flore microbienne pour la fabrication de fromages aux qualités organoleptiques typiques et contrôlées. La connaissance précise de ce microbiote indigène constitue un levier essentiel pour le développement de levains autochtones et la préservation du caractère unique des produits laitiers régionaux.

II.2.2. Amélioration de la diversité microbienne pour la valorisation technologique

Les suggestions stratégiques pour l'amélioration de la fromageabilité laitière basées sur les données de l'étude et du **tableau 21**. Afin de contrer la dominance de la flore d'acidification (65.31 %) et d'enrichir la diversité microbienne essentielle à la production d'arômes et de textures variés, plusieurs stratégies d'amélioration sont préconisées :

II.2.2.1. Restauration et extension des pâturages

Il est crucial d'augmenter la surface des pâturages et de restaurer les écosystèmes pastoraux locaux (similaires à ceux de Mazouna et Oued Rhiou). Cette approche favorise une alimentation naturelle riche, stimulant directement la diversité de la microflore lactique du lait.

Souvent négligée par l'agriculture moderne, exode rurale, méthode ancestrale consistant à déplacer saisonnièrement le bétail vers des pâturages d'altitude ou des bosquets, est une pratique durable et redécouverte par plusieurs auteurs pour ses bénéfices (**Lamontagne et al., 2010 ; Peyraud, 2019 ; Silva et al., 2023; Bicer et al., 2025**). Ce mouvement synchronisé avec la nature permet aux troupeaux d'exploiter une flore indigène unique et évolutive (herbes, fleurs, graminées), riche en composés bioactifs. Cette alimentation diversifiée se reflète directement dans la complexité aromatique et la signature microbienne des produits laitiers, conférant une qualité et une typicité exceptionnelles, bien supérieures à celles obtenues par des méthodes conventionnelles.

II.2.2.2. Rééquilibrage alimentaire

Une réduction significative de l'utilisation des concentrés (associée aux sites de stabulation comme Djidiouia et Zemmora) est recommandée. La diversification de la ration alimentaire vise spécifiquement à favoriser le développement de la flore protéolytique, essentielle pour une maturation optimale et l'amélioration des qualités organoleptiques du fromage.

II.2.2.3. Gestion adaptée et suivi rigoureux

L'adaptation des pratiques d'élevage aux ressources fourragères spécifiques de chaque région (afin d'exploiter les avantages de Mazouna) doit être systématisée. Une évaluation continue et ciblée de la microflore laitière permettra d'ajuster les mesures en temps réel et de garantir une amélioration durable de la qualité fromagère.

Tableau 21. Comparaison des données sur la diversité microbienne

Région	Pourcentage de diversité microflore lactique	Flore acidifiante dominante (souches)	Flore protéolytique dominante (souches)
Mazouna	55% (54 isolats)	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostocs</i>	<i>Lactobacillus</i> (18)
Djidiouia	18% (18 isolats)	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostocs</i>	<i>Lactobacillus</i> (7)
Oued Rhiau	14% (14 isolats)	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostocs</i>	<i>Lactobacillus</i> (5)
Zemmora	13% (12 isolats)	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostocs</i>	<i>Lactobacillus</i> (3)

II.2.3. Etude statistique de la diversité bactérienne

Pour comparer la diversité bactérienne des laits des quatre régions, le test du chi-deux d'homogénéité a été l'outil statistique approprié. Ce test a permis de déterminer si la répartition des différentes flores bactériennes (acidifiantes et protéolytiques) est significativement différente d'une région à l'autre. Le processus a impliqué plusieurs étapes, des calculs aux interprétations, ainsi qu'une discussion des implications.

Application du test du chi-deux

Le test du chi-deux (ou χ^2) a permis d'évaluer si les fréquences observées dans les différentes régions sont homogènes et correspondent aux fréquences théoriques attendues.

a) Hypothèses statistiques formulées

- **Hypothèse Nulle (H_0)** : Il n'y a pas de différence significative dans la répartition des flores bactériennes (acidifiantes et protéolytiques) entre les quatre régions étudiées. La diversité bactérienne est homogène d'une région à l'autre.

- **Hypothèse Alternative (H_1)** : Il existe une différence significative dans la répartition des flores bactériennes entre les régions. La diversité bactérienne n'est pas homogène.

b) Tableau des effectifs

Pour effectuer le test, il fallait construire un tableau de contingence avec les effectifs observés. Pour le test statistique du χ^2 , il est nécessaire de travailler avec les effectifs (nombre de souches).

Tableau 22. Effectifs observés des souches bactériennes par région

Région	Souches lactiques (%FL)	Souches protéolytiques (FL Prot.)	Souches acidifiantes (FL Acid.)	Total de souches
Mazouna	55 %	18	36	54
Djidiouia	18 %	7	11	18
Oued Rhiau	14 %	5	9	14
Zemmora	13 %	3	9	12
Total	100 %	33	65	98

Note sur le calcul : La flore acidifiante (FL Acid.) est calculée en soustrayant le nombre de souches protéolytiques du nombre total de souches lactiques par région (**Tableau 22**).

c) Fréquences attendues (théoriques)

D'après la Fédération Internationale du Lait (**FIL, 2018**), les fréquences attendues pour une transformation fromagère de qualité sont de 55-60 % pour la flore acidifiante et 40-45 % pour la flore protéolytique. Pour un test de conformité, il faudrait prendre des pourcentages moyens obtenus, 57.5 % et 42.5 %, et les comparer aux fréquences observées de chaque région.

Les étapes de calcul sont détaillées, et les valeurs sont présentées dans le tableau 23 :

Fréquence attendue FL Acid. (57.5 %) pour chaque région

$$\text{Mazouna FA FL Acid} = 54 \times 0.575 = 31.05$$

$$\text{Djidiouia FA FL Acid} = 18 \times 0.575 = 10.35$$

$$\text{Oued Rhiau FA FL Acid} = 14 \times 0.575 = 8.05$$

$$\text{Zemmora FA FL Acid} = 12 \times 0.575 = 6.9$$

Fréquence attendue FL Prot. (42.5 %) pour chaque région

$$\text{Mazouna FA FL Prot} = 54 \times 0.425 = 22.95$$

$$\text{Djidiouia FA FL Prot} = 18 \times 0.425 = 7.65$$

$$\text{Oued Rhiau FA FL Prot} = 14 \times 0.425 = 5.95$$

$$\text{Zemmora FA FL Prot} = 12 \times 0,425 = 5,1$$

Tableau 23. Effectifs attendus des souches technologiques (acidifiantes vs protéolytiques) par région

Région	FA FL Acid. (57,5 %)	FA FL Prot. (42,5 %)	Total S.T	χ^2 Calculé	χ^2 Critique	Ddl
Mazouna	31,05	22,95	54	1,858		
Djidiouia	10,35	7,65	18	0,096		
Oued Rhiau	8,05	5,95	14	0,262		
Zemmora	6,9	5,1	12	1,504		
			Total	3,72	7,815	3

FA : Fréquence attendue, FL Acid. : Flore acidifiante, FL Prot. : Flore protéolytique, S.T : souches technologiques. Valeur critique : Pour un seuil de signification de 0,05 et 3 degrés de liberté, la valeur critique du χ^2 est 7,815.

d) Calcul de la statistique du chi-deux

La formule du χ^2 est : $\chi^2 = \text{Somme } (O-E)^2 / E$,

où O est l'effectif observé et E est l'effectif attendu. Pour chaque région, on compare le nombre de souches protéolytiques observé au nombre attendu, et de même pour les souches acidifiantes.

$$\chi^2_{\text{Mazouna}} = (36-31.05)^2 / 31.05 + (18-22.95)^2 / 22.95 = 0.789 + 1.069 \approx 1.858$$

$$\chi^2_{\text{Djidiouia}} = (11-10.35)^2 / 10.35 + (7-7.65)^2 / 7.65 = 0.041 + 0.055 \approx 0.096$$

$$\chi^2_{\text{Oued Rhiau}} = (9-8.05)^2 / 8.05 + (5-5.95)^2 / 5.95 = 0.113 + 0.149 \approx 0.262$$

$$\chi^2_{\text{Zemmora}} = (9-6.9)^2 / 6.9 + (3-5.1)^2 / 5.1 = 0.639 + 0.865 \approx 1.504$$

La statistique du chi-deux globale est la somme des valeurs par région :
 $\chi^2_{\text{total}} = 1.858 + 0.096 + 0.262 + 1.504 = 3.72$

e) Interprétation statistique

Degrés de liberté (ddl) :

(Nombre de régions-1) x (nombre de types de souches-1) = (4-1) x (2-1) =3

Valeur critique : Pour un seuil de signification de 0,05 et 3 degrés de liberté, la valeur critique du χ^2 est 7.815.

Conclusion : La valeur calculée (3.72) est inférieure à la valeur critique (7.815). Par conséquent, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle (H_0). Cela signifie qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative dans la répartition des flores technologiques (acidifiantes vs protéolytiques) entre les quatre régions au seuil de 5 %.

Les résultats de l'étude démontrent que les pratiques d'élevage et l'alimentation du bétail influencent directement la diversité et les potentialités technologiques de la microflore lactique, avec une supériorité notable pour les systèmes pastoraux. La richesse microbienne observée dans le lait de Mazouna et Oued Rhiou, issue du pâturage, contraste avec l'homogénéité des échantillons de Djidiouia et Zemmora (stabulation), soulignant l'importance de l'environnement extérieur comme source de biodiversité microbienne. Bien que la proportion de souches protéolytiques s'écarte des standards industriels, la diversité et le nombre absolu élevé de ces souches, notamment à Mazouna, suggèrent un potentiel fromager artisanal supérieur, les lactobacilles protéolytiques jouant un rôle clé dans la maturation des produits fermentés. Ces observations confirment que les caractéristiques intrinsèques du lait, au-delà des mesures quantitatives globales, sont déterminées par l'écosystème d'élevage, offrant des perspectives précieuses pour la valorisation des produits laitiers de terroir.

f) Les arguments et suggestions pour l'amélioration de cette diversité bactérienne

L'amélioration de la diversité bactérienne du lait passe par une stratégie intégrée : diversifier les apports alimentaires (compléments fourragers, pâturages variés) et optimiser l'environnement d'élevage (hygiène et accès à l'extérieur) enrichissent le microbiote des vaches; la recherche et l'utilisation de souches locales (ex: lactobacilles de Mazouna) comme ferments affinent le goût ; enfin, une sensibilisation et une collaboration entre éleveurs diffusent les bonnes pratiques, transformant les défis d'élevage en opportunités de valorisation fromagère locale, un processus scientifique qui soutient la biodiversité microbienne du lait et de ses produits dérivés.

II.2.4. Caractérisation phénotypiques des souches d'intérêt technologique

Au total, 98 isolats ont été obtenus à partir des échantillons de lait analysés. Parmi ceux-ci, 35 souches ont été purifiées et identifiées au cours des trois périodes de lactation. Ces souches se répartissent principalement entre les genres *Lactobacillus* (30 isolats) et *Lactococcus–Leuconostoc* (05 isolats).

II.2.4.1. Critères morphologiques

L'analyse macroscopique des cultures a révélé des petites colonies, de coloration blanchâtre, présentant une surface lisse, bombées et des marges nettement définies (**Figure 26**).

L'examen microscopique, réalisé après coloration de Gram, a mis en évidence des cellules bactériennes à morphologie bacillaire et coccoïde, caractéristiques des bactéries lactiques (**Figure 27**). La purification des isolats a été assurée par des repiquages successifs en stries sur milieux sélectifs et différentiels MRS et M17, conduisant à l'obtention de cultures pures, génétiquement et phénotypiquement homogènes, aptes aux analyses ultérieures.

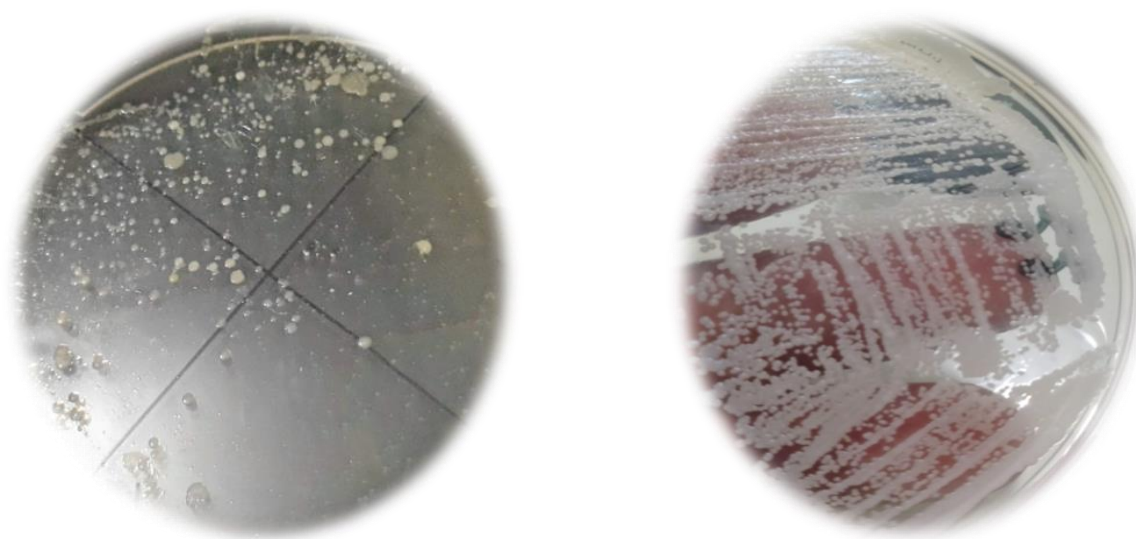


Figure 26. Aspect macroscopique avant et après purification

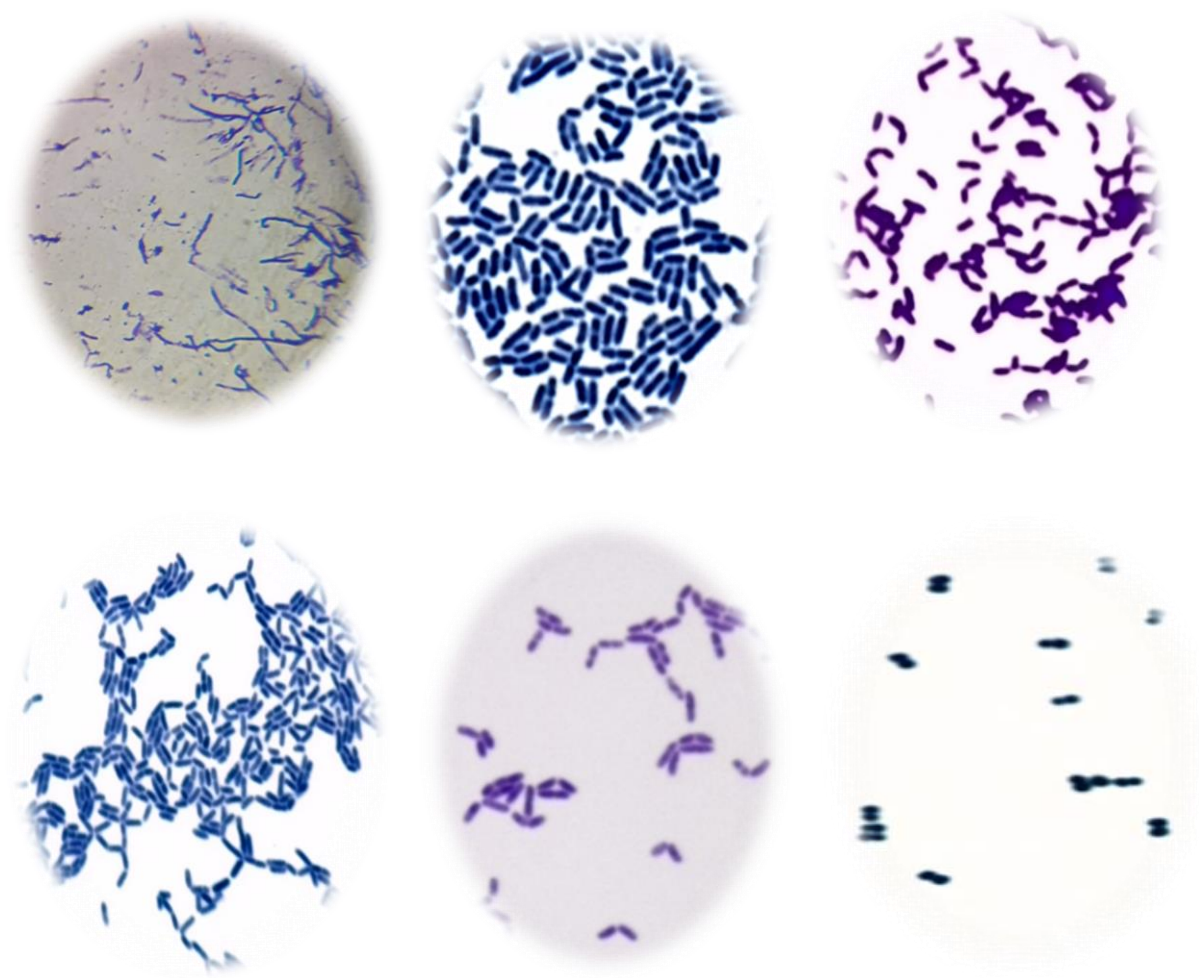


Figure 27. Aspect microscopique avant, après purification et coloration des Gram

II.2.4.2. Approche phénotypique (tests physiologiques et biochimiques)

L'isolement sur milieu MRS et M17 nous a permis d'isoler 98 isolats et de mettre en évidence 35 isolats qui ont été rattachés à 3 groupes de bactéries lactiques *Lactobacillus* et *Lactococcus–Leuconostoc*. Les résultats trouvés sont illustrés dans le **tableau 28** et la **Figure 28, 29 ,30 et 31**.

II.2.4.2.1. Flore protéolytique (Genre *Lactobacillus*)

Sur l'ensemble des vingt-cinq isolats analysés, appartenant au genre *Lactobacillus* ont été identifiés à l'aide de la galerie APL 50 CHL. L'étude des paramètres physiologiques et métaboliques a mis en évidence une diversité fonctionnelle importante parmi les isolats de bactéries lactiques analysés, traduisant leur adaptation à des niches écologiques et technologiques variées. Cette diversité concerne notamment les capacités de croissance en fonction de la température, la tolérance aux contraintes environnementales et le type de

métabolisme fermentaire. Les isolats I01, I 02, I 04, I 30, A05, A12, A56, A63, A66, A70 et R01 se distinguent par leur capacité à se croître à 15 °C, 30°C, 37°C et 42°C après 24 h d'incubation dans un bouillon MRS, ainsi que par leur tolérance aux concentrations de 4% et 6,5% de NaCl et ont également poussé dans un milieu alcalin (pH 9) et acide (pH 4,5) et le test de réduction du bleu de méthylène à 0,1 % a donné un résultat positif pour tous les isolats, et toutes les souches de ce groupe présentent un métabolisme hétérofermentaire sauf I01 et A70 qui présente un profil homofermentaire.

Les profils API 50 CHL de ces isolats montrent une fermentation étendue des hexoses et de plusieurs disaccharides, compatible avec les espèces du groupe *Lactobacillus plantarum* / *Lactobacillus pentosus*, Les profils fermentaires obtenus ont permis de regrouper les isolats I02, I04, I30, A05, A12, A56, A63, A66 et R01 au sein d'une même espèce, identifiée comme *Lactobacillus plantarum* qui présente une forte similarité phénotypique (100%). Les isolats I01 et A70 ont été rattachés à l'espèce *Lactobacillus pentosus* qui présente 95,2 % de similarité phénotypique comme indiquée dans **la figure 31**.

Ces espèces sont connues pour leur aptitude à s'adapter aux différents stress (acidité, salinité, variations de température) habituellement rencontrés lors des procédés technologiques de fabrication et d'affinage des fromages.

Par ailleurs, Les isolats I28 et A34 présentent un profil physiologique comparable à celui du groupe précédent. Toutefois, aucune croissance n'a été observée chez ces isolats en présence de chlorure de sodium à 6 % ni en milieu alcalin pH 9, indiquant une sensibilité accrue aux contraintes salines élevées et aux pH alcalins.

Les profils API 50 CHL révèlent un spectre fermentaire plus restreint, suggérant une affiliation probable à des lactobacilles mésophiles facultativement homofermentaires, tels que *Lactobacillus rhamnosus* ou *Lactobacillus casei*, espèces connues pour leur moindre tolérance aux stress extrêmes comparativement au groupe 01.

Les profils fermentaires obtenus ont permis d'orienter l'identification des isolats I28 et A34 vers une même espèce, présentant une forte similarité phénotypique (100 %) avec *Lactobacillus rhamnosus*.

Dans ce contexte, un troisième groupe appartenant à la flore protéolytique a été identifié. Il regroupe les isolats I06, I07, A17, A23 et M21, qui se distinguent par leur aptitude à se développer à 15 °C, 30 °C et 37 °C après 24 heures d'incubation en bouillon MRS, tandis

qu'aucune croissance n'a été observée à 42 °C. Ce profil thermique traduit un comportement mésophile, compatible avec les conditions rencontrées lors des premières étapes de la fabrication fromagère.

Ces isolats présentent également une bonne tolérance aux concentrations salines de 4 % et 6,5 % de NaCl, ainsi qu'une capacité de croissance en milieu acide (pH 4,5). En revanche, aucun développement n'a été enregistré en milieu alcalin (pH 9), indiquant une préférence marquée pour des conditions acides. Sur le plan métabolique, l'ensemble des souches de ce groupe est caractérisé par un métabolisme hétérofermentaire, attesté par la production de gaz. Par ailleurs, aucun des isolats n'a montré de thermorésistance lors des tests réalisés.

Les profils API 50 CHL des isolats I06, I07, A17, A23 et M21 révèlent une fermentation des pentoses associée à un métabolisme strictement hétérofermentaire, orientant leur identification vers *Lactobacillus brevis*, avec une similarité phénotypique élevée (99 %).

L'ensemble de ces caractéristiques physiologiques et métaboliques confère à ce second groupe de la flore protéolytique un intérêt technologique particulier. Leur aptitude à se développer à des températures modérées, combinée à leur tolérance au sel et à leur activité fermentaire hétérofermentaire. Cette espèce autochtone est couramment associée à la flore d'affinage notamment au cours des phases précoces de maturation et joue un rôle déterminant dans les transformations biochimiques responsables de l'élaboration des composés aromatiques et de la structuration de la matrice fromagère comme montré par **Sionek et al. (2024)**.

À la suite de l'identification des isolats présentant un métabolisme hétérofermentaire et une production de dioxyde de carbone, un quatrième groupe d'isolats a été mis en évidence. Les isolats I29, A03, A43, A54, A64, R07 et M36 se caractérisent par une aptitude de croissance préférentielle à 42 °C, indiquant un comportement thermophile marqué. Cette croissance s'accompagne toutefois d'une sensibilité prononcée aux conditions de stress, en particulier aux concentrations élevées en chlorure de sodium (4 % et 6,5 %) ainsi qu'aux milieux alcalins.

Sur le plan métabolique, ces isolats se distinguent par l'absence de production de dioxyde de carbone (CO₂), attestant d'un métabolisme homofermentaire. Ce profil est conforme à leur nature thermophile et à leurs exigences physiologiques spécifiques, généralement associées à des fermentations lactiques orientées vers une production rapide et majoritaire d'acide lactique.

Le test d'hydrolyse de l'esculine s'est révélé négatif pour l'ensemble des isolats de ce groupe, à l'exception des profils généralement rapportés pour *Lactobacillus acidophilus*, espèce pour laquelle ce test est fréquemment positif. L'absence d'hydrolyse de l'esculine observée chez les isolats étudiés suggère ainsi une affiliation plus probable à d'autres lactobacilles thermophiles homofermentaires, tels que *Lactobacillus delbrueckii*, plutôt qu'à *L. acidophilus*, ces espèces classiquement utilisées comme ferments d'acidification rapide dans les procédés fromagers.

Les profils fermentaires ont permis d'orienter l'identification des isolats I29, A03, A54, A64 et R07 vers l'espèce *Lactobacillus acidophilus*, avec une similarité phénotypique de 80 %, tandis que les isolats A43 et M36 ont présenté des profils compatibles avec *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, affichant une similarité phénotypique de 95 %.



Figure 28. Résultats phénotypiques des bactéries lactiques

II.2.4.2.2. Flore acidifiantes (Genre *Lactococcus*, *Leuconostoc*)

Les isolats (A16, A19, A22 et R50), étudiés se caractérisent par leur capacité à se développer à 15 °C, 30 °C et 37 °C après 24 heures d'incubation en bouillon MRS, tandis qu'aucune croissance n'a été observée à 42 °C, traduisant un comportement mésophile. En ce qui concerne la tolérance au chlorure de sodium, une croissance à 4 % de NaCl a été enregistrée uniquement pour les isolats (A16 et R50), alors qu'aucun développement n'a été observé à 6,5 % de NaCl pour l'ensemble des isolats. Par ailleurs, les isolats (A19 et A22) n'ont présenté aucune croissance ni à 4 % ni à 6,5 % de NaCl, indiquant une sensibilité accrue aux contraintes salines.

Concernant la tolérance au pH, l'ensemble des isolats a montré une capacité de croissance en milieu acide (pH 4,5), tandis qu'aucun développement n'a été observé en milieu alcalin (pH 9), traduisant une préférence marquée pour des conditions acides. Sur le plan métabolique, toutes les souches de ce groupe présentent un métabolisme homofermentaire, caractérisé par l'absence de production de gaz. De plus, aucun des isolats n'a montré de thermorésistance lors des tests réalisés, et le test d'hydrolyse de l'esculine s'est révélé négatif pour l'ensemble des souches. Enfin, le test de réduction du bleu de méthylène à 0,1 % a donné un résultat positif uniquement pour les isolats (A16 et R50), suggérant une activité métabolique plus marquée chez ces souches.

Les profils fermentaires obtenus ont permis d'orienter l'identification des isolats A16 et R50 vers *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, avec une similarité phénotypique estimée à 95 %. Par ailleurs, les isolats A19 et A22 ont présenté des profils fermentaires compatibles avec *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, affichant également un taux de similarité phénotypique de 95 %.

L'ensemble de ces caractéristiques permet de classer ces isolats au sein de la flore acidifiante. Ce profil physiologique et métabolique est typique des lactocoques mésophiles, largement utilisés en fromagerie pour leur aptitude à assurer une acidification rapide et contrôlée du lait. Leur activité fermentaire joue un rôle clé dans l'abaissement du pH, la stabilisation microbiologique du produit et la création de conditions favorables aux étapes ultérieures de la transformation fromagère (Coelho et al., 2022).

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés sur la souche M31 montrent une aptitude variable aux conditions de stress environnemental. La souche a présenté une capacité de croissance en présence de chlorure de sodium à des concentrations de 4 % et 6,5 %. En ce qui concerne la tolérance au pH, la souche s'est développée en milieu acide (pH 4,5), alors qu'aucune croissance n'a été observée en milieu alcalin (pH 9), indiquant une préférence pour des conditions acides.

Après 24 heures d'incubation dans un bouillon MRS, la souche a montré une croissance satisfaisante aux températures de 15 °C, 30 °C et 37 °C, tandis qu'aucune croissance n'a été enregistrée à 42 °C, traduisant un comportement mésophile, et aucune thermorésistance n'a été mise en évidence lors du test spécifique.

Sur le plan métabolique, la souche a présenté un profil hétérofermentaire, caractérisé par une production de gaz, confirmant son aptitude à métaboliser les glucides via des voies fermentaires alternatives.

Le profil fermentaire de l'isolat M31 a orienté son identification vers *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, avec une similarité phénotypique de 75 %, suggérant une affiliation probable à cette sous-espèce.

Ce résultat est largement en accord avec les données rapportées par **Bennani et al. (2017)**, **Dahou (2017)**, et **Hamdaoui et al. (2022)**.

Ces caractéristiques physiologiques et biochimiques suggèrent une bonne adaptation aux conditions rencontrées lors des premières étapes de la fabrication fromagère, notamment en phase d'acidification du lait comme mentionné par **Nicosia et al. (2023)**.

Dans l'ensemble, les profils physiologiques observés constituent des critères discriminants pertinents pour l'identification phénotypique des espèces lactiques isolées. Ils permettent également une première évaluation de leur potentiel technologique, en vue de leur sélection et de leur utilisation comme ferments lactiques dans les procédés de fabrication du fromage.

Le **tableau 24** et la **figure 29** et **30** correspondante illustre la distribution des profils de fermentation des glucides obtenus à partir de la galerie API 50 CHL, permettant de confirmer la différenciation phénotypique des espèces identifiées, notamment dans le cas des souches I30, I29 et M27. Elle met également en évidence les pourcentages d'identification obtenus pour certains isolats, en particulier l'isolat A70, identifié comme *Lactobacillus pentosus* avec un taux de similarité de 95,2 %, tel qu'indiqué dans la **figure 31**.

Les résultats obtenus à partir des galeries API ont été interprétés à l'aide du logiciel d'identification mis à disposition en ligne (<https://lab.upbm.org/identifieur/galerie.php>), permettant la traduction des profils fermentaires en résultats d'identification phénotypique.

Tableau 24. Résultats des analyses physiologiques et biochimiques des souches

Code	Gram	Catalase	Forme	NaCl		pH			Thermorésistance 63,5 °C	Température				Type fermentation	Test de Sherman		Esculine	Identification	% Identification
				4%	6%	9	6,5	4,5		15 °C	30 °C	37 °C	42 °C		1%	3%			
I 01	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	homo	+	+	+	<i>L. pentosus</i>	95,2%
I 02	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	-	+	<i>L. plantarum 1</i>	100%
I 04	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	homo	+	-	+	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	100%
I 06	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>L. brevis</i>	99%
I 07	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>L. brevis</i>	99%
I 28	+	-	B	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	homo	+	-	+	<i>L. rhamnosus</i>	100%
I 29	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	homo	+	+	+	<i>L. acidophilus</i>	99%
I 30	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	100%
A 03	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i>	80%
A 04	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	-	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	100%
A 05	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	100%
A 12	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	100%

Étude expérimentale

A 16	+	-	C	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	Homo	+	-	-	<i>Lactococcus lactis ssp lactis 1</i>	98 %
A 17	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>L. brevis</i>	99 %
A 19	+	-	C	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	Homo	-	-	-	<i>Lactococcus lactis ssp.cremoris</i>	95 %
A 21	+	-	B	+	+	+	+	+	-		+	+	-	Hétéro	+	+	-	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	100%
A 22	+	-	C	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	Homo	-	-	-	<i>lactococcus lactis ssp cremoris</i>	95 %
A 23	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100 %
A 34	+	-	B	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	Homo	+	-	+	<i>L. rhamnosus</i>	100%
A 40	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i>	100%
A 43	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	Homo	+	-	-	<i>L. delbrueckii subsp lactis</i>	95 %
A 54	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i>	80%
A 56	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	100%
A 62	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	-	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	100%
A 63	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	100%
A 64	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i>	80 %
A 66	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	99 %
A 70	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	homo	+	+	+	<i>L. pentosus</i>	95,2%

Étude expérimentale

R 01	+	-	B	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	Hétéro	+	+	+	<i>L. plantarum</i>	100%
R 07	+	-	B	-	-	-	+	+	-	N. D	+	+	+	Homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i> 1	80 %
R 50	+	-	C	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	Homo	+	-	-	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i> 1	95 %
M 21	+	-	B	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>L. brevis</i> 1	99 %
M 27	+	-	B	-	-	-	+	+	-	N. D	+	+	+	Homo	-	-	+	<i>L. acidophilus</i>	100%
M 31	+	-	C	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	Hétéro	+	+	+	<i>Ln. mesenteroïdes ssp mesenteroïdes</i> 1	75 %
M 36	+	-	B	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Homo	-	-	-	<i>L. delbrueckii subsp lactis</i>	95 %

+ : Résultat positif - : Résultat négatif **ND** : Non déterminé **Homo** : Homofermentaire **Hétéro** : Hétérofermentaire

B: bacile **C**: coque : Identification génotypique

Étude expérimentale

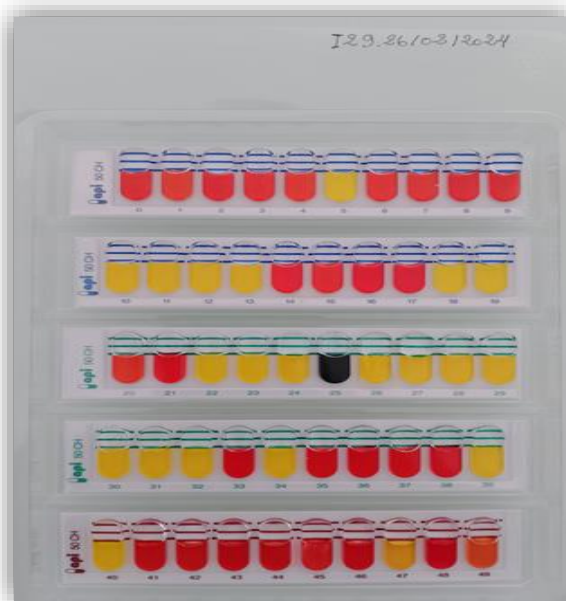
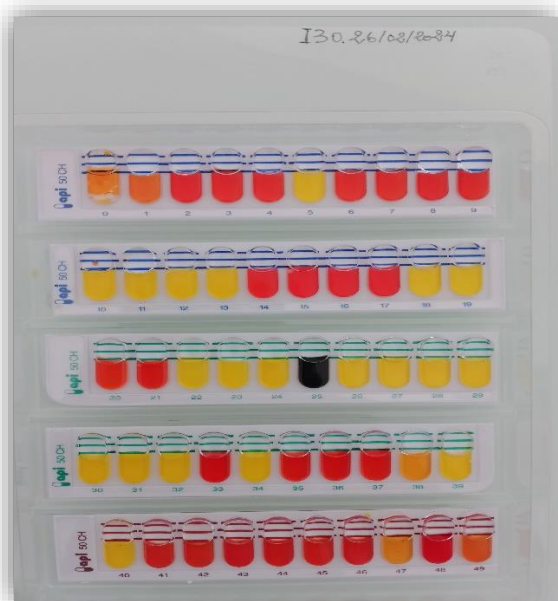


Figure 29. Profil fermentaire de la souche I30 et I29 obtenu à l'aide de la galerie API 50 CHL



Figure 30. Profil fermentaire de la souche M27 obtenu à l'aide de la galerie API 50 CHL et confirmé par PCR



Figure 31. L'isolat A70 a été caractérisé comme appartenant à l'espèce *Lactobacillus pentosus*, avec un niveau de similarité de 95,2 % selon le logiciel d'identification

II.2.4.3. Approche moléculaire pour l'identification des isolats

L'approche a été appliquée à sept isolats représentatifs, sélectionnés sur la base de la diversité de leurs profils physiologiques et biochimiques (galerie API 50 CHL) et de leur appartenance à différents groupes fonctionnels (notamment la flore protéolytique). Ce choix visait à couvrir la variabilité métabolique de la collection, tant sur le plan du type fermentaire que du potentiel technologique.

Les profils moléculaires obtenus ont confirmé les orientations taxonomiques issues de l'identification phénotypique, affiliant les isolats aux espèces *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Levilactobacillus brevis* et *Lactiplantibacillus plantarum*. La concordance entre ces deux approches renforce la fiabilité de l'identification.

L'électrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR montre, pour la souche de référence *L. acidophilus* ATCC 4356 ainsi que pour les isolats M27 et A40, des bandes nettes et uniques. La migration comparable des amplicons (taille estimée à 410 pb) suggère l'amplification d'un fragment d'ADN cible identique, confirmant ainsi l'appartenance de ces isolats à l'espèce *L. acidophilus*.

L'isolat M27 présente un profil électrophorétique strictement superposable à celui de la souche de référence *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (SR), caractérisé par une bande unique, intense et bien définie. L'isolat A40 affiche une migration identique, confirmant la spécificité de l'amplification et l'absence de produits non spécifiques. L'absence de signaux parasites ou d'amplifications multiples atteste de la fiabilité de la PCR et de l'optimisation des conditions expérimentales (**Figure 32**).

La parfaite identité des profils électrophorétiques entre les isolats M27, A40 et la souche de référence confirme leur affiliation à l'espèce *Lactobacillus acidophilus*. Ces résultats corroborent les identifications phénotypiques obtenues via la Galerie API 50 CHL de bioMérieux et soulignent l'efficacité de l'approche polyphasique (combinat les outils phénotypiques et génotypiques) pour une identification taxonomique rigoureuse.

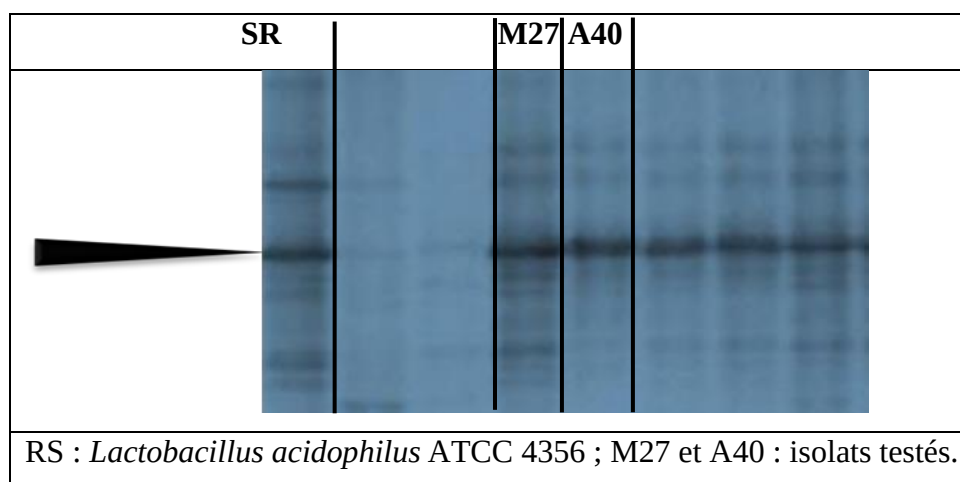


Figure 32. Profile de bande de (GTG)₅ PCR pour *Lactobacillus acidophilus*

En accord avec les caractéristiques de l'espèce, les profils des isolats A62 et A04 s'avèrent identiques à la souche type ATCC 12315 (**Figure 33**). La présence du fragment majoritaire de 480 pb confirme leur appartenance à la sous-espèce *lactis*, ce fragment étant reconnu comme sa signature moléculaire.

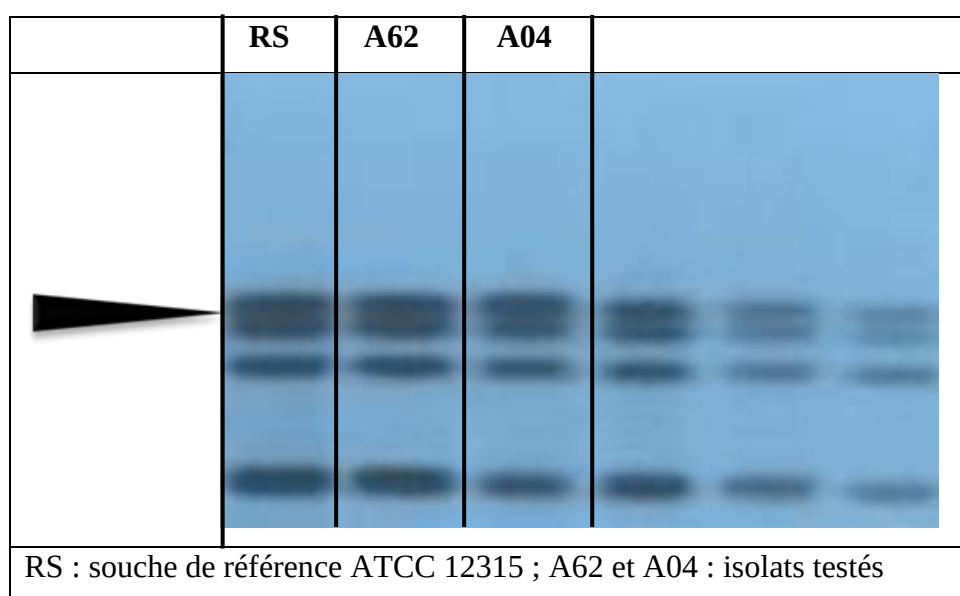


Figure 33. Profile de bande de (GTG)₅ -PCR pour *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*

L'analyse des profils obtenus par (GTG)₅-PCR révèle des empreintes génomiques identiques entre l'isolat A21 et la souche de référence *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 9338 (SR) (**Figure 34**). Les profils de migration sont superposables, avec notamment une bande signature majeure à environ 570 pb, caractéristique de cette espèce.

Cette homologie des profils d'amplification témoigne d'une forte proximité génétique, résultant de l'omniprésence de régions répétées homologues. L'absence de polymorphisme détectable au niveau des sites de fixation de l'amorce (GTG)₅ confirme une appartenance taxonomique commune.

Ces résultats valident l'identification de l'isolat A21 comme étant *L. fermentum*, corroborant ainsi les données phénotypiques obtenues via la galerie API 50 CHL (identifiable sur le site officiel de bioMérieux).

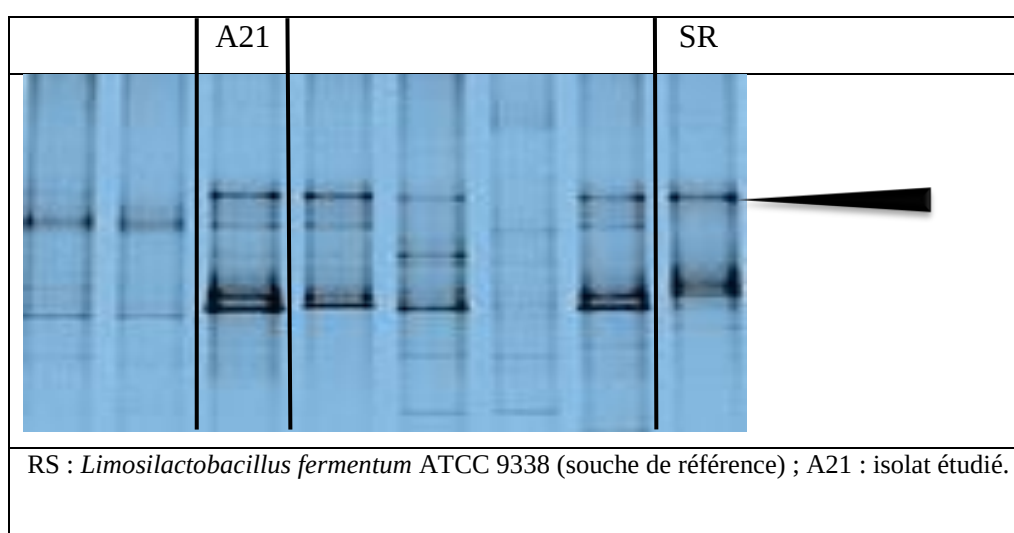


Figure 34. Profile de fingerprinting génomique obtenus par (GTG)₅-PCR correspondant à *Levilactobacillus brevis*

La présence d'un fragment majeur d'environ 390 pb, commun à l'isolat A23 et à la souche de référence *Levilactobacillus brevis* ATCC 367 (**Figure 35**), permet d'orienter l'identification de cet isolat vers l'espèce *L. brevis*. Ces observations sont, par ailleurs, en parfaite cohérence avec le profil phénotypique obtenu via la galerie API 50 CHL.

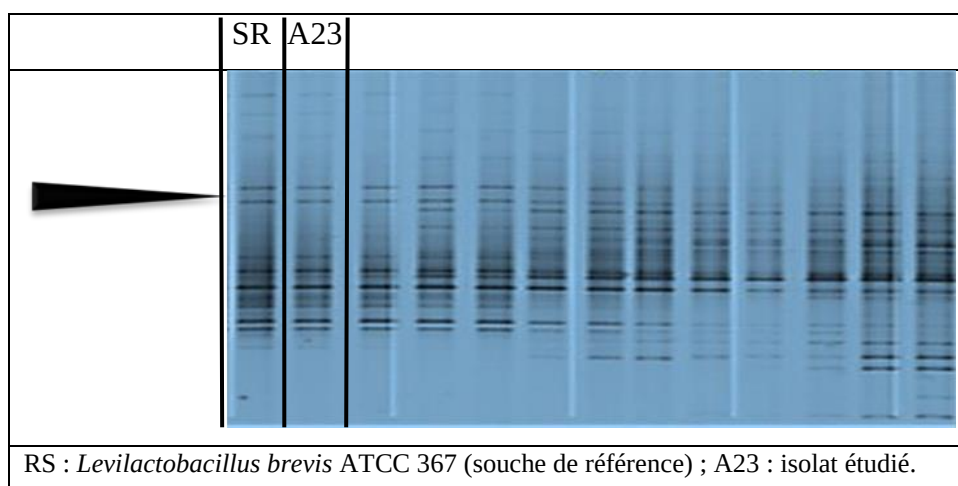


Figure 35. Profil de fingerprinting génomique obtenus par (GTG)_s-PCR correspondant à *Lactiplantibacillus plantarum*

La concordance de migration d'un fragment d'environ 610 pb entre l'isolat I04 et la souche de référence *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014 oriente l'identification génotypique de cet isolat vers l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* (**figure 36**), en accord avec les résultats phénotypiques obtenus par la galerie API 50 CHL.

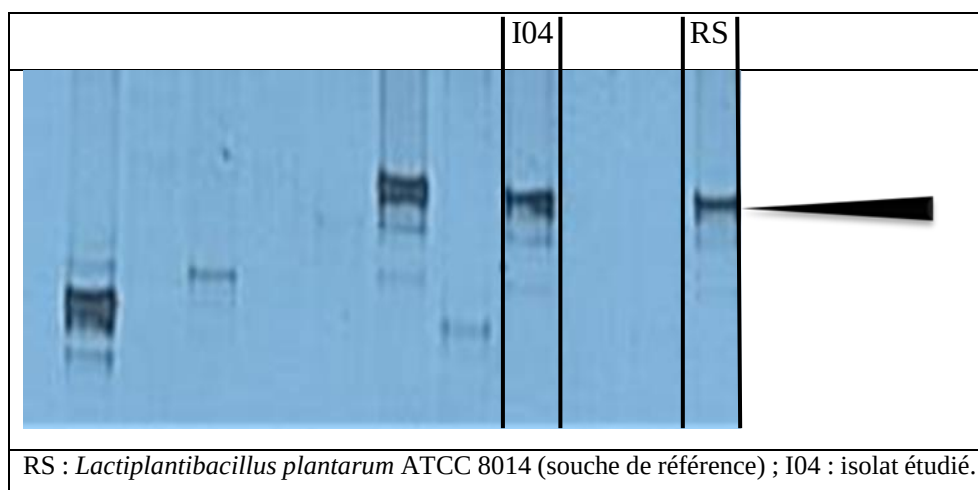


Figure 36. Gel d'électrophorèse des produits de la (GTG)_s-PCR correspondant à *Lactiplantibacillus plantarum*

La caractérisation génotypique (**Fig. 31-35**) a corroboré avec une concordance totale (100 %) l'identité taxonomique des isolats initialement identifiés par approche phénotypique. Cette parfaite adéquation entre les profils biochimiques et les marqueurs moléculaires (souvent l'ADNr 16S ou la Maldi-Tof MS) valide la robustesse de notre classification (**Tableaux 24 et**

25). Cette certification taxonomique constitue un prérequis indispensable, garantissant que les aptitudes technologiques évaluées ultérieurement sont attribuées à des souches parfaitement caractérisées et sécurisées.

Tableau 25. Résultats de l'identification des produits de la pcr (profils GTG₅-PCR)

Code de l'isolat	ID des profils GTG ₅ -PCR (Pearson corrélation)	% Conformité par comparaison à la base de données <u>BLAST.NCBI</u> et aux souches de <u>références</u>
M27	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100%
A40	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100%
A21	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	100%
A62	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	100%
A04	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp lactis</i>	100%
A23	<i>Levilactobacillus brevis</i>	100%
I04	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	100%

L'arbre phylogénétique des souches identifiées a été construit à l'aide du logiciel MEGA version 12, selon la méthode du Neighbor-Joining, afin d'analyser les relations phylogénétiques existant entre les différentes espèces (**Figure 37**).

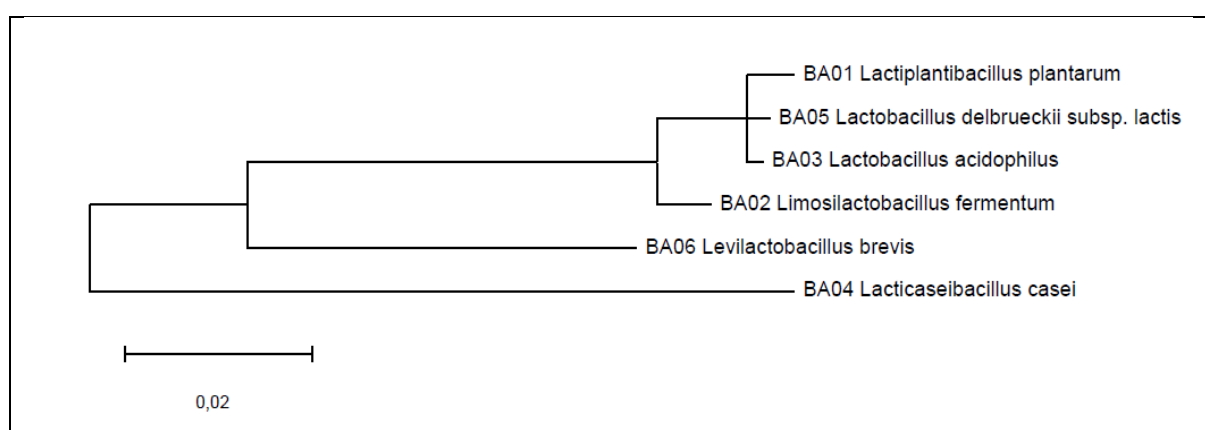


Figure 37. Arbre phylogénétique des cinq souches identifiées, établi à partir des séquences des amorces, selon la méthode Maximum de Vraisemblance (Maximum Likelihood) à l'aide du logiciel MEGA 12

La correspondance de 100 % observée entre les méthodes phénotypiques et génotypiques dans cette étude est remarquable, bien que non systématique dans la littérature des produits fermentés traditionnels. En effet, **Mayo et al. (2014)** soulignent que les tests biochimiques peuvent parfois conduire à des identifications erronées en raison de la plasticité métabolique des souches sauvages isolées de niches complexes comme les fromages artisanaux. Cette fiabilité taxonomique rejoint les observations de **Randazzo et al. (2009)** sur les fromages siciliens, où l'utilisation de techniques moléculaires (type PCR-DGGE ou séquençage) a permis de confirmer la prédominance des genres *Lactobacillus* et *Lactococcus*, essentiels au développement du profil aromatique. La valorisation biotechnologique des souches isolées du J'ben El Gafs s'inscrit dans une démarche de préservation du patrimoine laitier algérien, à l'instar des travaux de **Saidane (2022)** sur la dynamique des communautés bactériennes autochtones durant l'affinage. L'utilisation de ces isolats comme cultures starters permet non seulement de standardiser les paramètres de fabrication, mais aussi de reproduire fidèlement les caractéristiques sensorielles que la fermentation spontanée génère de manière aléatoire. Cette approche est corroborée par les études de **Dahou et al. (2015/2020)** et de **Bounaama (2024)**, qui soulignent que les ferments indigènes, contrairement aux souches exogènes, sont parfaitement adaptés aux caractéristiques physico-chimiques du lait local et aux conditions environnementales spécifiques de la région. Ainsi, la constitution d'une collection de souches autochtones validées représente un levier essentiel pour transformer le savoir-faire artisanal en un procédé industriel maîtrisé, garantissant à la fois sécurité sanitaire et authenticité du produit.

II.2.4.3.1. Analyse évolutive par la méthode du Maximum de Vraisemblance

L'analyse phylogénétique a été réalisée selon la méthode du Maximum de Vraisemblance (Maximum Likelihood), en utilisant le modèle de substitution nucléotidique **Tamura–Nei (1993)**. L'arbre phylogénétique présentant la plus grande vraisemblance (log-vraisemblance = -2 885.80) a été retenu. La topologie initiale des arbres a été obtenue automatiquement à partir des méthodes Neighbor-Joining (NJ) et Maximum Parsimony (MP), sur la base d'une matrice de distances calculée selon le modèle **p-distance**. Les arbres ont ensuite été évalués à l'aide de 10 recherches MP, en appliquant un algorithme de démarrage aléatoire.

L'analyse a porté sur six séquences nucléotidiques, comprenant 1 356 positions dans le jeu de données final. Les analyses évolutives ont été effectuées à l'aide du logiciel **MEGA 12**, en exploitant jusqu'à trois cœurs de calcul en parallèle.

II.2.5. Caractérisation des aptitudes technologiques des souches lactiques isolées

II.2.5.1. Pouvoir acidifiant

II.2.5.1.1. Flore acidifiantes (Genre *Lactococcus*, *Leuconostoc*)

L'évaluation du potentiel acidifiant révèle que l'ensemble des isolats coccoïdes manifeste une activité précoce, marquée par une baisse du pH sous le seuil de 6.5 dès la sixième heure d'incubation. Au sein de ce groupe, la souche A16 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*) se distingue nettement par sa précocité, atteignant un pH de 6.12 associé à une synthèse d'acide lactique de 4.1 g/L.

À l'issue de 24 heures, cette dynamique d'acidification s'accroît de manière généralisée pour toutes les souches testées. Les valeurs de pH oscillent alors entre 4.71 et 5.45, correspondant à des teneurs en acide lactique comprises entre 7.1 et 11.9 g/L. Les performances les plus remarquables sont enregistrées chez les isolats A19 et A22 (*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*), soulignant une variabilité interspécifique significative des cinétiques fermentaires.

Quant à la souche M31 (*Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*), son entame reste plus discrète avec un pH de 6.62 (3 g/L d'acide) à 6 heures. Toutefois, cette latence est compensée par une acidification tardive vigoureuse : après 24 heures, ses paramètres (pH 4.74 et concentration de 11 g/L) rejoignent ceux des lactocoques les plus performants (**Figures 38 et 39**).

Les résultats obtenus soulignent la remarquable dynamique acidifiante de nos souches de *Lactococcus* et *Leuconostoc*. Ces performances corroborent les travaux de **Dahou (2017)** et **Bouchibane (2023)**, tout en s'en distinguant par une intensité plus soutenue. Cette supériorité suggère une adaptation technologique optimale de nos isolats aux paramètres expérimentaux mis en œuvre.

Sur le plan industriel, cette hétérogénéité d'action offre des perspectives complémentaires :

Les souches à cinétique rapide s'imposent comme des candidats de choix pour constituer des levains primaires, garantissant une baisse rapide du pH nécessaire à la sécurité sanitaire et à la coagulation.

À l'inverse, les souches à l'activité plus modérée trouvent leur intérêt en tant que cultures d'appoint. Elles favorisent la complexité aromatique et l'équilibre sensoriel du produit fini, évitant ainsi l'écueil d'une acidification excessive (Coelho *et al.*, 2022 ; Grujović *et al.*, 2024 ; Sesín *et al.*, 2023).

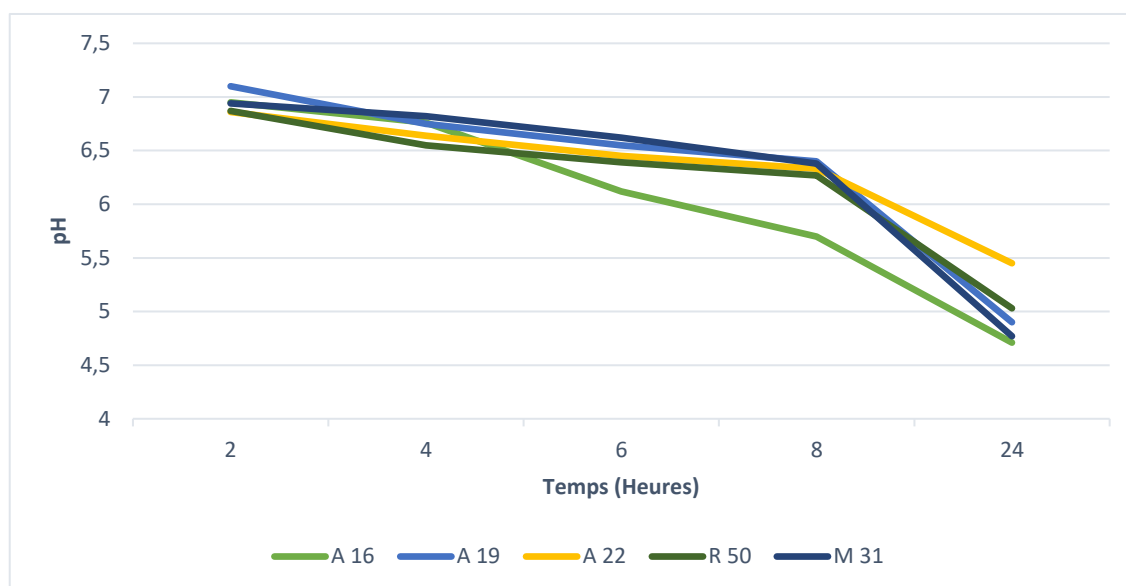


Figure 38. Evaluation du pH flore acidifiantes après 24 heures d'inoculation

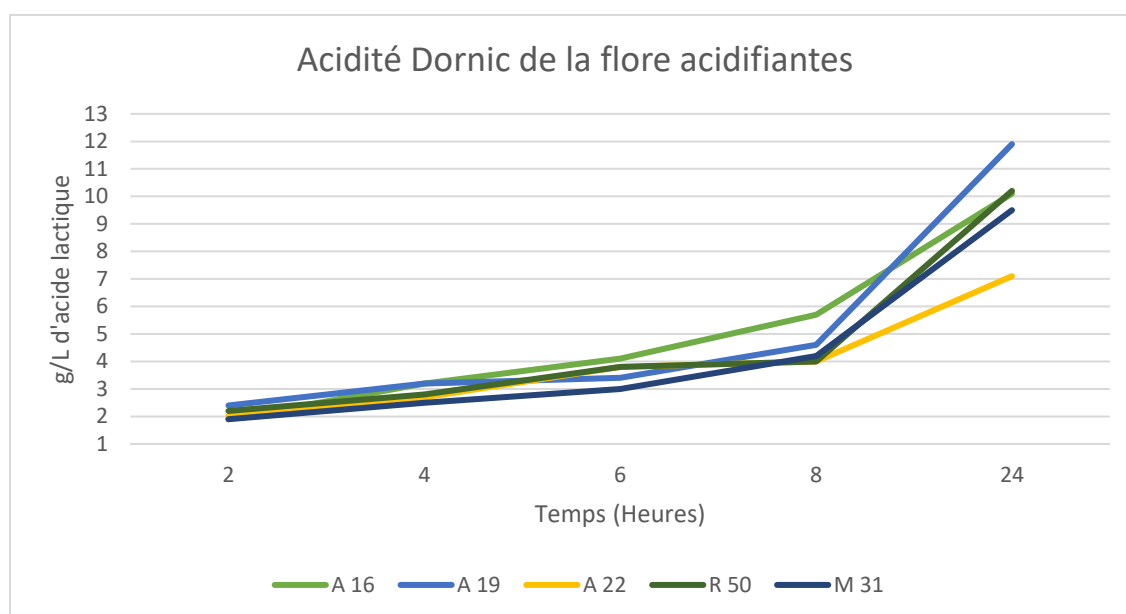


Figure 39. Courbes du suivi de l'évolution de l'acidité de la flore acidifiantes après 24 heures d'inoculation

II.2.5.1.2. Flore protéolytique (Genre *Lactobacillus*)

L'étude cinétique des souches isolées (*L. acidophilus* M27, A40 ; *L. fermentum* A21 ; *L. delbrueckii* subsp. *lactis* A62, A04 et *Lp. plantarum* I04) révèle une dynamique d'acidification croissante au cours de l'incubation, dont l'intensité varie selon l'identité taxonomique et la spécificité de la souche. Dès les six premières heures, l'abaissement du pH sous le seuil de 6.48 confirme l'amorce précoce de la fermentation lactique pour l'ensemble du microbiote étudié, corroborant ainsi les observations de **Dahou (2017)** et **Bouchibane (2023)**.

C'est toutefois au terme de 24 heures que les divergences métaboliques s'accroissent (Figures 40 et 41). La souche I04 (*Lp. plantarum*) s'est révélée la plus performante, abaissant le pH à 4.90 grâce à une synthèse notable d'acide lactique (8.7 g/L). À l'opposé, la souche A23 affiche une cinétique plus modeste (pH 6.2 ; 5.8 g/L d'acide lactique). Ce déficit relatif d'acidité s'explique vraisemblablement par son caractère hétérofermentaire, où une partie des substrats carbonés est déviée vers la production de métabolites secondaires (CO₂, éthanol, acide acétique) plutôt que vers la voie exclusive de la lactate déshydrogénase.

Globalement, les représentants de l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* dominent les autres isolats par leur vigueur acidifiante. Cette supériorité, largement documentée par **Saidane (2022)** ainsi que par les auteurs précités, témoigne d'une remarquable plasticité métabolique. Leur aptitude à fermenter une vaste gamme de glucides et leur adaptation optimale à la matrice laitière leur confèrent un avantage technologique majeur pour la maîtrise des processus fermentaires.

À l'inverse, les travaux de **Ketrouci (2021)** mettent en évidence une cinétique d'acidification plus modérée chez des souches de *Lactobacillus plantarum* issues de lait de brebis, avec une production d'acide lactique plafonnant à 4.9 g/L après 24 heures d'incubation. Il est intéressant de noter que, bien que le lait de vache soit naturellement plus pourvu en lactose, la seule disponibilité en sucres fermentescibles ne saurait justifier cet écart de performance.

La complexité de ce phénomène réside plutôt dans la richesse intrinsèque du lait de brebis : sa forte concentration en protéines, lipides et sels minéraux génère un pouvoir tampon supérieur, lequel freine la chute du pH malgré une synthèse lactique active. De surcroît, l'adaptation phénotypique des souches à leur matrice originelle joue un rôle déterminant ; le transfert vers un substrat exogène peut altérer leur efficacité métabolique. En somme, ces observations confirment que le profil d'acidification n'est pas uniquement un trait spécifique à l'espèce, mais le résultat d'une interaction fine entre le patrimoine génétique de la souche et les propriétés physico-chimiques du milieu.

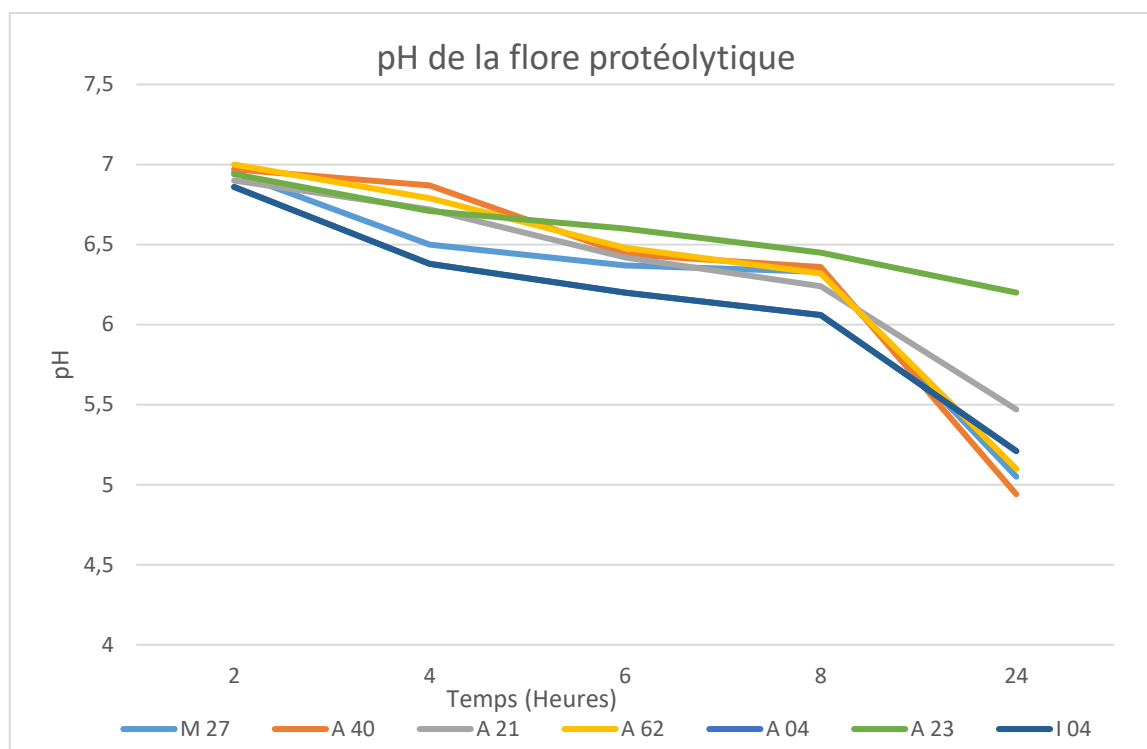


Figure 40. Evaluation du pH de la flore protéolytique après 24 heures d'inoculation

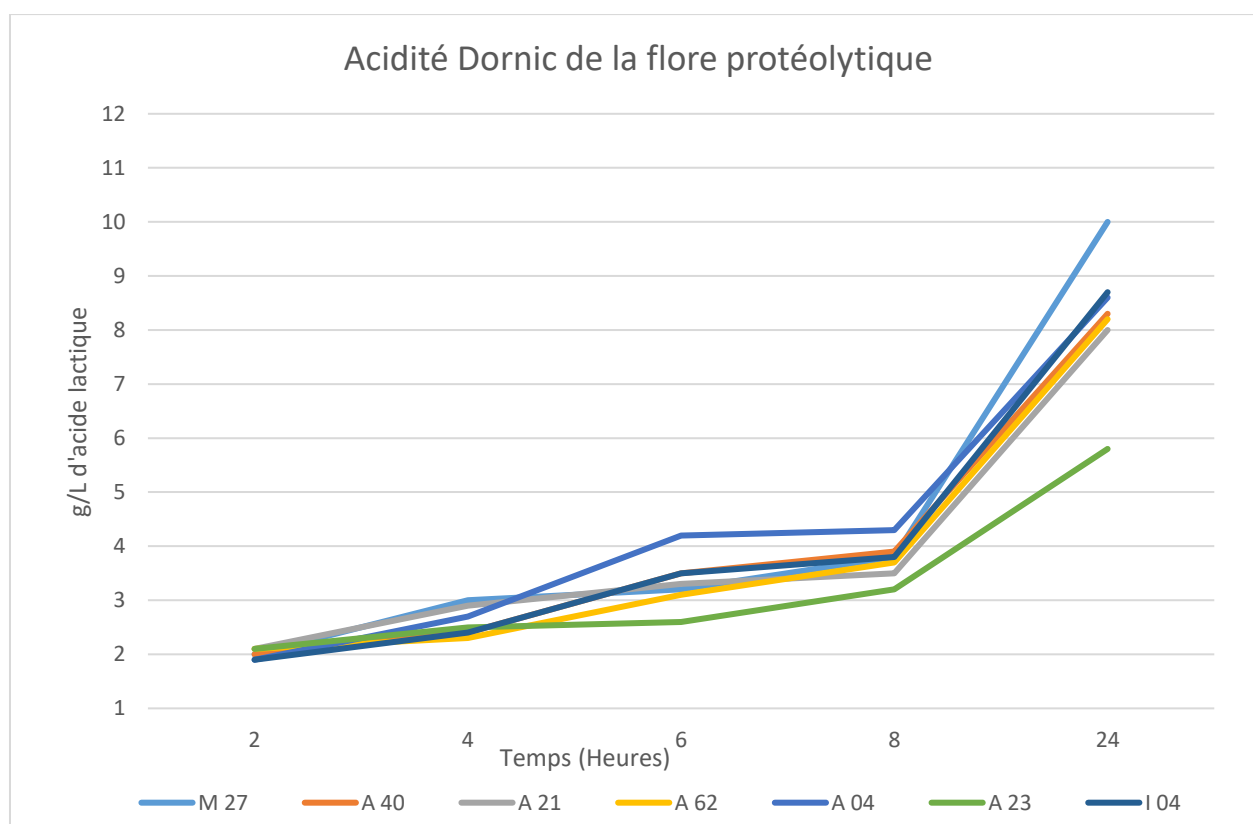


Figure 41. Courbes du suivie de l'évolution du l'acidité de la flore protéolytique après 24 heures d'inoculation

II.2.5.2. Évaluation du potentiel texturant et biosynthèse des exopolysaccharides (EPS)

L'aptitude des isolats à modifier la texture du milieu a été évaluée par leur profil phénotypique sur milieu MSE. L'émergence de colonies au phénotype "gluant" ou filant (aspect *mucoïde*) constitue un indicateur phénotypique direct de la production d'exopolysaccharides (EPS), des polymères naturels d'intérêt majeur pour l'industrie agroalimentaire (**Figure 42**).

II.2.5.2.1. Diversité fonctionnelle au sein de la flore acidifiante (*Lactococcus* et *Leuconostoc*)

L'analyse a révélé une hétérogénéité fonctionnelle marquée au sein des bactéries lactiques acidifiantes. Les souches *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* A16 et R50 se distinguent par une production manifeste d'EPS, corroborant les observations antérieures de **Dahou (2017)** et **Bouchibane (2023)** sur la capacité texturante de cette espèce.

À l'inverse, les isolats *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (A19, A22) et *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* M31 n'ont présenté aucun caractère visqueux. Cette absence de production d'EPS, loin d'être un handicap, positionne ces souches comme des cultures auxiliaires stratégiques. Elles permettent en effet une acidification maîtrisée et un développement aromatique optimal sans altérer la viscosité native du produit, une caractéristique recherchée pour certains types de fermentations lactiques (**Parente et Cogan, 2004 ; Badis et al., 2005 ; Saidane, 2022**).

II.2.5.2.2. Prédominance du caractère mucoïde chez la flore protéolytique (*Lactobacillus sensu lato*)

Le criblage de la flore protéolytique a mis en évidence une aptitude quasi généralisée à la production de substances exopolymériques. Les souches de *Lactobacillus acidophilus* (M27, A40), *Limosilactobacillus fermentum* A21, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (A62, A04) et *Lactiplantibacillus plantarum* I04 ont toutes manifesté un caractère texturant prononcé.

Ces résultats s'alignent avec les travaux de **Bouchibane (2023)** et confirment la robustesse métabolique de ces espèces en matière de synthèse polymérique. Plus spécifiquement, la performance de *L. plantarum* I04 appuie les conclusions de **Wang et al. (2010)**, qui attribuent cette viscosité élevée à une synthèse complexe d'EPS hétéropolymeric (composés de mannose, glucose et galactose). Cette capacité confère à ces isolats un rôle de bio-

épaississants naturels, capables d'améliorer l'onctuosité et la stabilité physique des matrices alimentaires fermentées sans recours à des additifs exogènes.

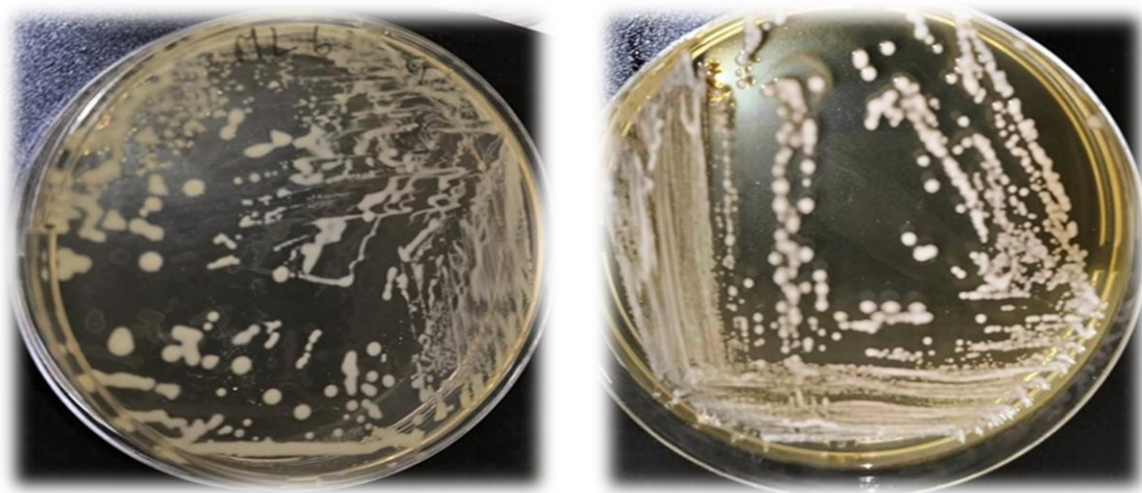


Figure 42. Aspects des colonies obtenues pour les souches productrices des EPS

II.2.5.3. Aptitude à la biosynthèse des composés aromatiques

L'analyse du potentiel aromatisant révèle que les genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* possèdent l'équipement enzymatique nécessaire pour métaboliser le pyruvate en métabolites volatils clés. Cette voie métabolique aboutit à la formation de molécules carbonylées telles que l' α -acétolactate, le diacétyle, l'acétoïne et le 2,3-butanediol, piliers du profil sensoriel des produits laitiers fermentés.

La réponse positive au test colorimétrique, caractérisée par l'apparition d'un anneau rouge cerise, témoigne d'une accumulation significative de ces composés. L'hétérogénéité des résultats observée (**Figure 43**) souligne une variabilité interspécifique et inter-souches marquée, confirmant les observations antérieures de **Dahou (2017)** et **Bouchibane (2023)**.

a) Sélection des souches d'intérêt et divergence métabolique

Parmi le pool microbien testé, une sélection de huit souches s'est distinguée par un métabolisme aromatique actif :

- **Lactobacilles** : *L. acidophilus* (M27, A40), *L. fermentum* (A21), *L. delbrueckii* subsp. *lactis* (A62, A04) et *L. plantarum* (I04).
- **Lactocoques** : *Lc. lactis* subsp. *lactis* (A16, R50)

À l'inverse, l'absence de production chez *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (A19, A22), *Levilactobacillus brevis* (A23) et *Leuconostoc mesenteroides* (M31) suggère soit une

absence des gènes de la voie de l'acétolactate synthase, soit une orientation du flux de pyruvate vers d'autres voies fermentaires (lactique pure ou éthanolique).

b. Identification de souches candidates à haut potentiel industriel

Une attention particulière est portée aux souches *Limosilactobacillus fermentum* A21 et *Lactiplantibacillus plantarum* I04. Leur activité aromatisante, jugée supérieure, les positionne comme des candidates prometteuses pour le développement de cultures starter ou d'appoint. Cette performance exceptionnelle corrobore les travaux de **Marroki et Bousmaha-Marroki (2014)**, renforçant l'idée que ces souches pourraient jouer un rôle déterminant dans la standardisation et l'exaltation des propriétés organoleptiques des produits fermentés artisanaux.



Figure 43. Biosynthèse de l'acétoïne chez les bactéries lactiques

II.2.5.4. Évaluation du potentiel protéolytique et dynamique enzymatique

L'analyse des activités protéolytiques, consignée dans le **Tableau 26**, révèle une hétérogénéité marquée entre les différents isolats. Cette variabilité semble être étroitement corrélée non seulement à la spécificité génétique des souches, mais également à la concentration en substrat (lait écrémé) incorporé dans le milieu PCA. Bien que la croissance soit généralisée sur l'ensemble des milieux, l'expression phénotypique de la protéolyse, matérialisée par l'apparition d'un halo d'hydrolyse (**Figure 44**), varie de manière significative.

- **Variabilité interspécifique et intensité de l'hydrolyse**

Les diamètres des zones de lyse s'échelonnent majoritairement entre 5 et 15 mm, confirmant les tendances observées par **Bouchibane (2023)**. Toutefois, des performances

exceptionnelles ont été enregistrées, notamment pour la souche *Limosilactobacillus fermentum* A21, dont le halo atteint 42 mm À l'opposé, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* M31 affiche une activité plus discrète avec un diamètre de 8 mm, illustrant une divergence métabolique profonde au sein du groupe des bactéries lactiques testées.

- **Analyse de la performance technologique**

La souche *L. fermentum* A21 se positionne comme le candidat le plus performant, particulièrement à une concentration de 10 % de lait écrémé (halo de 42 mm) (**Fig 44**).

Par ailleurs, d'autres isolats tels que *Lactobacillus plantarum* I04, *Lactobacillus acidophilus* (A40 et M27) ainsi que *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* A62 manifestent des aptitudes remarquables à dégrader les protéines laitières. Ce profil enzymatique robuste souligne leur potentiel technologique majeur, notamment pour l'accélération de l'affinage ou l'amélioration des propriétés organoleptiques dans les industries agroalimentaires.

Les souches *Lactococcus lactis subsp. lactis* (A16, R50), *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (A19, A22) et *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* M31 présentent de faibles diamètres d'hydrolyse, signifiant une faible activité protéolytique intrinsèque. Néanmoins, ces souches agissent comme des cultures auxiliaires, apportant une complexité biochimique essentielle au profil sensoriel lors des processus de fermentation, plutôt qu'une dégradation protéique rapide.

L'augmentation de la concentration en lait écrémé dans le milieu PCA favorise l'expression protéolytique, confirmant une réponse dépendante du substrat, bien que modulée par le potentiel enzymatique de chaque isolat. Cette observation s'aligne avec **Tandi Ruba et al. (2020)**, désignant le genre *Lactobacillus* (notamment *Lb. fermentum* et *Lb. kefir*) comme plus protéolytique que d'autres bactéries lactiques. Toutefois, il est noté que *Lactococcus lactis subsp. lactis* peut présenter une activité supérieure à *Lactiplantibacillus plantarum*.

Contrairement aux conclusions de **Marroki et Bousmaha-Marroki (2014)** qui attribuent une protéolyse supérieure à *Lactiplantibacillus plantarum*, nos résultats montrent des variations. Ces divergences s'expliquent par la spécificité des souches étudiées, les conditions de culture, la nature du substrat protéique et les paramètres technologiques appliqués, soulignant que l'activité protéolytique est une caractéristique fortement dépendante du contexte de la souche et de son environnement.

Bien que l'activité protéolytique des isolats soit qualifiée de modérée, elle s'avère être un levier technologique stratégique. Plutôt qu'une dégradation massive, ces souches opèrent

une biotransformation graduée de la matrice protéique. Cette cinétique maîtrisée garantit un flux constant de précurseurs aromatiques (peptides et acides aminés libres) tout en préservant la structuration du caillé. Ce compromis entre protéolyse fonctionnelle et maintien textural confère à ces souches un potentiel remarquable pour l'élaboration de fromages affinés aux caractères organoleptiques affirmés.

Tableau 26. Résultats du pouvoir protéolytique des souches sur différentes concentrations de lait (10 %, 5 %, 3 % et 1 %)

ISOLAT	10%	5%	3%	1%
I 04	34	23	24	17
A04	14	17	30	16
A16	16	11	13	14
A19	12	9	13	16
A21	42	N.D	30	26
A22	11	10	13	20
A23	15	11	26	20
A40	28	40	19	18
A62	37	21	14	16
R 50	36	14	24	14
M 27	36	13	17	22
M 31	11	8	20	18



Figure 44. Activité protéolytique des quelques bactéries lactiques sur milieu PCA – lait 10%, 5%, 3 et 1%.

II. 3. Variabilité régionale et cinétique d'affinage : Analyse de la protéolyse des pâtes fromagères au fil de la lactation

La recrudescence progressive et notable de la concentration d'azote soluble durant la maturation des pâtes fromagères constitue un événement biochimique primordial. Ce phénomène, principalement initié par la protéolyse, est déterminant pour le développement organoleptique des fromages à pâte molle de type J'ben El Gafs. Il procède de l'hydrolyse enzymatique des caséines, protéines complexes du lait, en composés azotés de masse molaire inférieure, tels que les peptides et les acides aminés libres.

Cette cascade de réactions protéolytiques résulte de l'action synergique d'enzymes protéolytiques (protéases) issues de l'écosystème microbien natif des laits.

Ces résultats **tableau 27** corroborent les observations rapportées dans la littérature scientifique par **Fox et al (2005) ; Kieliszek et al (2021) ; Sahingil et al. (2024)**, confirmant ainsi le rôle déterminant de la protéolyse dans l'accumulation des composés azotés solubles (NS), métabolites essentiels à la formation de la saveur et à l'évolution de la texture finale du fromage. La cinétique de cette protéolyse se déroule de manière séquentielle, impliquant plusieurs étapes enzymatiques :

- 1- Rôle synergique de la flore native : La flore native, composée de *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*, est le moteur principal de cette protéolyse.
 - Les lactocoques, souvent prédominants en début de processus, initient la protéolyse primaire en libérant des protéinases de surface qui hydrolysent les caséines en gros polypeptides.
 - Les Lactobacilles et Leuconostocs, qui prennent le relais ou agissent en parallèle, internalisent ces peptides et les dégradent davantage en peptides plus courts et en acides aminés libres grâce à leurs systèmes enzymatiques intracellulaires (peptidases). Ce sont ces petites molécules qui augmentent directement la proportion d'azote soluble mesurée.
 - Cette synergie microbienne est cruciale, car les différents genres de bactéries lactiques possèdent des systèmes de dégradation des protéines complémentaires.
- 2- Cinétique d'évolution graduelle : Les résultats montrent une augmentation graduelle de l'azote soluble, avec une accélération notable entre J+5 et J+10, puis jusqu'à J+15.
 - a- Phase initiale (J+1 à J+5) : La production d'azote soluble est relativement lente (augmentation modeste de ~0.2 à 0.6%). Cela correspond à la phase

d'acidification rapide où l'activité des protéinases endogènes du lait (comme la plasmine) et des premières enzymes bactériennes est optimale à un pH légèrement acide, comme rapporté par **Fox et McSweeney (2017)**.

- b- Phase principale (J+5 à J+15) : L'augmentation devient plus prononcée (augmentation de ~2 à 3% supplémentaires). À ce stade, comme rapporté par **Sousa et McSweeney (2001)**, la lyse des cellules bactériennes libère leurs enzymes intracellulaires dans la matrice fromagère, intensifiant la dégradation des peptides accumulés en acides aminés libres. Cette phase est déterminante pour le développement de la saveur et de la texture fondante caractéristiques des pâtes molles.

- 3- Variabilité régionale et impact sur le produit final : Bien que les tendances soient similaires, les valeurs absolues varient légèrement entre les régions (Mazouna > Djidiouia > Oued Rhio > Zemmora).

- a- Mazouna présente le taux final le plus élevé (7.35 % d'azote soluble pour 20.65 % d'azote total initial), et Zemmora le plus bas (6.88 % pour 20.39 % initial).
- b- Ces différences suggèrent des variations dans la composition initiale du lait (potentiel protéolytique endogène) ou dans la composition précise de la flore native de chaque région (diversité et activité enzymatique des souches locales).

Ces variations, confirmées par plusieurs études, dont celles de **Kieliszek et al. (2021)** et de **Sahingil et al. (2024)**, peuvent exercer une influence subtile, bien que perceptible, sur les profils aromatiques et la texture finale des fromages.

La protéolyse secondaire est un processus clé dans cette dynamique, car elle génère les peptides courts et les acides aminés libres qui agissent comme précurseurs d'arômes, tout en contribuant significativement aux changements de texture durant l'affinage.

L'étude met en évidence une variabilité significative de la cinétique et de l'ampleur de la production d'azote soluble (NS) entre différentes régions, même au sein d'une race bovine laitière homogène. Cette hétérogénéité ne résulte pas d'une différence génétique de la race, mais est intrinsèquement liée à l'empreinte environnementale (climat, pédologie), aux spécificités de l'alimentation (type de fourrage, compléments) et aux pratiques d'élevage locales (système de pâturage, hygiène, méthodes de collecte du lait). Ces facteurs exogènes modulent profondément la diversité et la composition fonctionnelle de la flore lactique native présente dans le lait cru, et par conséquent, le profil enzymatique (peptidasique) disponible.

Sur le plan mécanistique, l'action différentielle de ces pools de peptidases régionaux induit une hydrolyse peptidique secondaire typique, caractérisée par des profils uniques de peptides courts et d'acides aminés libres. Ces variations dans la composition du NS ne sont pas anodines : elles déterminent directement les trajectoires organoleptiques (saveur et arôme) et l'évolution de la texture des produits laitiers affinés.

Tableau 27. Ration de l'azote total (NT) et de l'azote soluble (NS) en % durant l'affinage pour les pâtes fromagères des 4 régions

Jour d'affinage	Ratio NT- NS	Mazouna	Djidiouia	Oued Rhiau	Zemmora
J+1	NT	20.65±0.01	20.52±0.01	20.48±0.02	20.39±0.01
	NS	2.15±0.02	2.09±0.01	1.97±0.03	1.91±0.04
J+5	NT	17.87±0.03	18.14±0.01	18.27±0.03	18.26±0.04
	NS	2.78±0.02	2.38±0.02	2.21±0.04	2.13±0.02
J+10	NT	15.73±0.02	15.84±0.01	16.06±0.04	16.21±0.04
	NS	4.92±0.03	4.68±0.02	4.42±0.03	4.18±0.02
J+15	NT	13.30±0.02	13.50±0,01	13.55±0.05	13.51±0.02
	NS	7,35±0.01	7.02±0.03	6.93±0.02	6.88±0.02
Rendement Fromager L/ kg		8±0.02	8.28±0.02	8.72±0.03	8.88±0.02

Analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées :

Afin de comparer l'évolution du ratio N-soluble / N-Total entre les quatre régions durant la période d'affinage, un plan d'expérience à mesures répétées a été mis en œuvre. En raison de la nature longitudinalement appariée des données (les mesures ayant été collectées sur les

mêmes échantillons de caillés à différents moments d'affinage), une analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées a été jugée la méthode statistique la plus appropriée.

Le modèle d'analyse inclut le temps d'affinage (ou les différents moments de mesure) comme facteur intra-sujet et la région comme facteur inter-sujet (à quatre niveaux). Cette approche permet d'évaluer l'effet principal de la région, l'effet principal du temps, ainsi que leur interaction (c'est-à-dire si l'évolution temporelle du N-soluble diffère significativement entre les régions).

Hypothèses statistiques

Les hypothèses spécifiques testées concernant l'effet d'interaction (l'aspect le plus pertinent pour "l'évolution... entre les régions") sont les suivantes :

Hypothèse nulle (H_0) : Il n'existe pas d'interaction significative entre le facteur "Région" et le facteur "Temps d'affinage". Autrement dit, l'évolution du N-soluble (exprimé en % du N-Total) au cours de l'affinage est identique dans les quatre régions.

Hypothèse alternative (H_a) : Il existe une interaction significative entre le facteur "Région" et le facteur "Temps d'affinage". Autrement dit, l'évolution du N-soluble au cours de l'affinage diffère significativement dans au moins une des régions par rapport aux autres.

II. 3.1. Évolution des ratios NT et NS

Le **tableau 27** de données présente une tendance claire et uniforme à travers les quatre régions (Mazouna, Djidiouia, Oued Rhieu, Zemmora) durant l'affinage :

II. 3.1.1. Évolution de l'azote total (NT)

- **Tendance statistique :** Pour toutes les régions, les valeurs de NT diminuent significativement au fil du temps (de J+1 à J+15). Par exemple, à Mazouna, le NT passe de 20.65 % à J+1 à 13.30 % à J+15.

- **Explication scientifique :** Cette diminution apparente du pourcentage de NT au cours de l'affinage, comme rapporté par **Kieliszek et al (2021)**, est principalement due à la perte d'humidité (sénescence) du fromage durant le processus de maturation. L'azote total représente un pourcentage de la masse totale du fromage. À mesure que le fromage perd de l'eau par évaporation, sa matière sèche augmente. Bien que la quantité absolue d'azote reste stable (sauf pertes mineures par lessivage ou volatilisation d'ammoniac), sa concentration relative par rapport à la masse totale diminue. Il est plus précis de considérer l'azote par rapport à l'extrait

sec total (EST), qui lui resterait stable ou augmenterait légèrement si les protéines se dégradait en composants plus volatils.

II. 3.1.2. Évolution de l'azote soluble (NS)

- **Tendance statistique** : Inversement, les valeurs de NS augmentent considérablement au fil du temps dans toutes les régions (de J+1 à J+15). Par exemple, à Mazouna, le NS passe de 2.15 % à J+1 à 7.35 % à J+15.

- **Explication Scientifique** : Cette augmentation, décrite déjà dans ce sens par **Jeantet et al. (2017)**, est l'indicateur clé de la protéolyse (dégradation des protéines). L'azote soluble représente les composés azotés de plus petite taille (peptides, acides aminés libres, ammoniac) qui deviennent solubles dans des conditions spécifiques (généralement pH 4,6 ou dans l'eau). Ces petites molécules proviennent de la fragmentation des grandes protéines insolubles (principalement la caséine) par des enzymes.

II. 3.2. Analyse des différences régionales

- **Tendance statistique** : Bien que toutes les régions suivent la même tendance générale, on observe des différences subtiles. À J+15, Mazouna présente le ratio NS le plus élevé (7.35 %), tandis que Zemmora a le plus bas (6.88 %).

Ces légères variations, malgré des paramètres d'affinage contrôlés (HR, T°), suggèrent des différences dans l'intensité de la protéolyse entre les régions, potentiellement dues à :

- Des variations dans la composition initiale du lait (flore microbienne native, teneur en protéines).
- Une dominance de différentes souches bactériennes dans chaque région.
- Des variations subtiles dans les conditions d'affinage (température, pH) qui modulent l'activité enzymatique.

Les interactions entre les populations bactériennes (bactéries lactiques de type starter et non-starter) pendant la phase d'affinage des pâtes fromagères sont cruciales. Comme l'indiquent **Ounnane et al. (2020)**, ces dynamiques microbiennes culminent souvent par une lyse cellulaire (autolyse), libérant ainsi l'intégralité de leur système enzymatique intracellulaire dans la matrice fromagère. Ce pool d'enzymes est l'élément moteur de la protéolyse secondaire, un processus biochimique complexe et essentiel.

Mazouna présente systématiquement le pourcentage de NS le plus élevé à chaque point de mesure (J+5, J+10, J+15), suggérant une activité protéolytique légèrement plus intense ou plus

rapide que dans les autres régions. Zemmora présente les valeurs de NS les plus basses, indiquant un affinage potentiellement plus lent ou moins intense. Les variations sont statistiquement significatives entre les régions (marges d'erreur faibles).

Le fait que Mazouna présente une production de NS légèrement supérieure suggère une activité protéolytique bactérienne potentiellement plus intense ou différente (profil enzymatique différent) dans cette région par rapport à Zemmora. En perspectives de cette approche liée aux ratios NS, une approche novatrice consisterait à mettre en œuvre une analyse métabolomique comparative des matrices fromagères de Mazouna et Zemmora. Cette méthode permettrait d'identifier et de quantifier précisément les différentes enzymes protéolytiques *in situ*, offrant ainsi une compréhension moléculaire directe des profils enzymatiques distincts et des voies de dégradation spécifiques mobilisées dans chaque région, au-delà de la simple mesure d'acides aminés libres.

II. 3.3. Influence sur le rendement fromager contrôlé

Le rendement fromager (exprimé ici en Litres de lait par kg de fromage produit : L/kg) est une mesure d'efficacité à la transformation du lait (**Jeantet et al., 2017**).

- Données de rendement : Mazouna (8 L/kg) a le meilleur rendement (le plus faible ratio L/kg), tandis que Zemmora (8.88 L/kg) a le moins bon rendement.

Il existe une corrélation inverse entre le rendement fromager (L/kg) et la production d'azote soluble (NS à J+15) : Mazouna, qui produit le plus de NS (protéolyse la plus intense), a le meilleur rendement.

Corrélation clé : On observe une forte corrélation inverse entre le rendement fromager (L/kg) et la vitesse de protéolyse (NS%).

- Mazouna a le meilleur rendement (8.00 L/kg) et la protéolyse la plus rapide/élevée (7.35% NS).
- Zemmora a le moins bon rendement (8.88 L/kg) et la protéolyse la plus lente/faible (6.88% NS).

Le rendement fromager est principalement déterminé par la teneur initiale du lait en matière grasse et en protéines totales (caséines en particulier). Un lait plus riche en protéines donne un meilleur rendement (moins de litres par kilo de fromage).

L'analyse suggère que le lait de la région de Mazouna est de meilleure qualité protéique (plus concentré en protéines/extrait sec) que celui de Zemmora. Cette meilleure

qualité initiale pourrait également être liée à une meilleure stabilité de la matrice caséique, qui favorise peut-être une rétention plus efficace des composants pendant la coagulation et la synérèse, tout en permettant, paradoxalement, une activité enzymatique efficace lors de l'affinage.

II. 3.4. Signe des pratiques d'élevage et de conduite du cheptel

Ces résultats ne sont pas le fruit du hasard. Les différences régionales dans la qualité du lait (illustrées par le rendement) et la cinétique d'affinage (illustrée par le NS) sont des indicateurs directs des pratiques agricoles locales :

Région de Mazouna (Performance supérieure) : Les éleveurs de cette région semblent pratiquer une conduite du cheptel (alimentation, génétique, santé animale) qui favorise une production de lait riche en extrait sec total et en protéines. Un régime alimentaire équilibré et riche en protéines de haute qualité a un impact direct sur la composition du lait.

Région de Zemmora (Performance inférieure) : Les données suggèrent que le lait de cette région est potentiellement plus dilué ou moins riche en protéines, ce qui pourrait indiquer des pratiques d'élevage différentes, peut-être une alimentation moins optimisée ou une génétique de vaches laitières orientée vers le volume plutôt que la concentration.

Les données démontrent que la qualité initiale du lait (impact des pratiques d'élevage) est le facteur prépondérant du rendement fromager, tandis que l'évolution des ratios d'azote soluble reflète l'efficacité de l'affinage contrôlé, qui est lui-même potentiellement influencé par la composition initiale et la stabilité des protéines du lait de chaque région.

Les fromages des régions à meilleur rendement (Mazouna, Djidiouia) pourraient avoir une matrice protéique initiale légèrement différente ou plus dense, qui retient mieux les solides lors de la fabrication, et cette même matrice favorise peut-être une activité bactérienne plus efficace pendant l'affinage. Alternativement, l'activité protéolytique intense à Mazouna pourrait être liée à un profil bactérien qui favorise une meilleure synerèse (expulsion du lactosérum) lors du caillage initial, contribuant ainsi à un meilleur rendement en retenant un maximum de matière sèche (protéines et lipides) dans le caillé.

Les travaux de multiples chercheurs, **Fox et al. (2005) ; Kieliszek et al. (2021) ; Ounnane et al. (2020) ; Sahingil et al. (2024)**, démontrent que la protéolyse bactérienne constitue le moteur principal de la solubilité de l'azote durant l'affinage, entraînant une transformation de la qualité protéique du fromage. Cette dynamique est complexe et semble

corrélée à l'efficacité du rendement fromager initial spécifique à chaque région, influençant les caractéristiques finales du produit.

II.3.5. Cinétique d'acidification et de protéolyse

II.3.5.1. Cinétique d'acidification en conditions d'affinage contrôlées

L'évolution du potentiel hydrogène (pH) est un paramètre technologique et biochimique crucial dans la fabrication et l'affinage des fromages, en particulier pour les pâtes molles où elle influence directement la texture, la sécurité sanitaire et les qualités organoleptiques finales. Les données présentées (**Figures 45 à 48**) révèlent une variabilité significative de la durée d'affinage nécessaire pour atteindre le pH cible de 6.3, en fonction de l'origine géographique du lait cru.

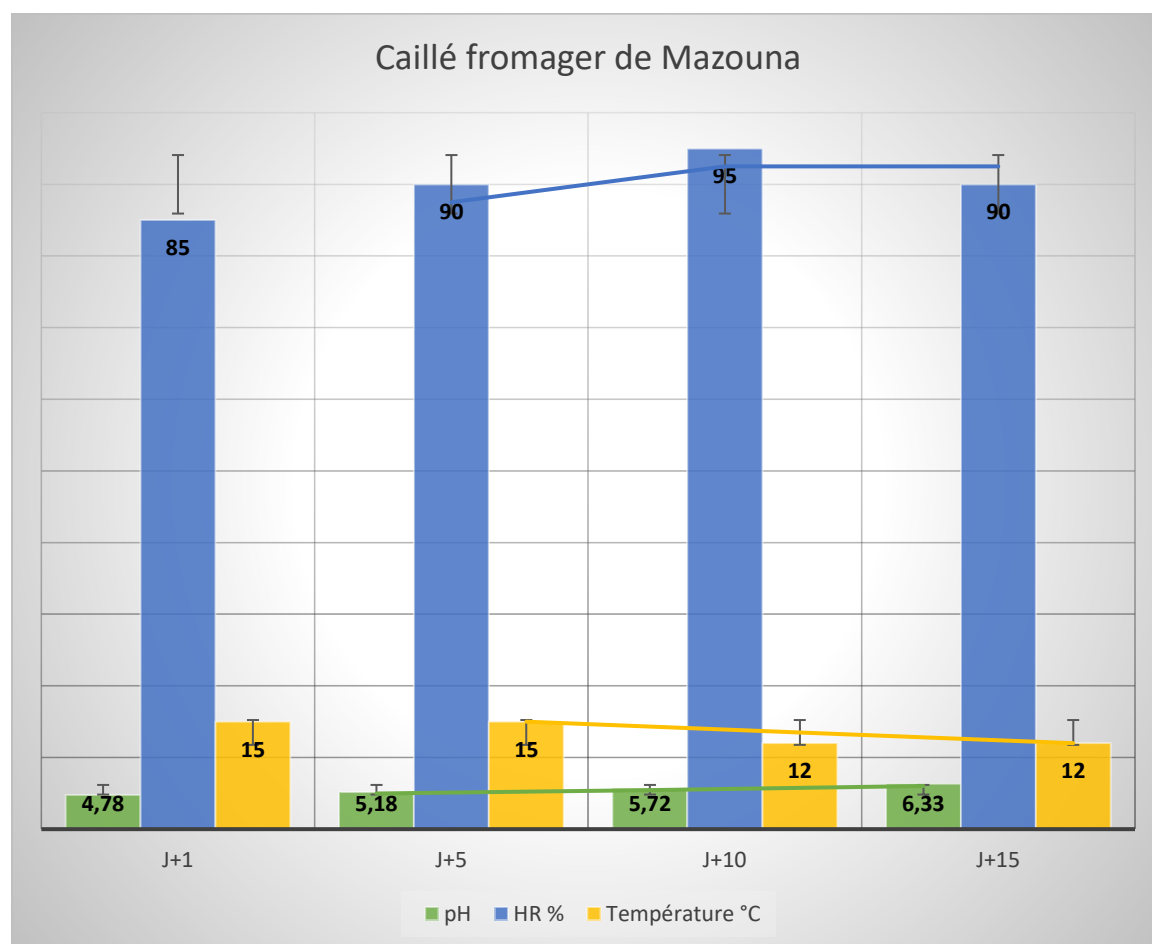


Figure 45. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Mazouna en ambiance d'affinage contrôlée

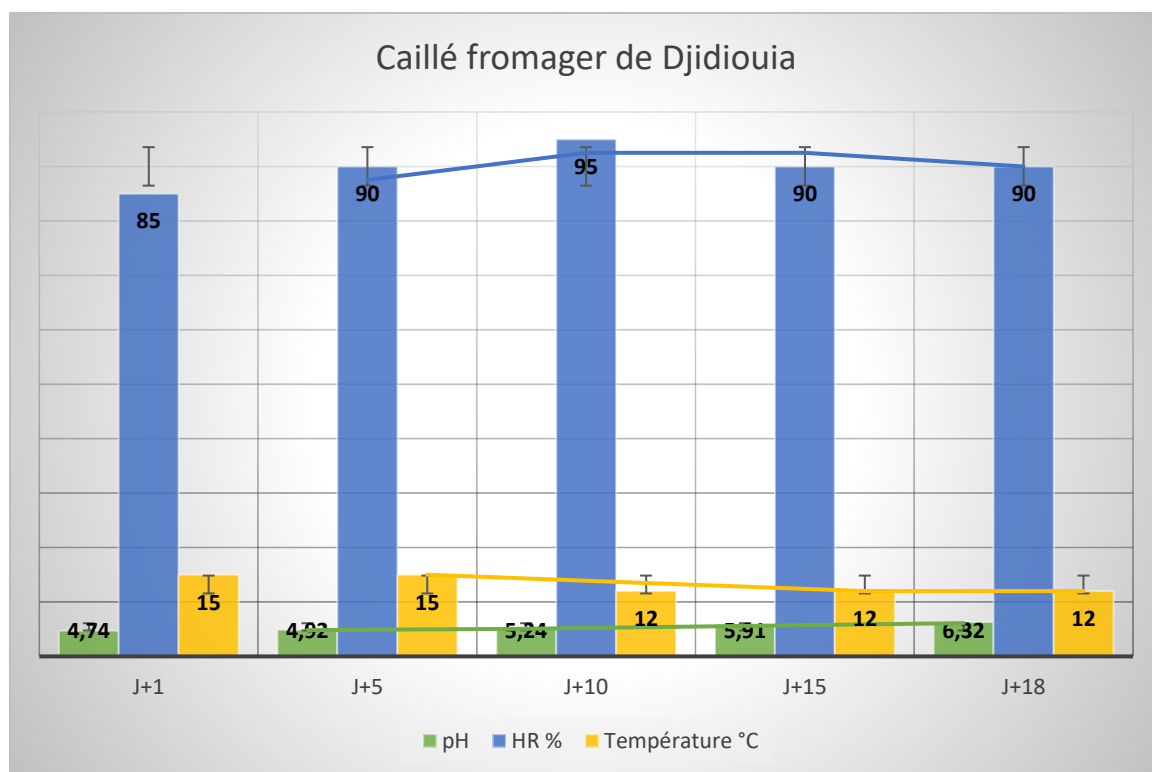


Figure 46. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Djidiouia en ambiance d'affinage contrôlée

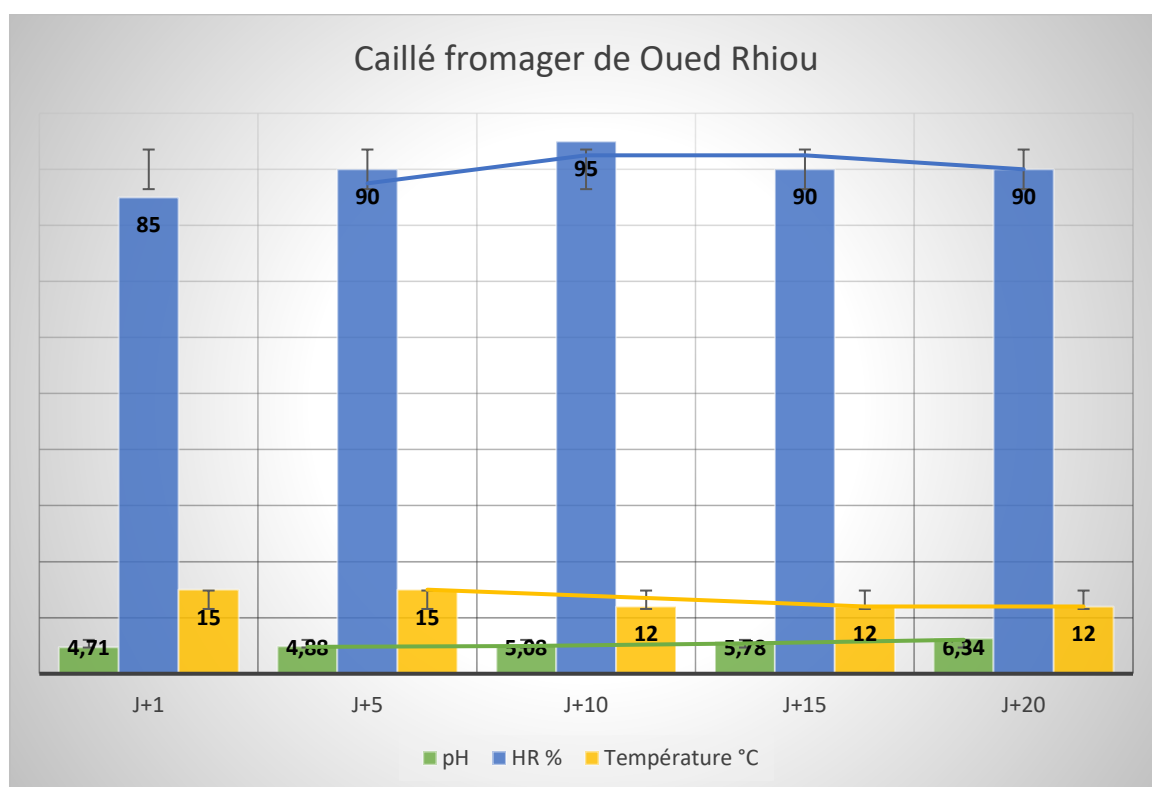


Figure 47. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager d'Oued Rhiau en ambiance d'affinage contrôlée

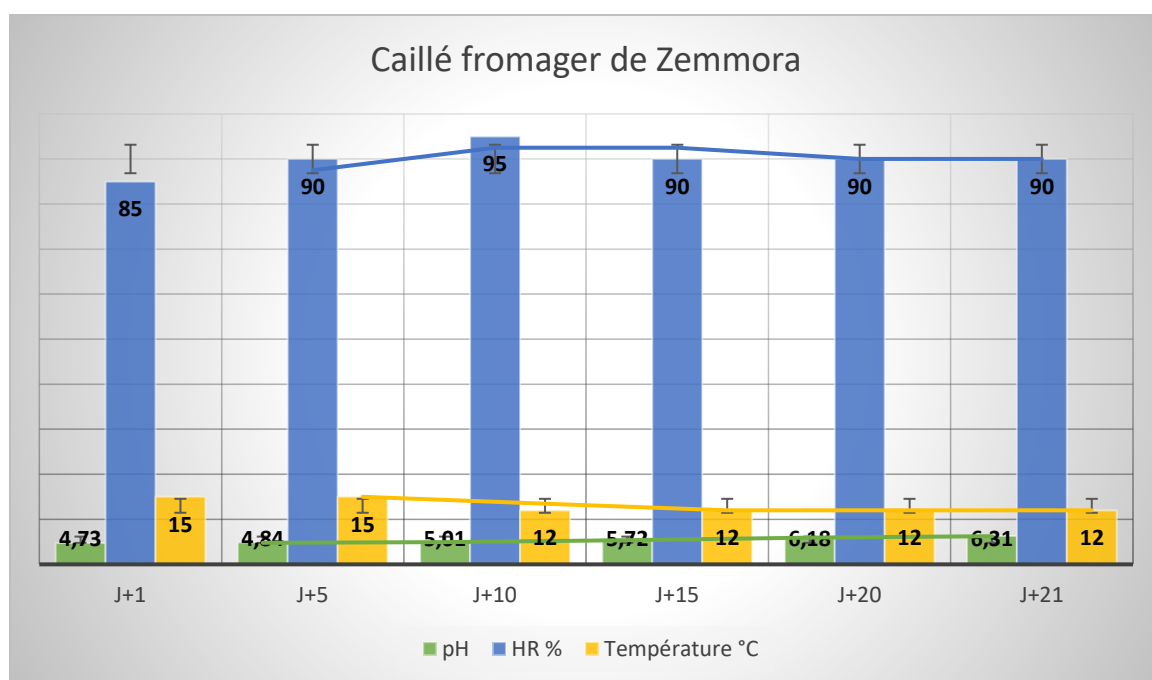


Figure 48. Cinétique d'évolution du potentiel hydrogène (pH) du caillé fromager de Zemmora en ambiance d'affinage contrôlée

II.3.5.1.1. Contrôle des paramètres d'affinage

Les conditions d'affinage contrôlées (température initiale de 15°C, puis 12°C, et humidité relative (HR) de 85% à 90%) minimisent l'influence des facteurs environnementaux externes sur la cinétique d'acidification. L'humidité élevée est typique des fromages à pâte molle pour favoriser la croissance microbienne de surface (flore de surface) et l'affinage de l'extérieur vers l'intérieur. La maîtrise de la température régule l'activité métabolique des flores bactériennes, assurant une progression constante et reproductible de l'acidification/désacidification.

Le processus décrit est une désacidification de la pâte, le pH passant d'une valeur acide post-égouttage (pH 4.7) à une valeur plus neutre ou légèrement basique en fin d'affinage (pH 6.3). Ce phénomène est caractéristique des fromages à pâte molle et est principalement dû à la protéolyse et à la production d'ammoniaque par la flore de surface, qui neutralise l'acide lactique initialement produit.

II.3.5.1.2. Variabilité Régionale des Laits

La différence de durée d'affinage (de 15 jours pour Mazouna à 21 jours pour Zemmora) pour atteindre le même pH final de 6,3, dans des conditions d'affinage identiques, ne peut

s'expliquer que par des variations intrinsèques aux laits crus eux-mêmes. Plusieurs facteurs peuvent être invoqués scientifiquement :

- **Différences dans la microflore indigène** : Le lait cru de chaque région possède une composition microbienne unique, reflétant le terroir, l'alimentation des animaux, et les pratiques d'hygiène locales. La flore lactique spécifique (bactéries lactiques) du lait de Mazouna pourrait être plus active ou quantitativement plus importante, permettant une acidification initiale plus rapide et/ou une protéolyse subséquente plus efficace pour la désacidification, raccourcissant ainsi la durée d'affinage à seulement 15 jours.
- **Composition biochimique du lait (Effet tampon)** : La teneur en protéines (caséines notamment) et en minéraux (calcium, phosphore) varie selon la race, le stade de lactation, et l'alimentation des vaches. Un lait avec un pouvoir tampon plus faible (comme potentiellement celui de Mazouna) verra son pH évoluer plus rapidement, tandis qu'un lait de Zemmora, nécessitant 21 jours, pourrait présenter une capacité tampon supérieure, ralentissant la cinétique de désacidification.
- **Activité enzymatique intrinsèque** : Les enzymes naturelles du lait (lipases, protéases) peuvent avoir des niveaux d'activité différents selon l'origine. Une activité protéolytique plus élevée pourrait accélérer la libération de composés azotés basiques, contribuant plus rapidement à la hausse du pH observée en phase d'affinage.

II.3.5.1.3. Interprétation des Figures

- **Figure 45 (Mazouna)** : Présenterait la courbe de pH la plus rapide, atteignant 6,3 en seulement 15 jours. La pente de la phase de désacidification serait la plus rapide parmi les quatre.
- **Figures 46, 47, 48 (Djidiouia, Oued Rhiou, Zemmora)** : Montreraient des courbes avec des cinétiques progressivement plus lentes (pentes moins prononcées), illustrant l'inertie croissante de la matrice fromagère face au processus de désacidification microbienne.

Les résultats confirment, dans le même cadre de ceux de **Law et al. (2010)** ; **Kecis (2018)** ; **Kieliszek et al. (2021)**, la suprématie du facteur « terroir » et de la matrice du lait cru sur la chimie de l'affinage. En dépit de la standardisation des paramètres environnementaux, la diversité des laits régionaux (Mazouna, Djidiouia, etc.) introduit une variabilité intrinsèque. Cette hétérogénéité nécessite des ajustements technologiques (durée d'affinage) pour maintenir le profil organoleptique de l'El Gafs, dont la signature physico-chimique, un pH cible de 6.3, témoigne de cette alchimie complexe entre origine et savoir-faire.

II.3.5.2. Cinétique de protéolyse en conditions d'affinage contrôlées

La Figure 49, construite à partir du Tableau 27, révèle les observations et interprétations scientifiques suivantes :

II.3.5.2.1. Déclin du NT (Azote Total) et Hausse du NS (Azote Soluble) :

La dynamique de la protéolyse

Le phénomène observé, à savoir une diminution de la concentration en azote total (NT) au profit d'une augmentation de l'azote soluble (NS), est la manifestation directe de la protéolyse. Ce processus enzymatique clé de l'affinage est régi par plusieurs acteurs :

- Les protéases natives du lait (comme la plasmine).
- Les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques (bactéries lactiques non starters et starters).

Des études démontrent de **Gobbetti et al. (2007)** ; **Law et al. (2010)** ; **Sahingil et al. (2024)**, que les enzymes protéolytiques hydrolysent spécifiquement les caséines, protéines majoritairement insolubles au sein de la matrice fromagère. Ce processus s'opère de manière séquentielle : les caséines sont d'abord dégradées en polypeptides de haut poids moléculaire, puis en peptides plus courts, et enfin en acides aminés libres, qui sont solubles.

Cette solubilisation progressive de la matière azotée induit des modifications significatives. D'une part, elle impacte la texture du fromage, entraînant le ramollissement caractéristique de la pâte. D'autre part, la libération de ces composés génère les précurseurs directs des arômes et des saveurs spécifiques au produit fini. Il est à noter que la lipolyse et la glycolyse sont également des processus biochimiques essentiels impliqués dans le développement de ces caractéristiques organoleptiques.

II.3.5.2.2. Différences régionales dans la cinétique de protéolyse

Les variations entre régions (Mazouna et Zemмора) soulignent l'influence des facteurs locaux sur l'activité enzymatique :

- **Mazouna** : Le pourcentage élevé de NS dès J+1 (2,15 %) suggère une activité protéolytique initiale significativement plus élevée. Cela peut s'expliquer par une ou plusieurs des raisons suivantes : une teneur plus importante en protéases natives dans le lait cru (liée à l'alimentation ou la santé des animaux), une flore microbienne locale spécifiquement plus active sur le plan protéolytique, ou des paramètres technologiques

de fabrication initiaux (pH, température de caillage/égouttage) favorisant l'action enzymatique.

- **Zemmora** : Le taux de NS plus bas à J+1 (1,91 %) indique un démarrage plus lent de l'hydrolyse des caséines, potentiellement dû à des facteurs inverses (moindre activité enzymatique native, flore moins protéolytique, ou pH initial plus bas limitant l'activité de certaines enzymes comme la plasmine).

II.3.5.2.3. Convergence et standardisation en fin d'affinage

La convergence des pourcentages de NS vers une valeur élevée (environ 7 %) à J+15 démontre que, malgré les différences de cinétique initiales, le processus d'affinage tend à homogénéiser le degré de protéolyse sur l'ensemble des échantillons. À ce stade avancé, la majorité des caséines accessibles ont été dégradées, et le fromage a atteint un certain niveau de maturation biochimique.

II.3.5.2.4. Rapport NS/NT : Un marqueur de typicité

Le rapport NS/NT (Azote Soluble sur Azote Total) est un indice biochimique pertinent pour caractériser le stade d'affinage et le type de fromage. Le fait que ce rapport se situe autour de 0,5 (soit 50 %) confirme la classification des produits étudiés comme des fromages à pâte molle, conformément aux normes établies par la **FIL (2018)**, dont les valeurs de référence se situent généralement entre 0,45 et 0,6 pour cette catégorie. Ce rapport élevé reflète l'étendue de la dégradation protéique, caractéristique de la texture fondante et des saveurs prononcées des fromages à pâte molle affinés.

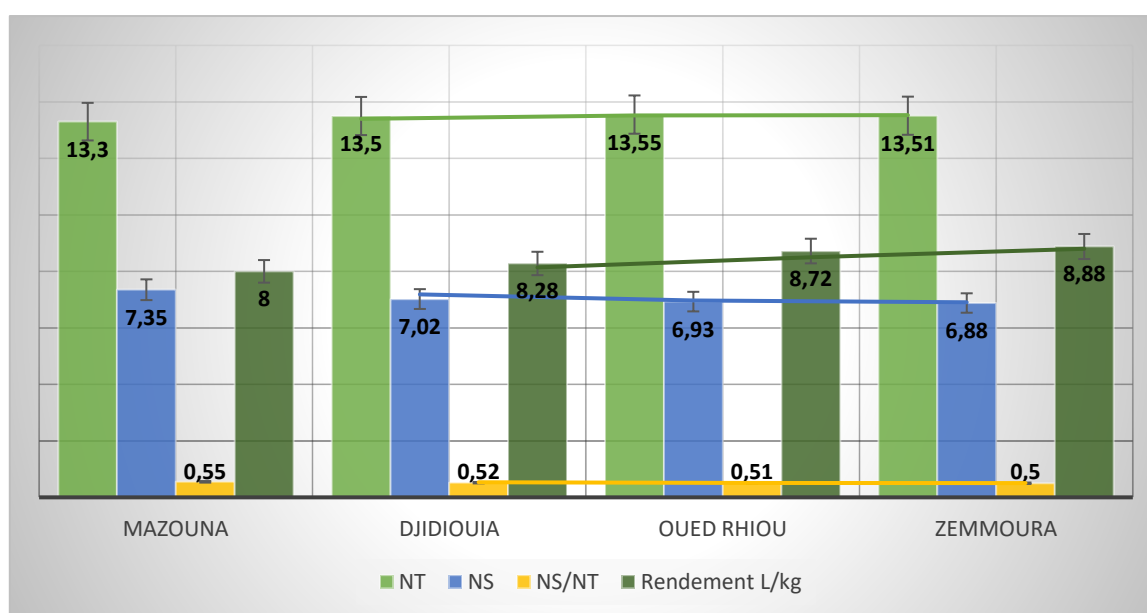


Figure 49. Cinétique de la protéolyse durant l'affinage pour les fromages des 4 régions

Différences régionales : Les variations observées dans la cinétique de protéolyse entre les quatre régions suggèrent des différences dans l'activité enzymatique du caillé. Cela pourrait s'expliquer par :

- **La composition de la flore native :** La microflore lactique (constituée de *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*) varie selon les régions, influencée par l'environnement local et les pratiques agricoles. La diversité et l'activité des protéases produites par ces bactéries peuvent différer, menant à des profils de protéolyse distincts.
- **La composition initiale du lait :** Des variations dans le taux de caséine du lait, liées à des facteurs tels que la race de vache, l'alimentation et la période de lactation, pourraient influencer le substrat initial pour les enzymes protéolytiques. Les chiffres de 22.7 % à 10,35 % pour Mazouna et de 20.18 % à 9.20 % pour Zemmora, bien que non explicités, pourraient indiquer des différences initiales dans la composition du lait.

Évolution temporelle : L'augmentation progressive de l'azote soluble témoigne de l'hydrolyse des caséines en peptides et acides aminés au fur et à mesure de l'affinage. Cette évolution n'est pas linéaire, avec une accélération de la protéolyse entre J+5 et J+10, correspondant probablement à l'établissement de la flore native et à une activité enzymatique maximale.

Corrélation avec les qualités sensorielles : Les différences observées dans la cinétique de protéolyse peuvent avoir un impact significatif sur la texture et l'arôme final des fromages. Des études complémentaires pourraient explorer les corrélations entre les données cinétiques, les profils de peptides et acides aminés (mesurés par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC, par exemple) et les évaluations sensorielles des fromages de chaque région.

Les résultats démontrent que l'origine régionale du lait a un impact significatif sur la cinétique de protéolyse du caillé fromager, probablement en raison de la composition de la flore native et des propriétés du lait initial.

Les variations observées soulignent l'importance du terroir et de la flore indigène dans la spécificité des produits fromagers traditionnels.

II.4. Essai de fabrication des 02 pâtes fromagères au microbiote contrôlé en comparaison à la pâte fromagère typique à Boussaâda J'ben El Gafs.

En industrie laitière, la qualité organoleptique des fromages résulte d'un processus sensoriel complexe, régi par l'interaction entre le profil des composés volatils, la structure

rhéologique et l'aspect visuel (Edima, 2007 ; Drake, 2007). Afin de valoriser le patrimoine fromager algérien, cette étude a porté sur la reproduction expérimentale du J'ben El Gafs, fromage traditionnel de la région de Boussaâda, au sein du laboratoire LSTPA.

L'originalité de notre démarche repose sur une approche technologique innovante : l'utilisation d'un lait épuré et reconstitué, standardisé par l'inoculation de souches microbiennes endogènes préalablement isolées et identifiées pour leurs aptitudes technologiques. Cette maîtrise du consortium microbien est une étape cruciale pour garantir la sécurité sanitaire tout en préservant l'identité sensorielle liée au terroir (Bouton et al., 2011). Ce protocole vise à s'affranchir des variabilités de la matière première brute pour tendre vers une standardisation nécessaire à l'obtention d'une pâte fromagère contrôlée (PFC). Les évaluations sensorielles comparatives entre les deux variantes expérimentales et le témoin traditionnel (J'ben El Gafs typique) sont synthétisées dans le tableau suivant.

Tableau 28. Qualité sensorielle : Résultats du test de dégustation

Examen du jury de dégustation	Note du jury sur J'ben fabriqué avec le mélange de lait des 04 régions (J'ben natif)	Note du jury sur J'ben fabriqué avec du lait reconstitué et un microbiote contrôlé	Note du jury sur J'ben typique à la région de Boussaâda « El Gafs »
Examen visuel			
Aspect de la surface	7.25±0.05	8.40±0.02	8.15±0.01
Aspect de la pâte	7.05±0.05	8.25±0.03	8.07±0.03
Examen olfactif			
Arôme apporté par le fromage	7.10±0.02	8,15±0.02	8,18±0.02
Intensité aromatique	6.85±0.05	8.35±0.02	8.38±0.02
Examen gustatif			
-Saveur apportée	6.95±0.03	8.45±0.01	8.52±0.02
Appréciation général note sur 10	7.04±0.04	8.32±0.02	8.26±0.02

II.4.1. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle révèle une supériorité nette du J'ben El Gafs (typique) et du J'ben à microbiote contrôlé par rapport au J'ben natif (mélange de 4 régions) :

II.4.1.1. Analyse de l'Examen Visuel

Le J'ben reconstitué (8.40) et El Gafs (8.15) présentent un aspect de surface nettement mieux noté que le J'ben natif (7.25). La note plus faible du J'ben natif peut s'expliquer par

l'hétérogénéité physico-chimique du mélange de laits de quatre régions différentes (variations de taux protéique et de lipides). Ce mélange peut induire une cinétique de coagulation irrégulière, menant à une synérèse (exsudation de lactosérum) instable.

L'utilisation d'un microbiote contrôlé permet une acidification standardisée, optimisant le réseau de caséine. Cela confère à la pâte une structure plus lisse et une réflexion lumineuse homogène, contrairement au mélange natif où la compétition entre flores sauvages peut créer des micro-porosités inesthétiques.

II.4.1.2. Qualités Olfactives

Le J'ben El Gafs domine sur l'intensité aromatique (8.38), suivi de près par le fromage à microbiote contrôlé (8.35). L'intensité aromatique supérieure du J'ben El Gafs témoigne d'une activité enzymatique (protéolyse et lipolyse) spécifique au terroir de Boussaâda. La flore endémique de cette région semble posséder un équipement enzymatique plus diversifié pour la production de composés volatils (esters, cétones).

Le J'ben natif (6.85) souffre d'un "effet de dilution" aromatique. Le mélange de laits neutralise probablement les spécificités olfactives de chaque région, résultant en un profil sensoriel plat ou générique.

II.4.1.3. Examen Gustatif

La saveur du J'ben El Gafs (8.52) est la mieux notée de l'étude. Cette note exceptionnelle suggère que le savoir-faire traditionnel de Boussaâda favorise une biodisponibilité optimale des précurseurs de saveur. L'équilibre entre l'acidité lactique et les notes salines/douces est ici plus harmonieux.

Le fromage à microbiote contrôlé (8.45) réussit à mimer presque parfaitement la qualité du produit typique, prouvant que la sélection de souches spécifiques est une stratégie efficace pour stabiliser la qualité commerciale. À l'inverse, le J'ben natif (6.95) présente une instabilité gustative, probablement due à une fermentation spontanée moins orientée.

L'appréciation globale consacre le J'ben à microbiote contrôlé (8.32) et le J'ben El Gafs (8.26) comme des standards de haute qualité, tandis que le J'ben natif reste en retrait (7.04).

Ces résultats démontrent que la qualité sensorielle du J'ben ne dépend pas seulement de la provenance du lait, mais de la spécificité de l'écosystème microbien. Le mélange de laits de régions disparates (J'ben natif) sans contrôle de la flore conduit à une perte d'identité sensorielle.

Pour valoriser le J'ben algérien, il apparaît crucial soit de préserver les écosystèmes locaux (modèle El Gafs), soit d'isoler des ferments indigènes issus de ces terroirs pour les inoculer dans des laits reconstitués, permettant ainsi d'allier productivité industrielle et excellence organoleptique.

II.4.2. Analyse comparative et dynamique bio-physico-chimique du J'ben « El Gafs » : Influence des écosystèmes microbiens et de la standardisation du lait.

L'analyse comparative des trois variantes de production du fromage traditionnel « El Gafs » de Boussaâda révèle des divergences technologiques et biochimiques majeures (**Tab 29**).

Tableau 29. Analyse Comparative des Variantes de Production du Fromage J'ben El Gafs

Caractéristique	Essai 1 (Flore native)	Essai 2 (Lactique contrôlée)	Essai 3 (J'ben typique)
Qualité Physico-chimique des laits			
MG/MP	1.05±0.01	1.05±0.01	1.05±0.01
pH	6.65±0.02	6.68±0.01	6.61±0.03
Taux de caséine	2.56±0.01%	2.6±0.01%	2.38±0.02%
Matière grasse	3.2±0.05%	3.4±0.02%	3.05±0.01%
Qualité du fromage fini			
G/S	33.28±0.02%	35.08±0.02%	33.49±0.01%
pH	6.52±0.03	6.12±0.01	6.58±0.02
Protéolyse (%)	7.35±0.01%	8.90±0.02%	8.15±0.01%
Qualité Sensorielle (Note /10)	7.04±0.04	8.32±0.02	8.26±0.02

Le fromage issu du lait reconstitué et standardisé présente les meilleurs scores (sensoriel : 8.32 et un score de protéolyse : 8.90 %). Cette supériorité s'explique par la maîtrise de la cinétique d'acidification.

Un pH plus bas (6.12 contre 6.52 pour le lait de mélange) favorise l'activité des enzymes protéolytiques. En Algérie, les travaux de **Benamara et al. (2023)** sur les levains indigènes

soulignent que la standardisation du ratio MG/MP (fixé ici à 1.05) est cruciale pour l'équilibre de la matrice protéique, permettant une meilleure rétention des graisses (G/S de 35.08 %).

Ces résultats corroborent ceux de **Guetouache et Medjekal (2024)**, qui démontrent que l'utilisation de souches lactiques sélectionnées améliore significativement l'onctuosité par rapport aux flores sauvages souvent instables.

Le fromage issu du lait de mélange des 4 régions affiche la note sensorielle la plus faible (7.04) et une protéolyse limitée (7.35 %).

Le pH élevé (6.52) à J+15 indique une fermentation lactique paresseuse. La flore native, bien que riche en biodiversité, nécessite souvent un temps d'adaptation ou une température d'incubation spécifique que le process standardisé ne favorise pas forcément.

Contrairement au fromage de Boussaâda authentique (J+21), ce fromage à J+15 souffre d'un manque de "signature enzymatique". La littérature algérienne actuelle (**Boudalia et al., 2022**) suggère que la variabilité saisonnière du lait de mélange dans les zones steppiques influence directement la charge microbienne, rendant la qualité sensorielle aléatoire sans un affinage prolongé.

Le fromage « El Gafs » typique, malgré un taux de caséine initial plus faible (2.38 %), atteint une excellence sensorielle (8.26) proche du modèle standardisé.

Le passage de 15 à 21 jours permet une protéolyse de 8.15 %, essentielle à la libération des peptides précurseurs d'arômes. Le pH de 6.58, bien que peu acide, témoigne d'un équilibre minéral (calcium colloïdal) typique des fromages traditionnels du sud algérien.

Selon les études de **Hamane et al. (2023)** sur les fromages traditionnels algériens, le J'ben de type Boussaâda tire sa typicité de la protéolyse secondaire. Bien que le G/S (33.49 %) soit inférieur au modèle contrôlé, la complexité organoleptique est préservée par la flore sauvage spécifique à l'écosystème de la steppe, qui compense la moindre efficacité technologique par une richesse aromatique unique.

Tableau 30. Synthèse de l'analyse comparative entre le modèle technologique contrôlé et l'affinage prolongé du fromage traditionnel de Boussaâda

Paramètre	Modèle Natif (J+15)	Modèle Contrôlé (J+15)	Typique El Gafs (J+21)
Performance Sensorielle	7.04 Moyenne	8.32 Excellente	8.26 Très Bonne
Indice de Maturité (Protéolyse)	7.35% Faible	8.90% Élevé	8.15% Équilibré
Stabilité du pH	6.52 Basique	6.12 Acide	6.58 Neutre/Typique

Observation : Les valeurs en gras indiquent des différences notables.

Modèle natif : Issu des laits des 04 régions, Modèle contrôlé : issu d'un lait reconstitué, Modèle typique : de la région de Boussaâda

Selon les résultats illustrés dans le **tableau 30** démontre que si la standardisation (modèle contrôlé) permet d'atteindre une qualité optimale en un temps réduit, le fromage traditionnel El Gafs parvient à une qualité quasi équivalente grâce à un affinage prolongé (J+21). Cela suggère que pour valoriser le patrimoine fromager algérien, l'innovation devrait s'orienter vers l'inoculation du lait de mélange par des ferments indigènes sélectionnés, permettant d'allier la sécurité technologique du modèle standardisé à l'identité sensorielle du terroir de Boussaâda.

Les résultats montrent que l'utilisation d'un lait standardisé et d'une flore lactique contrôlée améliore significativement les qualités sensorielles (note 8.32/10) et physico-chimiques (G/S 35.08%, protéolyse 8.90%) par rapport au lait brut local avec flore native (note 7.04/10) et au J'ben "El Gafs" (note 8.26/10), grâce à une meilleure maîtrise de la fermentation et une standardisation des intrants, impactant directement la texture et l'arôme, suggérant que l'industrialisation contrôlée optimise ce fromage traditionnel algérien.

II.4.2.1. Impact de la flore et de la standardisation

- a. Flore native :** Le fromage avec flore native présente la note sensorielle la plus basse (7.04/10), reflétant la variabilité du lait et des micro-organismes locaux, typique des productions artisanales.

- b. Flore contrôlée :** Le fromage avec la flore contrôlée obtient la meilleure note (8.32/10) et le meilleur % G/S (35.08%), indiquant une meilleure consistance et un meilleur développement des arômes grâce à l'ajout de ferments spécifiques, qui standardisent l'acidification et la protéolyse.
- c. El Gafs (Traditionnel) :** Le J'ben "El Gafs" se situe entre les deux (8.26/10), démontrant l'efficacité de la tradition, mais la standardisation surpasse légèrement ce résultat, suggérant des pistes d'amélioration pour le J'ben.

II.4.2.2. Paramètres physico-chimiques

- d. pH :** Le pH du fromage contrôlé (6.12) est plus bas que le fromage natif (6.52) et El Gafs (6.58), indiquant une fermentation plus intense, cruciale pour la texture et l'arôme des fromages, comme observé dans les études sur les fromages algériens.
- e. Protéolyse :** Le fromage contrôlé (8.90%) montre une protéolyse plus élevée, ce qui se traduit par une meilleure texture et une libération d'acides aminés aromatiques, expliquant la note sensorielle supérieure.
- f. % G/S :** Le fromage contrôlé avec un résultat de 35.08% a un % G/S plus élevé, indiquant une meilleure rétention de la matière grasse, souvent liée à une meilleure texture et un meilleur rendement, malgré un lait de départ standardisé avec un MG/MP similaire aux autres lots.

II.4.2.3. Comparaison avec la littérature algérienne

Des études de, **Benamara et al. (2020) ; Boudalia et al. (2020) ; Mezaini et al. (2021) Aissaoui Zitouni et al. (2022) ; Benamara et al (2023) ; Kadi et al. (2023)**, sur les fromages traditionnels algériens, comme le J'ben ou les fromages de chèvre de Kabylie, confirment que la variabilité du lait (teneur en MG/MP) et l'utilisation de ferments endogènes influencent fortement les caractéristiques finales.

L'amélioration observée avec la flore contrôlée est en accord avec les tendances d'industrialisation qui cherchent à standardiser ces productions artisanales, optimisant le rendement et la qualité, un enjeu majeur pour valoriser le fromage algérien.

L'étude démontre que, bien que le J'ben El Gafs soit déjà un produit de qualité, l'utilisation d'une flore lactique contrôlée permet d'atteindre des performances physico-chimiques (pH, protéolyse, G/S) et sensorielles supérieures, offrant ainsi une voie pour moderniser et standardiser la production de fromages algériens tout en conservant leurs attributs traditionnels.

L'analyse critique de la transformation fromagère révèle une disparité significative entre les matrices laitières : le fromage issu de flore native (lait de mélange) présente une acidité plus faible (pH 6.52) et un profil sensoriel modeste (7.04) à J+15/J+21, tandis que l'introduction d'une flore technologique maîtrisée sur lait standardisé génère une maturation accélérée, avec un pH abaissé (6.12) et une qualité organoleptique supérieure (8.32), soulignant le rôle catalytique des cultures sélectionnées. Le J'ben « El Gafs », représentant traditionnel, se distingue par son équilibre (note 8.26) et sa protéolyse modérée (8.15 %), offrant un point de référence précieux pour l'étude des processus de développement aromatique.

Le pH élevé du fromage à flore native (6.52) traduit une activité acidifiante lente, caractéristique des flores sauvages non sélectionnées, contrairement au lait reconstitué contrôlé (pH 6.12). En Algérie, les travaux de **Benamara et al. (2020)** sur les fromages traditionnels des zones steppiques soulignent que la faible charge en bactéries lactiques homofermentaires dans certains laits crus peut limiter la chute du pH, influençant ainsi la texture finale. Le pH plus stable du J'ben El Gafs (6.58) à J+21 suggère un système tampon efficace, typique des laits de régions arides riches en sels minéraux.

Le taux de protéolyse est un indicateur clé de la maturation. Nous observons une corrélation directe entre l'intensité de la protéolyse et l'appréciation sensorielle :

- **Flore contrôlée (8.90 %) :** La solubilisation protéique maximale explique la meilleure note sensorielle. Une protéolyse poussée libère des peptides précurseurs d'arômes.
- **J'ben El Gafs (8.15 %) :** Bien qu'à J+21, son taux reste inférieur au lait contrôlé, ce qui indique une maturation lente et contrôlée, préservant la typicité du terroir. Selon **Kadi et al. (2023)**, l'activité protéolytique dans les fromages algériens artisanaux est souvent liée à la présence de souches de *Lactococcus lactis* et de *Lactobacillus* indigènes qui possèdent des systèmes protéasiques spécifiques, conférant au J'ben de Boussaâda ses notes noisettées caractéristiques.

II.4.2.4. Ratio Gras sur Sec (G/S) et structure matricielle

Si la constance du ratio MG/MP à 1.05 garantit une base comparative rigoureuse, les fluctuations du taux de gras sur sec (G/S), s'étendant de 33.28 % à 35.08 %, révèlent des dynamiques de synérèse contrastées. L'élévation du G/S dans le lait contrôlé témoigne d'une efficacité accrue du piégeage des globules gras au sein de la matrice protéique. Ce phénomène semble corrélé à la cinétique d'acidification : une chute rapide du pH favoriserait une restructuration précoce et homogène du réseau de caséines, limitant ainsi l'exsudation lipidique

lors du drainage. Ces résultats s'inscrivent dans le sillage des travaux d'**Aissaoui Zitouni et al. (2022)** sur les fromages à pâte molle algériens ; ils confirment que les produits de type « J'ben » maintiennent un profil lipidique caractéristique (entre 30 % et 40 % de G/S), tout en soulignant l'influence déterminante de la maîtrise technologique sur l'optimisation du rendement matière.

La comparaison démontre que si la flore native possède une signature identitaire, la standardisation et l'inoculation contrôlée permettent d'atteindre des standards sensoriels supérieurs, proches de la perfection traditionnelle du « El Gafs ». Le J'ben de Boussaâda reste néanmoins le modèle d'excellence, prouvant que le temps de maturation (J+21) compense une technologie moins interventionniste par une complexité biochimique naturelle.

Cette étude pionnière révèle une tension fondamentale dans la production du J'ben : celle entre authenticité traditionnelle et optimisation technologique, incarnée par le duel entre la flore native et la flore contrôlée. Alors que la flore contrôlée (J+15) offre un produit plus riche (G/S 35.08%) et mieux noté (8.32/10) grâce à une protéolyse accrue, la flore native, bien que moins grasse (G/S 33.49%), maintient l'ancrage organoleptique du J'ben traditionnel (J+21, 8.26/10). Ces découvertes cruciales, inédites dans la littérature locale, démontrent le pouvoir des ferments sur l'évolution physico-chimique et sensorielle du fromage algérien, ouvrant la voie au développement de cultures starters ciblées pour valoriser soit le patrimoine, soit la performance, répondant ainsi aux exigences contradictoires du marché et de la tradition.

L'originalité de cette étude réside dans son approche biomimétique et comparative, visant à décoder le "génie microbiologique" du terroir de Boussaâda pour le transposer dans un cadre de production contrôlé. Contrairement aux approches classiques de caractérisation, cette recherche traite le J'ben non pas comme un produit figé, mais comme un écosystème dynamique où la flore native sert de modèle de référence. En confrontant empirisme traditionnel et rigueur scientifique, l'étude ne se contente pas de combler un vide documentaire ; elle établit une cartographie sensorielle et physico-chimique inédite qui transforme un savoir-faire vernaculaire en un protocole technologique optimisé. Cette démarche ouvre la voie à une "modernisation identitaire", permettant de standardiser la qualité du J'ben sans en sacrifier l'âme organoleptique, faisant ainsi de ce fromage un véritable objet de science agroalimentaire algérienne.

Il convient de souligner que cette étude constitue la première investigation scientifique en Algérie portant spécifiquement sur un fromage affiné à base de lait de vache. Jusqu'à présent,

la littérature algérienne s'est quasi exclusivement concentrée sur les fromages traditionnels frais (type J'ben) ou les laits de petits ruminants (chèvre et brebis), à l'instar des travaux de **Boudalia et al. (2020)** sur la caractérisation des systèmes d'élevage ou de **Mezaini et al. (2021)** sur la microflore du lait cru.

L'absence de référentiels locaux sur l'affinage du fromage de vache rend ces résultats pionniers. En comparant nos données avec les standards internationaux (par exemple, les travaux de **McSweeney (2017)** sur la biochimie de l'affinage), le rapport Gras sur Sec (G/S) obtenu (33% à 35%) classe ces produits parmi les fromages à pâte ferme ou demi-ferme à teneur en matière grasse modérée, s'alignant sur les standards de qualité des fromages méditerranéens affinés. Cependant, la faible acidité résiduelle ($\text{pH} > 6$) à J+15 et J+21 distingue le fromage algérien par une douceur caractéristique, s'éloignant des profils plus acides des pâtes pressées européennes.

Ces résultats démontrent que si la standardisation permet une optimisation de la qualité sensorielle et une accélération de la protéolyse, le fromage traditionnel « El Gafs » de Boussaâda maintient une identité propre grâce à une dynamique biochimique singulière. Cette recherche ouvre la voie à la labellisation des fromages affinés de vache en Algérie, comblant un vide majeur dans la littérature scientifique nationale.

II.4.2.4. Impact de la standardisation du lait sur la qualité et la reproductibilité du produit

L'étude statistique comparative par analyse de variance a permis d'offrir une bonne discussion analytique scientifiquement élaborée à base du tableau 30 et de la figure 50.

L'essai avec le reconstitué contrôlé montre des résultats statistiquement supérieurs ($p < 0.05$) pour la qualité physico-chimique (pH plus bas), l'activité protéolytique (protéolyse plus élevée) et la qualité sensorielle (note plus élevée) par rapport aux deux autres essais. Le fromage typique de Boussaâda J'ben « El Gafs » de référence, bien que supérieur en protéolyse au fromage natif, n'atteint pas le niveau de qualité sensorielle de l'essai reconstitué.

- a. pH :** L'essai reconstitué (6.12) présente un pH significativement plus bas que le fromage natif (6.52) et le fromage typique (6.58) $p < 0.05$). Ce pH plus faible peut être attribué à une activité lactique plus intense ou contrôlée, favorisant une fermentation plus poussée et une meilleure préservation du fromage.
- b. Qualité physico-chimique (G/S) :** Le fromage obtenu à partir du lait reconstitué a un taux de G/S (35.08 %) significativement plus élevé que l'essai natif (33.28 %) et le

fromage typique (33.49 %) ($p < 0.05$). Cela suggère une meilleure capacité de rétention de matière grasse, probablement due à son pH plus bas qui a une influence directe sur le caillé.

- c. **Protéolyse** : L'essai reconstitué a une protéolyse (8.90 %) significativement plus élevée que l'essai natif (7.35 %) et le fromage typique (8.15 %) ($p < 0.05$). L'activité protéolytique accrue dans l'essai reconstitué peut être liée à la standardisation de la flore lactique, qui a favorisé le développement de bactéries protéolytiques. Cela contribue à un goût et une texture plus intenses, ce qui est souvent recherché dans les fromages de qualité.
- d. **Qualité sensorielle** : L'essai reconstitué (8.32) a une note sensorielle significativement plus élevée que l'essai natif (7.04) et le fromage typique (8.26) ($p < 0.05$). Cette supériorité sensorielle est probablement due à l'effet combiné de son pH plus bas et de sa protéolyse accrue, qui ont un impact positif sur la texture, le goût et l'arôme.

L'étude révèle des corrélations intéressantes entre le procédé de fabrication, les paramètres biochimiques et la qualité perçue.

Le pH est un indicateur clé de l'activité fermentaire. Le pH significativement plus bas de l'essai 2 au lait reconstitué (6.12) par rapport à l'essai 1 natif (6.52) et au J'ben typique (6.58) indique une acidification plus poussée et rapide, probablement due à la flore lactique contrôlée et standardisée utilisée. Cette acidification accrue est souvent associée à une meilleure synérèse (égouttage) et peut influencer la texture et la conservation du fromage.

De plus, l'activité protéolytique (solubilisation des protéines) est significativement plus élevée dans l'essai au lait reconstitué. L'hydrolyse des protéines en peptides et acides aminés libres joue un rôle majeur dans le développement des arômes et de la flaveur (goût et odeur). La qualité sensorielle confirme l'impact de ces modifications biochimiques. Le fromage de l'essai 2, avec son pH plus faible et sa protéolyse plus élevée, obtient la meilleure note sensorielle (8.32), comparable au J'ben typique (8.26) mais significativement supérieure à l'essai 1 (7.04). Cela suggère que la maîtrise de la flore lactique et, par conséquent, des processus d'acidification et de protéolyse, est un facteur déterminant pour obtenir un J'ben de haute qualité organoleptique.

Le J'ben typique, bien qu'affiné plus longtemps (J+21), présente des caractéristiques (pH, protéolyse) qui se situent entre les deux essais, ce qui indique une variabilité naturelle de la flore native de la région de Boussaâda par rapport à un contrôle industriel plus strict. La note sensorielle élevée du J'ben typique valide l'attrait pour le produit traditionnel local.

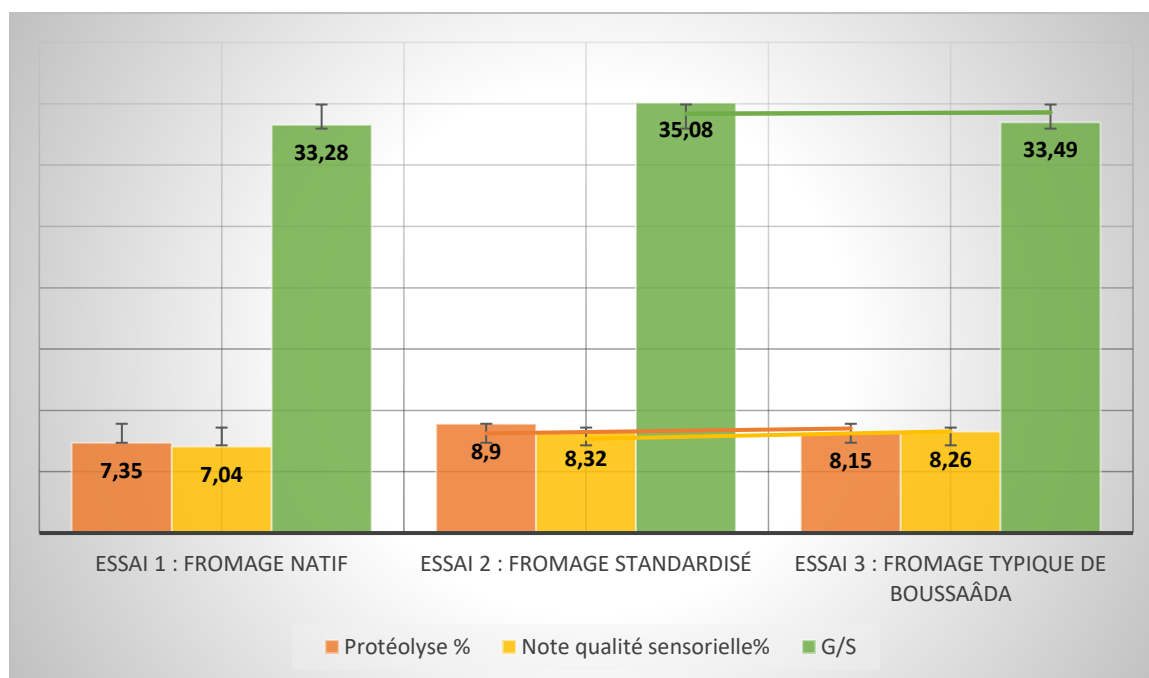


Figure 50. Comparaison de l'indice de protéolyse, du G/S et de la note sensorielle pour les trois types de fromages

Le graphique obtenu en figure 50 à base des données du **tableau 30**, met en évidence la corrélation positive apparente entre une protéolyse accrue (de 7.35% à 8.90%), une gestion du Gras sur sec G/S et une meilleure note sensorielle (de 7.04 à 8.32) des trois essais des pâtes fromagères.

L'analyse des données révèle des insights fascinants sur l'influence du processus de fabrication et de la flore microbienne sur le produit fini.

L'essai 1, utilisant une flore lactique native, présente les valeurs de pH les plus élevées (6.52) et l'indice de protéolyse le plus faible (7.35%). Ces résultats suggèrent une activité métabolique des bactéries lactiques (BAL) moins intense ou moins adaptée à la matrice fromagère que dans les autres essais. Le pH élevé en fin de maturation, proche de celui du lait initial (6.65), indique une acidification limitée, ce qui a probablement bridé l'activité des protéases. Cette inertie biochimique se traduit directement par la note sensorielle la plus basse (7.04), confirmant que l'expression optimale des qualités organoleptiques du J'ben dépend d'une protéolyse adéquate.

L'essai 2, caractérisé par une flore contrôlée et standardisée, se distingue par le pH le plus bas (6.12) et l'indice de protéolyse le plus élevé (8.90%). Le contrôle du processus a permis une acidification plus rapide et plus poussée. Un pH plus acide modifie non seulement l'environnement enzymatique, mais aussi la structure du caillé, modulant la diffusion des enzymes et l'accessibilité du substrat (caséine). Ce niveau supérieur de protéolyse, sans être

excessif au point de générer de l'amertume, a libéré une gamme optimale de peptides et d'acides aminés qui ont sublimé la flaveur, menant à la note sensorielle la plus élevée (8.32).

L'essai 3 soit du fromage J'ben typique « El Gafs », malgré une maturation plus longue (J+21) et un pH final légèrement plus élevé que l'Essai 2 (6.58 vs 6.12), atteint une qualité sensorielle presque identique (8.26). Son indice de protéolyse (8.15%) se situe entre les deux essais expérimentaux. Ce résultat est crucial : il démontre que le savoir-faire traditionnel de Boussaada, bien que moins "acidifiant" que l'essai contrôlé, atteint un niveau de complexité aromatique équivalent grâce à un temps de maturation prolongé. L'approche traditionnelle semble privilégier une protéolyse plus lente et progressive, qui pourrait générer un profil peptidique différent, tout aussi apprécié par le panel de dégustation.

Le pourcentage de matière grasse sur extrait sec (G/S) du fromage contrôlé a atteint 35.08%, se situant ainsi dans la fourchette supérieure de la norme **FIL (2018)** pour les fromages à pâte molle affinés (30-35%). Cette valeur, bien que légèrement supérieure à la moyenne de la norme (+0.08 point de pourcentage), est particulièrement remarquable. Elle témoigne d'une rétention de matière grasse optimisée, se traduisant potentiellement par une amélioration significative de la texture et du rendement fromager, ce qui représente un avantage technologique et économique notable par rapport aux productions standardisées où le lait de départ avait un rapport MG/MP similaire aux autres lots.

A travers ces résultats, l'étude démontre que le respect des normes de composition (le ratio Gras/Sec) n'est qu'un prérequis passif. La qualité supérieure d'un produit traditionnel comme le J'ben « El Gafs » ne dépend pas de la "recette" finale, mais de la cinétique (la vitesse et la trajectoire de l'acidification), transformant un indicateur de gestion en un levier de précision biologique.

L'innovation ici est d'utiliser le contrôle des flores (Essai 2) non pas seulement pour la sécurité sanitaire, mais comme un outil d'ingénierie biochimique. En maîtrisant l'acidification, on oriente spécifiquement la dégradation des protéines (protéolyse), ce qui constitue le "moteur" invisible de la texture et de l'arôme.

L'originalité consiste à "décoder" scientifiquement un savoir-faire empirique. En prouvant que la maîtrise des micro-processus biologiques surpasse les méthodes traditionnelles non contrôlées (Essai 1), l'étude transforme un produit artisanal en un modèle de biotechnologie maîtrisée, offrant une base scientifique à la notion de "qualité d'excellence".

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude démontre que la diversité microbienne des laits crus de la région ne résulte pas du hasard, mais d'une symbiose étroite entre l'animal et son écosystème. La prédominance régionale marquée par des souches d'intérêt technologique confirme que les pratiques de pâturage extensif agissent comme un vecteur de complexité biologique, transformant le lait en un véritable « conservatoire » de la microflore locale. En préservant des souches lactiques, acidifiantes et protéolytiques spécifiques, ces terroirs offrent une matière première dont la richesse enzymatique dépasse largement les standards des systèmes intensifs.

Cette étude met en exergue une hétérogénéité territoriale marquée de la qualité technologique du lait au sein de la région, structurant deux pôles de production distincts : un pôle d'excellence immédiate (Mazouna et Djidiouia) et un pôle nécessitant une ingénierie de transformation (Oued Rhiau et Zemmora).

Cette étude met en lumière une divergence biogéographique marquée dans le patrimoine microbien des écosystèmes laitiers de la région. Elle démontre que l'orographie montagneuse de Mazouna et Djidiouia ne constitue pas seulement un décor, mais un véritable réacteur biologique : en agissant comme un filtre sélectif, cet environnement façonne une microflore fonctionnelle (BAL protéolytiques et acidifiantes) d'une efficacité métabolique supérieure à celle des zones de plaine comme Oued Rhiau. La corrélation entre l'altitude, la spécificité de la niche écologique et la complexité des profils fermentaires (illustrée par les ratios de NS) confirme que le fromage artisanal est ici le produit d'un « continuum éco-biologique » allant du sol au produit fini.

Cette étude révèle que l'âme du J'ben algérien ne réside pas dans la simple origine géographique de sa matière première, mais dans la précision de son architecture microbienne. La supériorité sensorielle du J'ben à microbiote contrôlé et du J'ben El Gafs prouve que la standardisation industrielle n'est pas l'ennemie de la tradition, à condition qu'elle s'appuie sur la science des terroirs. À l'inverse, le déclin qualitatif du J'ben issu de mélanges hétérogènes souligne qu'une production de masse sans maîtrise biologique mène inévitablement à une dilution de l'identité gastronomique nationale.

Le J'ben algérien de qualité exceptionnelle, comme démontré par le J'ben à microbiote contrôlé et le J'ben El Gafs, est le fruit d'un équilibre délicat, où le microbiote local joue un rôle prépondérant. La production non maîtrisée de J'ben, résultant de mélanges de laits aux flores hétérogènes, compromet cette identité sensorielle unique.

Pour assurer la pérennité et la valorisation du J'ben algérien, il est impératif d'adopter des approches qui respectent et exploitent cette spécificité microbienne. Cela peut se traduire par la préservation des écosystèmes laitiers traditionnels dans des zones géographiques distinctes, à l'image du modèle El Gafs, afin de maintenir la richesse et l'authenticité des flores locales.

Une autre voie prometteuse réside dans l'étude et l'identification des ferments indigènes caractéristiques de ces terroirs. L'isolation et l'utilisation de ces souches microbiennes dans des procédés de production modernes, même avec des laits provenant de différentes régions ou reconstitués, permettraient de reproduire les qualités organoleptiques du J'ben traditionnel. Cette approche allie l'efficacité de la production industrielle à la sauvegarde de l'excellence gustative, assurant ainsi que le J'ben algérien conserve son âme et sa place dans le patrimoine gastronomique.

Les perspectives originales de l'étude pourraient inclure les suggestions suivantes :

- Intégration de l'analyse métagénomique : Suggérer l'utilisation de techniques de séquençage de nouvelle génération (métagénomique) pour une caractérisation plus fine de l'ensemble du microbiome (bactéries, levures, moisissures) et l'identification des gènes fonctionnels clés, offrant une compréhension moléculaire précise du potentiel technologique de chaque terroir.
- Valorisation économique : Recommander l'exploration d'une démarche de labellisation pour le J'ben des zones montagneuses. La preuve scientifique de l'unicité microbienne et éco-biologique de ces fromages, mise en évidence par l'étude, servirait de fondement solide pour la reconnaissance officielle de leur qualité et origine, ouvrant de nouvelles perspectives économiques pour les producteurs locaux.
- Création de "starters" microbiens locaux : La conception de starters autochtones de précision, issus du criblage de souches locales performantes, constitue une alternative durable à l'importation de ferments standardisés. En exploitant la diversité fonctionnelle des souches résidentes, ce projet vise à stabiliser les processus de transformation tout en préservant l'intégrité du microbiome traditionnel. Cette approche permet de transformer des écosystèmes microbiens locaux en solutions technologiques standardisées, véritables vecteurs de typicité et de sécurité sanitaire pour la production nationale.
- Étude de l'impact des pratiques pastorales sur la résilience microbienne : Proposer une étude longitudinale pour évaluer comment les variations saisonnières des pratiques de

pâturage et du climat influencent la stabilité et la résilience de cette microflore spécifique, afin d'assurer la durabilité de ce patrimoine microbien face aux changements environnementaux.

Références bibliographiq ues

Références bibliographiques

A

- Abarquero, D., Duque, C., Bodelón, R., López, I., Muñoz, J., Fresno, J., & Tornadijo, M. (2024).** Autochthonous cultures to improve the quality of PGI Castellano cheese: Impact on proteolysis, microstructure and texture during ripening. *Food research international*, 186, 114306.
- Abouzied, M., Driksna, D., Walsh, C., Sarzynski, M., Walsh, A., Ankrapp, D., Klein, F., Rice, J., & Mozola, M. (2012).** Validation Study of the BetaStar® Plus Lateral Flow Assay for Detection of Beta-Lactam Antibiotics in Milk. *Journal of AOAC International*, 95(4), 1211–1221.
- Aggad, H., Mahouz, F., Kihal, M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.* 160(12) : 590-595.
- Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., Thonart, P. (2012).** Enterococcus: biotechnical advantages and inconvenients. e. *biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 16(1), 67-76.
- Ahansaz, N., Tarrah, A., Pakroo, S., Corich, V., & Giacomini, A. (2023).** Lactic acid bacteria in dairy foods: Prime sources of antimicrobial compounds. *Fermentation*, 9(11), 964.
- Ahmadi, E., Markoska, T., Huppertz, T., & Vasiljevic, T. (2024).** Structural Properties of Casein Micelles with Adjusted Micellar Calcium Phosphate Content. *Foods*, 13(5), 785.
- Ahmed, S., Singh, S., Singh, V., Roberts, K., Zaidi, A., & Rodriguez-Palacios, A. (2022).** The Weissella Genus: Clinically Treatable Bacteria with Antimicrobial/Probiotic Effects on Inflammation and Cancer. *Microorganisms*, 10(12), 2427.
- Aidan C. Parte, Joaquim Sardà Carbasse, Jan P. Meier-Kolthoff, Lorenz C. Reimer and Markus Göker. 2020.**List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*. 70(11).
- Aissaoui Zitoun, O., Benatallah, L., Ghennam, E., & Zidoune, M. N. (2011).** Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened Bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(2), 96–100.
- Aissaoui Zitouni, A., Moulti-Mati, F., Karaali, M., & Mati, A. (2022).** Physicochemical and sensory characterization of traditional Algerian cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104523.
- Alais, C. 1984.** Science du lait, principe des techniques laitière, Edition : la maison rustique.500p.
- Alais, C., & Linden, G. (2023).** *Biochimie appliquée à la transformation laitière* (6e éd.). Éditions

Références bibliographiques

Tec & Doc.

- Alexandre. H, Grandvalet. C, Guillouxs-Benatier. M, Remize-Barnavon. F. Et Tournet-Marechal. R. (2008).** Les Bactéries Lactiques En Oenologie. Lavoisier. P 9.
- Al-Shaalan, N. H., Nasr, J. J., Shalan, S., & El-Mahdy, A. M. (2022).** Inspection of antimicrobial remains in bovine milk in Egypt and Saudi Arabia employing a bacteriological test kit and HPLC-MS/MS with estimation of risk to human health. *PLoS ONE*, 17(4), Article e0267717.
- Amer, D., Albadri, A., El-Hamshary, H., Nehela, Y., El-Hawary, M., Makhoul, A., & Awad, S. (2023).** Impact of Salting Techniques on the Physio-Chemical Characteristics, Sensory Properties, and Volatile Organic Compounds of Ras Cheese. *Foods*, 12(15), 2919.
- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., & Simpson, R. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Dans C. L. Vignola, *Science et technologie du lait : transformation du lait* (p. 600). Presse Internationale Polytechnique. Internationale polytechnique, Montréal (Canada), 600 p.
- Anastasiou, R., Kazou, M., Georgalaki, M., Aktypis, A., Zoumpoulou, G., & Tsakalidou, E. (2022).** Omics Approaches to Assess Flavor Development in Cheese. *Foods*, 11(2), 188.
- Andrade, J., Almeida, D., Domingos, M., Seabra, C., Machado, D., Freitas, A., & Gomes, A. (2020).** Commensal Obligate Anaerobic Bacteria and Health: Production, Storage, and Delivery Strategies. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.
- Andrews, A. T. (1983).** Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research*, 50(1), 45–55.
- Anumudu, C., Miri, T., & Onyeaka, H. (2024).** Multifunctional Applications of Lactic Acid Bacteria: Enhancing Safety, Quality, and Nutritional Value in Foods and Fermented Beverages. *Foods*, 13, (23), 3714.
- Apostolakos, I., Paramithiotis, S., & Mataragas, M. (2023).** Comparative Genomic Analysis Reveals the Functional Traits and Safety Status of Lactic Acid Bacteria Retrieved from Artisanal Cheeses and Raw Sheep Milk. *Foods*, 12, (3), 599.
- Asahina, Y., Hagi, T., Kobayashi, M., Narita, T., Sasaki, K., Tajima, A., & Nomura, M. (2020).** Expression profiles of milk proteolysis-related genes in *Lactobacillus paracasei* EG9, a non-starter lactic acid bacterial strain, during Gouda-type cheese ripening. *International Dairy Journal*, 110, 104812.
- Atasever, M., & Mazlum, H. (2024).** Biochemical Processes During Cheese Ripening. *Veterinary Sciences and Practices*, 19(3), 174-182.
- Ayed, L., Haddaji, N., & Ouzari, H. I. (2024).** Harnessing the techno-functional potential of lactic acid bacteria in food systems. *Foods*, 13(10), 1538.

Références bibliographiques

B

- Babazadeh, D., & Ranjbar, R. (2021).** (GTG)5-PCR mediated molecular typing of zoonotic bacteria. *World's Veterinary Journal*, 11(2), 279–283.
- Bachmann, H., Starrenburg, M. J. C., & Smid, E. J. (2023).** Microbial community interactions in cheese: From starter to surface microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1187265.
- Badis, A., laouabdia-sellami, N., guetarni, D., kihal, M., et ouzrout, R. (2005).** Caracterisation phenotypique des bacteries lactiques isolees du lait cru de chevre de deux populations locales de chèvres " arabie et kabyle ". *Sciences & Technologie*. 30-37.
- Balabanov, A., Ivanov, G., Goranov, B., Ivanova, M., & Balabanova, T. (2023).** Influence of salt concentration on microbial growth in Kashkaval cheese. *BIO Web of Conferences*. 58, 01004.
- Bano, S., Hayat, M., Samreen, T., Asif, M., Habiba, U., & Uzair, B. (2020).** Detection of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. From Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *Natural Science*, 12(5), 295–306.
- Barrangou, R., Lahtinen, S. J., Ibrahim, F., & Ouwehand, A. C. (2012).** Genus *Lactobacillus*. Dans S. Salminen, A. von Wright, & A. Ouwehand (Éds.), *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (4e éd., p. 77–91). Taylor & Francis Group.
- Basset, M., Monteil, J., Demaille, V., Faure, B., Leal-Calderon, F., Harscoat-Schiavo, C., & Savoie, R. (2023).** Whey draining of goat milk cheese: A model study using frontal filtration. *Journal of Food Engineering*, 357, 111651.
- Batt, C. A. (2000).** *Lactococcus* introduction. Dans R. K. Robinson, C. A. Batt, & P. D. Patel (Éds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2, 1164–1166. Academic Press.
- Bauland, J., Famelart, M., Bouhallab, S., Jeantet, R., Roustel, S., Faiveley, M., & Croguennec, T. (2020).** Addition of calcium and magnesium chlorides as simple means of varying bound and precipitated minerals in casein micelle: Effect on enzymatic coagulation. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9923–9935.
- Belkheir, B., Ghazlane, F., Benidir, M., Bousbia, A., Benahmed, N., & Agguini, S. (2015).** Production laitière, pratiques d'élevage et caractéristiques du lait en exploitations bovines laitières en montagne de Kabylie, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*, 27(8), 145.
- Bello, S., Rudra, B., & Gupta, R. S. (2022).** Phylogenomic and comparative genomic analyses of Leuconostocaceae species: identification of molecular signatures specific for the genera Leuconostoc, Fructobacillus and Oenococcus and proposal for a novel genus Periweissella gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(4).

Références bibliographiques

- Benamara, R. N., Benahmed, M., Ibri, K., Moussa Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2023).** Microbiological and Physicochemical Analysis of Traditional Raw Cow's Milk Cheese with Dried Lamb Rennet from Ain Sefra, Algeria. *Journal of Ethnic Foods*, 10, n° 15.
- Benamara, R., Benahmed, M., Ibri, K., Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2022).** Algerian extra hard cheese of Klila: a review on the production method, and microbial, organoleptic, and nutritional properties. *Journal of Ethnic Foods*, 9, 1-12.
- Benamara, S., Haddad, A., & Hachemi, M. (2020).** Microbiological and biochemical properties of spontaneous lactic fermentation in Algerian raw milk. *African Journal of Biotechnology*, 19(12), 389-398.
- Benheddi, W., & Hellal, A. (2019).** Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 3431-3438.
- Benkerroum, N., & Tamime, A. Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4), 399-413.
- Benkirane, G., Ananou, S., Dumas, E., Ghnimi, S., & Gharsallaoui, A. (2022).** Moroccan traditional fermented dairy products: Current processing practices and physicochemical and microbiological properties - A review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 11(6), e5636.
- Bettera, L., Levante, A., Bancalari, E., Bottari, B., & Gatti, M. (2023).** Lactic acid bacteria in cow raw milk for cheese production: Which and how many?. *Frontiers in Microbiology*, 1079313.
- Bicer, Y.; Telli, A.E.; Turkal, G.; Telli, N.; Ucar, G. 2025.** From Raw to Fermented: Uncovering the Microbial Wealth of Dairy. *Fermentation*, 11, 552.
- Bielecka, M., Cichosz, G., & Czczot, H. (2021).** Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of bovine milk proteins and their hydrolysates—A review. *International Dairy Journal*, 127, 105208.
- Bila, V., Merzlova, H., Bilyi, V., Merzlov, S., & Mashkin, Y. (2024).** Microbiological indicators of cottage cheese using different rennet leavens. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*, 26(10).
- Bintsis, T. (2018).** Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684.
- Bogiel, T., Mikucka, A., & Kanarek, P. (2022).** Agarose Gel Electrophoresis-Based RAPD-PCR—An Optimization of the Conditions to Rapidly Detect Similarity of the Alert

Références bibliographiques

- Pathogens for the Purpose of Epidemiological Studies. *Gels*, 8(12), 760.
- Bouamra, M., Doubbi Bounaoua, L., Si Djilali, M., & Ghozlane, F. (2019).** Qualité physicochimique du lait de vaches Prim'Holsteins et Montbéliardes dans l'Ouest algérien. *Livestock Research for Rural Development*, 31(2), Article 20.
- Bouchibane, M. (2023).** *Identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux : Aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté* [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem].
- Boudalia, S., Benatallah, L., Djeghim, F., et al. (2020).** Characterization of traditional Algerian cheese "Bouhezza": effect of milk species on the fresh cheese yield and organoleptic quality. *Food Science and Technology*, Campinas, 40(2), 528-537.
- Boumediene, K., Bendimerad, N., Khiri, Z., Benamar, I., Anntar, A., & Moussa-Boudjemâa, B. (2024).** Characterization of Jben: Microbiological and Physicochemical Analysis of Traditional Raw Cow's Milk Cheese with Dried Lamb Rennet from Ain Sefra, Algeria. *Asian Journal of Dairy and Food Research*.
- Bouton, Y., Buchin, S., Duboz, G., & Beuvier, E. (2011).** Diversité de la microflore du lait cru et typicité des fromages. *Revue des ENIL*, (318), 11-14.
- Braem, G., De Vlieghe, S., Supré, K., Haesebrouck, F., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2011).** (GTG)5-PCR fingerprinting for the classification and identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine milk and teat apices: a comparison of type strains and field isolates.. *Veterinary microbiology*, 147 1-2, 67-74.
- Brew, K. 2003.** Lactalbumin. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 387–419, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Briet, M., et al., 2024.** "The Effect of Milk Fat Globule Membrane (MFGM) Concentrate Addition on Ultrafiltered Goat Milk Coagulation and Fresh Cheese Rheology", *Food and Bioprocess Technology*, 17, 5324-5337.
- Bruijns, B., Hoekema, T., Oomens, L., Tiggelaar, R., & Gardeniers, H. (2022).** Performance of Spectrophotometric and Fluorometric DNA Quantification Methods. *Analytica*, 3(3), 371–384.
- Brule, G, Lenoir J. 1987.** La coagulation du lait. In : Eck A, Le fromage. Lavoisier,
- Bulut, Ç. (2003).** *Isolation And Molecular Characterization Of Lactic Acid Bacteria From Cheese* [mémoire de Master, Izmir Institute of Technology].

C

- Candeliere, F., Sola, L., Busi, E., Rossi, M., Amaretti, A., & Raimondi, S. (2024).** The Metabolism of *Leuconostoc* Genus Decoded by Comparative Genomics. *Microorganisms*,

Références bibliographiques

12.

- Čapla, J., Zajác, P., Ševcová, K., Čurlej, J., & Fikselová, M. (2023). Overview of the milk and dairy products legislation in the European Union. *Legestic*.
- Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food Fermentations: Role Of Microorganisms In Food Production And Preservation. *International Journal Of Food Microbiology*. 50, 131-149.
- Cayot P., Lorient D. 1998. Structures et technoformations des protéines du lait Technique & Documentation, Paris, 363p.
- Chandan, R. C., & Kilara, A. (2022). Dairy Processing and Quality Assurance: Science, Technology, and Applications (3rd ed.). *Wiley-Blackwell*.
- Chen, C., Chen, L., Li, W., Chang, K., Kuo, M., Chen, C., & Hsieh, J. (2021). Influence of Chymosin on Physicochemical and Hydrolysis Characteristics of Casein Micelles and Individual Caseins. *Nanomaterials*, 11.
- Chen, C., Guo, T., Wu, D., Shu, J., Huang, N., Tian, H., Yu, H., & Ge, C. (2025). Study on Lacticaseibacillus casei TCS fermentation kinetic models and high-density culture strategy. *Microbiology Spectrum*, 13(2), e02590-24.
- Chen, W., Hang, F. (2019). Lactic Acid Bacteria Starter. In: Chen Jiangnan, W. Lactic Acid Bacteria Bioengineering and Industrial Applications. *Springer Nature Singapore Pte Ltd. and Science Press*. pp. 93-144.
- Chen, X., Li, W., & Zhang, H. (2024). Biochemical mechanisms of lactic acid coagulation in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 107(2), 150-165.
- Chen, X., Wang, T., Jin, M., Tan, Y., Liu, L., Liu, L., Li, C., Yang, Y., & Du, P. (2020). Metabolomics analysis of growth inhibition of *Lactobacillus plantarum* under ethanol stress. *International Journal of Food Science and Technology*. 55, 3441–3454
- Chialva, C. S., Avila, H. G., & Pungitore, C. R. (2018). Inhibition of Taq DNA Polymerase and Human Topoisomerase I by Resveratrol Derivatives. *Current Organic Synthesis*, 14(4), 461–466.
- Chiesa, L. M., DeCastelli, L., Nobile, M., Martucci, F., Mosconi, G., Fontana, M., Castrica, M., Arioli, F., & Panseri, S. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *LWT*, 131, 109783.
- Chintagavongse, N., Kumura, H., Hayakawa, T., Wakamatsu, J., & Tamano, K. (2024). Identification of cheese rancidity-related lipases in *Aspergillus oryzae* AHU 7139. *Journal of bioscience and bioengineering*, 137,(5),381-387.
- Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Stocco, G., & Bittante, G. (2016). The 9-MilCA method as a

Références bibliographiques

- rapid, partly automated protocol for simultaneously recording milk coagulation, curd firming, syneresis, cheese yield, and curd nutrients recovery or whey loss. *Journal of dairy science*, 99 (2), 1065-1082.
- Claeys, W. L., De Block, J., & Herman, L. (2023).** Milk composition and properties: impact of species, diet and processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 650–672.
- Coelho, M., Malcata, F., & Silva, C. (2022).** Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. *Foods*, 11.
- Collins, Y., McSweeney, P., & Wilkinson, M. (2003).** Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Research*, 70, 105 – 113.
- Commission européenne. (2002).** *Décision de la Commission du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne la performance des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (2002/657/CE).* *Journal officiel de l'Union européenne*, L 221, 8–36.
- Commission européenne. (2010).** *Règlement (UE) n° 37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en fonction des limites maximales de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale.* *Journal officiel de l'Union européenne*, L 15, 1–72.
- Creamer, L.K. 2003.** Casein nomenclature, structure and association properties. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (eds H. Roginski, J.W. Fuquay & P.F. Fox), pp. 1895–1902, Academic Press, Amsterdam.
- D**
- Dahou Abdelkader Elamine, Ali, B. A. M., & Abdelkader, H. (2021).** Identification of a *Lactococcus lactis* Isolated from a Fresh Local Cheese of the Western Algerian Steppe “J’ben of Naama”. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 40(1), 40–44.
- Dahou Abdelkader Elamine, Bekada Ahmed Mohammed Ali., Homrani, A., Latreche, B., et Ait Saada, D. (2017).** Effect of processing technology on the biodiversity of the Bacterial flora of an Industrial cheese camembert soft type. *Advanced Bioresource*, 8(6), 197–207.
- Dahou, A. A., Doukani, K., Tahlaiti, H., Bouhenni, H., Bekihal, A., et Doubbi-Bounouaa, L. (2024).** Assessment of the Functional Potential of Two Autochthonous Lactic Strains of Lactobacilli Isolated from Algerian Dairy Products. *Asian Journal of Dairy and Food Research*.43(4),643-649,
- Dahou, A. A., Medjahed, M., Aissaoui, C., et Homrani, A. (2021).** Approche préliminaire sur la

Références bibliographiques

- fromageabilité des laits collectés au niveau d'une fromagerie industrielle. *Revue Algérienne des Sciences*, 6(1), 34–39.
- Dahou, A. E.-A. (2017).** *Etude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques*. [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem].
- Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien « type j'ben » : connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique Science*, 11(6), 1–13.
- Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., Bekada, A., et Meghoufel, N. (2016).** Caractérisation phénotypique et génotypique de deux *Lactobacillus* isolés d'un fromage traditionnel frais type J'ben. *Afrique Science*, 12(6), 14–22.
- Daniloski, D., McCarthy, N., Huppertz, T., & Vasiljevic, T. (2022).** What is the impact of amino acid mutations in the primary structure of caseins on the composition and functionality of milk and dairy products? *Current. Research in Food Science*, 5, 1701 - 1712.
- Das, S., Mitra, S., Garg, P., Mallick, A., Priyadarshini, S., & Sharma, S. (2021).** Efficacy of voriconazole and amphotericin B in corneal preservative media. *Indian Journal of Ophthalmology*, 70, 90 - 94.
- De Filippis, N.C.F., Valentino, V., Yap, M., Cabrera-Rubio, R., Barcenilla, C., Cobo-Díaz, J.F, Martín Quijada, N., Calvete-Torre, I., Ruas-Madiedo, P., Sabater, C., Sequino, G., Pasolli, E., Wagner, M., Margolles, A., Segata, N., Ercolin, A.O.D. (2024).** Microbiome mapping in dairy industry reveals new species and genes for probiotic and bioprotective activities Check for updates. *Npj Biofilms and Microbiomes*.10 , n°67.
- De Souza, R. A. S., Saldanha-Corrêa, F. M. P., Gallego, A. G., & et al. (2020).** Semi-quantitative determination of ash element content for freeze-dried, defatted, sulfated and pyrolysed biomass of *Scenedesmus* sp. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1), 63.
- Deddefo, A., Mamo, G., Asfaw, M., & Amenu, K. (2023).** Factors affecting the microbiological quality and contamination of farm bulk milk by *Staphylococcus aureus* in dairy farms in Asella, Ethiopia. *BMC Microbiology*, 23.
- Deddefo, A., Mamo, G., Leta, S., & Amenu, K. (2022).** Prevalence and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* in raw milk and milk products in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Food Contamination*, 9, 1-21.
- Delaunay, L., Cozien, E., Gehannin, P., Mouhali, N., Macé, S., Postollec, F., Leguerinel, I., &**

Références bibliographiques

- Mathot, A. (2021).** Occurrence and diversity of thermophilic sporeformers in French dairy powders. *International Dairy Journal*, 113, 104889.
- Derouiche, M., & Zidoune, M. N. (2015).** Characterization of a traditional Michouna cheese from the region of Tébessa, Algeria. *Livestock Research for Rural Development*, 27(11).
- Dhanashree, S., Rajashekharan, B., Krishnaswamy, R., & Kammara, R. (2017).** Bifid Shape Is Intrinsic to *Bifidobacterium adolescentis*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 478.
- Dherbécourt, J., Lortal, S., Valence, F., Gagnaire, V., & Thierry, A. (2021).** Microbial and biochemical bases of cheese flavor development: From diversity to complexity. *International Dairy Journal*, 121, 105097.
- Di Marzo, L., Pranata, J., & Barbano, D. (2021).** Measurement of casein in milk by Kjeldahl and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7448–7456.
- Dinau, F., Ribeiro, L., Buchignani, B., Felício, J., Santomauro, R., Da Cruz Encide Sampaio, A., Cézar, C., Caron, E., Possebon, F., Pereira, J., & Martins, O. (2024).** Physicochemical evaluation of sodium hydroxide solutions for lactic acid determinations in milk. *Food Science and Technology*. 41 (3),799-806.
- Doğan, E. (2025).** Investigation of β -lactam antibiotic residues in cow's milk collected from Ardahan Province. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 13(6), 1521–1525.
- Doi, K., Nishizaki, Y., Fujino, Y., Ohshima, T., Ohmomo, S., & Ogata, S. (2009).** *Pediococcus lolii* sp. nov., isolated from ryegrass silage. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59 Pt 5, 1007-10.
- Doukaki, A., Papadopoulou, O. S., Baraki, A., Siapka, M., Ntalakas, I., Tzoumkas, I., Papadimitriou, K., Tassou, C., Skandamis, P., Nychas, G.-J., & Chorianopoulos, N. (2024).** Effect of the Bioprotective Properties of Lactic Acid Bacteria Strains on Quality and Safety of Feta Cheese Stored under Different Conditions. *Microorganisms*, 12(9), 1870.
- Drake, M. A. (2007).** Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 4925-4937.
- Du, B., Meng, L., Liu, H., Zheng, N., Zhang, Y., Zhao, S., & Wang, J. (2022).** Single Molecule Real-Time Sequencing and Traditional Cultivation Techniques Reveal Complex Community Structures and Regional Variations of Psychrotrophic Bacteria in Raw Milk. *Frontiers in Microbiology*, 13.
- Duar, R. M., Lin, X. B., & Walter, J. (2023).** Ecological versatility of *Lactobacillus* and its reclassified taxa across host-associated and environmental niches. *Frontiers in*

Références bibliographiques

Microbiology, 14, 1204231.

Durango Zuleta, M. M., Grisales Rojas, L. F., Sepúlveda Valencia, J. U., Valdés Duque, B. E., & Moreno-Herrera, C. X. (2023). Growth Kinetics of Autochthonous Lactic Acid Bacteria Isolated from Double Cream Cheese as Potential Starter Culture. *TecnoLógicas*, 26(57), e2657.

E

ECK et GILLIS J.C. (2006) : Le fromage, Lavoisier, 3eme édition, Paris. P.874.

Edelberg, S. C., Pittman, S., & Singer, J. M. (1977). The use of bile-esculin agar for the taxonomic classification of the family Enterobacteriaceae. *Antonie van Leeuwenhoek*, 43(1), 31–35.

Edima. Helene. Carole. (2007). Carnobacterium Maltaromaticum : Caracteristiques Physiologiques Et Potentialites En Technologie Fromagere. Autre. Institut National Polytechnique De Lorraine. Français. P 5.

El Ahmadi, K., Haboubi, K., El Allaoui, H., El Hammoudani, Y., Bouhrim, M., Eto, B., Shahat, A. A., & Herqash, R. N. (2025). Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria for antimicrobial potential from raw milk. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1565016.

Ennuyer M., Laumonnier G., 2013. Vade-Mecum de gestion de l'élevage bovin laitier Editions MED'COM, Paris, 478p.

Ermenlieva, N., Georgieva, E., Tsankova, G., Todorova, T., & Mihaylova, S. (2021). SUGGESTION FOR AN OPTIMAL MODEL FOR E. coli, S. aureus AND C. albicans preservation at a storage temperature in the range of 4°C to -20°C. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 27(4), 4038–4041.

Erukainure Ochuko L., Veronica F. Salau, Opeyemi O. Alabi, Osaretin A. T. Ebushi, Neil A. Koorbanally, & Shahidul Islam. (2020). Casein micelles from bovine Milk exerts Neuroprotection by stalling metabolic complications linked to oxidative brain injury. *Metabolic Brain Disease*.

Esmailzadeh, P., Mizani, M., Ehsani, M., & Givianrad, M. (2025). Characterization of a traditional ripened cheese, Kurdish Kope cheese: Proteolysis, microstructural, and rheological characteristics. *Journal of food science*, 90 4, e70107.

Estrada, O., Ariño, A., & Juan, T. (2019). Salt Distribution in Raw Sheep Milk Cheese during Ripening and the Effect on Proteolysis and Lipolysis. *Foods*, 8

F

F.I.L. (2018). Normes de la Fédération Internationale du Lait « F.I.L », d'évaluation de la qualité hygiénique, microbiologique et physico-chimiques des laits : Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018. Normes définies pour les analyses microbiologiques et chimiques des produits

Références bibliographiques

- laitiers. Bruxelles (Belgique).
- FAO et FIL. 2005.** « Guide de bonnes pratiques en élevage laitier. » Fédération Internationale de Laiterie et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, (2005), 38 p.
- Farkye, N.Y., Imafidon, G.I. (1995)** Thermal denaturation of indigenous milk enzymes. In: Heat-Induced Changes in Milk (ed. P.F. Fox), Special Issue No. 9501, pp. 331–348, International Dairy Federation, Brussels.
- Farnsworth, R. J., et al. (2023).** Proteomic analysis of peptide metabolism during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 106(3), 1452–1466
- Fayolle L., 2015.** Le lactose, indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ?. Thèse de doctorat : sciences vétérinaires. Lyon : Campus vétérinaire de Lyon, 2015, 141 p.
- Fisher, K. & Phillips C., (2009).** The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155, 1749-1757.
- Florence C. L., 2010.** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voie d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorat : Faculté de médecine de Créteil. Créteil, 2010, 128 p.
- Foroutanparsa, S., Bröls, M., Maljaars, C., Tas, R., & Voets, I. (2023).** Spatial distribution of alpha s1-caseins and beta-caseins in milk gels acidified with glucono-delta-lactone. *Food Hydrocolloids*. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109151
- Foroutanparsa, S., Bröls, M., Tas, R. P., Maljaars, C. E. P., & Voets, I. K. (2021).** Super resolution microscopy imaging of pH induced changes in the microstructure of casein micelles. *Food Structure*. **30** (volume).
- Fossi, B. T., & Ndjouenkeu, R. (2017).** Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from "Gari" a cassava-based African fermented food. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(4), 001–005.
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (2017).** Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. *Elsevier Academic Press*. 1302p.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2022).** Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology (5th ed.). Academic Press.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2017).** Dairy Chemistry and Biochemistry (2nd ed.). Springer.
- Fox, P.F. 2003a.** Milk proteins: general and historical aspects. In: Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 1–48, Kluwer

Références bibliographiques

Academic/Plenum Publishers, New York.

Fox, P.F. 2003b. Indigenous enzymes in milk. In: Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 467–471, *Kluwer Academic/Plenum Publishers*, New York.

Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., & McSweeney, P.L.H. (2017). Enzymatic Coagulation of Milk. In: *Fundamentals of Cheese Science* (2e éd.). Springer.

Fox, P.F., Singh, T.K. and McSweeney, P.L.H. (2005). Proteolysis in Cheese During Ripening. *Food Reviews International*, In book : Biochemistry of milk products, Chapter : Proteolysis in cheese during ripening, Publisher : Woodhead Publishing, Editeurs : A. T. Andrews ; J. Varley. 12(4) :1-31.

France, T., Kelly, A., Crowley, S., & O'Mahony, J. (2023). Influence of processing temperature on plasmin activity and proteolysis in process streams from cold microfiltration of skim milk. *International Dairy Journal*.140.

Freire, P., Zambrano, A., Zamora, A., & Castillo, M. (2022). Thermal Denaturation of Milk Whey Proteins: A Comprehensive Review on Rapid Quantification Methods Being Studied, Developed and Implemented. *Dairy*.

Freire, T., Tolentino e Silva, A. L., Oliveira Ferreira, B. K., & Moreira dos Santos, T. (2023). *Lactic acid bacteria: characteristics and importance – review. Research, Society and Development*, 10(11).

Freitas, R., Nero, L., & Carvalho, A. (2009). Technical note: enumeration of mesophilic aerobes in milk: evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3069–3073.

Fusch G., Choi A., Rochow N., Fusch C. 2011. Quantification of lactose content in human and cow's milk using UPLC-tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography B*, 879,3579-3762.

Fuso, A., Bancalari, E., Castellone, V., Caligiani, A., Gatti, M., & Bottari, B. (2023). Feeding Lactic Acid Bacteria with Different Sugars: Effect on Exopolysaccharides (EPS) Production and Their Molecular Characteristics. *Foods*, 12.

G

G.M. Vacca, C. Cipolat-Gotet, P. Paschino, S. Casu, M.G. Usai, G. Bittante, M. Pazzola, (2019) Variation of milk technological properties in sheep milk: Relationships among composition, coagulation and cheese-making traits,*International Dairy Journal*, Volume 97, ,Pages 5-14.

Gagnaire, V., Carpino, S., Pediliggieri, C., Jardin, J., Lortal, S., & Licitra, G. (2011). Uncommonly thorough hydrolysis of peptides during ripening of Ragusano cheese revealed

Références bibliographiques

- by tandem mass spectrometry.. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59 23, 12443-52.
- Gagnaire, V., Lecomte, X., Richoux, R., Genay, M., Jardin, J., Briard-Bion, V., Kerjean, J., & Thierry, A. (2022).** Little Impact of NaCl Reduction in Swiss-Type Cheese. *Frontiers in Nutrition*, 9.
- Garcia, M., Tremblay, J., & Bérubé, N. (2022).** Impact of milk composition on the quality of lactic cheeses. **International Dairy Journal**, *134*, 104-112.
- Garvie. E. I. (1984).** Taxonomy And Identification Of Bacteria Important In Cheese And Fermented Dairy Products., In *Advances In The Microbiology And Biochemistry Of Cheese And Fermented Milk*, Edited By F. L. Davies And B. A. Law (Elsevier Applied Science Publishersltd.England. P 35, 67.
- Gastélum-Barrios, A., Soto-Zarazúa, G., Escamilla-García, A., Toledano-Ayala, M., Macias-Bobadilla, G., & Jáuregui-Vázquez, D. (2020).** Optical Methods Based on Ultraviolet, Visible, and Near-Infrared Spectra to Estimate Fat and Protein in Raw Milk: A Review. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 20.
- Gavzy, S., Kensiski, A., Lee, Z., Mongodin, E., B., & Bromberg, J. (2023).** Bifidobacterium mechanisms of immune modulation and tolerance. *Gut Microbes*, 15.
- Gele M., Boutinaud M., Guinard-Flament J., Le Provost F., Leduc A., Leroux C., Pires J. 2024.** BIOMARQ'LAIT –Identification dans le lait de biomarqueurs pour le monitoring du statut nutritionnel de la vache laitière. *Innovations Agronomiques* 94 (2024), 358-371.
- Ghezal, M., Hammadou, B.B., Kouachi, K., Spiteri, P., Koliopoulos, T., Mebarek-Oudina, F. (2025).** Environmental Management Study of Dairy Cattle Farming in the Peri-Urban Area of Algiers, Algeria. *Sustainability* 2025, 17, 10912.
- Gillot, G., Jany, J., Poirier, E., Maillard, M., Debaets, S., Thierry, A., Coton, E., & Coton, M. (2017).** Functional diversity within the *Penicillium roqueforti* species. *International journal of food microbiology*, 241, 141-150.
- Głąb, T., & Boratýnski, J. (2017).** Potential of Casein as a Carrier for Biologically Active Agents. *Topics in Current Chemistry (Cham)*, 375.
- Glasser F, Ferlay A, Chilliard Y. 2008.** Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 2008a;91:4687–4703.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Rizzello, C. G. (2007).** Mechanisms of formation of flavour compounds in cheese. *Dairy Science & Technology* (formerly *Le Lait*), 87(3), 167-196.

Références bibliographiques

- Green, M., & Sambrook, J. (2019).** Agarose Gel Electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(1), pdb. Prot100404.
- Grossiord, B., Luesink, E. J., Vaughan, E. E., Arnaud, A., & de Vos, W. M. (2003).** Characterization, Expression, and Mutation of the *Lactococcus lactis galPMKTE* Genes, Involved in Galactose Utilization via the Leloir Pathway. *J Bacteriol* 185.
- Grujović, M., Marković, K., Morais, S., & Semedo-Lemsaddek, T. (2024).** Unveiling the Potential of Lactic Acid Bacteria from Serbian Goat Cheese. *Foods*, 13.
- Guetouache, M. et Medjekal, S. (2024).** Transformation des produits alimentaires par des enzymes : Cas des Fromages et Protéolyse. *Éditions Universitaires Européennes*. Pages : 85-112.
- Guiraud, J. P, Et Rosec, J. P. (2004).** Pratiques Des Normes En Microbiologie Alimentaire. Afnor. P 237- 251.
- Gunther H.,White H.R., 1961.** The cultural and physiological characters of the pediococci. *J.Gen .Microbiol.* 26: 185-97.
- Gustavsson, M., & Gustafsson, S. (2006).** Thermal conductivity as an indicator of fat content in milk. *Thermochimica Acta*, 442, 1-5.
- H**
- Hakim, B., Xuan, N., & Oslan, S. (2023).** A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria: Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods*, 12.
- Hamane, S., Atmani, S., Hamane, F., & Adjlane-Khelifi, A. (2023).** Effect of the substitution of rennet by chicken pepsin in the coagulation of milk for cheese processing. *Journal of Natural and Social Sciences*, 1(1), pages 46-52.
- Hamdaoui, N., Rokni, Y., Asehraou, A., Mouncif, M., Mennane, Z., Omari, A., Sellam, A., Hammouti, B., & Meziane, M. (2022).** Technological Aptitude and Sensitivity of Lactic Acid Bacteria *Leuconostoc* Isolated from Raw Milk of Cows: From Step-by-Step Experimental Procedure to the Results. *Indonesian Journal of Science and Technology*.
- Hammi. ikram. (2016).** Isolement et caracterisation de bacteriocines produites par des souches de bacteries lactiques isolees à partir de produits fermentes marocains et de differentes varietes de fromages français. *Chimie analytique. universite de strasbourg*. P 2, 7, 40.
- Hardie. J. M, whiley. R. A. (1997).** Classification et aperçu des genres streptococcus et enterococcus j. appl. microbiol. *supplement symposium*, 83. P 1- 11.
- He, X., Tang, H., & Liu, Y. (2023).** Taxonomic and phylogenomic update on lactic acid bacteria: from classical grouping to genomic classification. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1189124.
- Herdian, H., Istiqomah, L., Damayanti, E., Suryani, A. E., Anggraeni, A. S., Rosyada, N., &**

Références bibliographiques

- Susilowati, A. (2018).** Isolation of Cellulolytic Lactic-Acid Bacteria from Mentok (*Anas moschata*) Gastro-Intestinal Tract. *Tropical Animal Science Journal*, 41(3), 200-206.
- Hernández-Arencia, P., Saavedra, P., Iruzubieta, C., Monzón, E., & Sanjuán, E. (2024).** Taste Panellists' Evaluations in Official Cheese Competitions: Analysis for Improvement Proposals. *Foods*, 13(2), 296.
- Hernández-Ramos, P., Vivar-Quintana, A., & Revilla, I. (2019).** Estimation of somatic cell count levels of hard cheeses using physicochemical composition and artificial neural networks. *Journal of dairy science*, 102 2, 1014-1024.
- Holt, C. 1992.** Structure and stability of bovine casein micelles. *Advances in Protein Chemistry*, 43, 63–151.
- Holzappel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillingeru., 2001.** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin.Nutr.*73: 365-373.
- Horne, D. S. (2020).** *Casein micelle structure: Models and maturation*. *Dairy Science & Technology*, 100, 287-305.
- Hristov, P., Mitkov, I., Sirakova, D., Mehandgiiski, I., & Radoslavov, G. (2016).** Measurement of Casein Micelle Size in Raw Dairy Cattle Milk by Dynamic Light Scattering. In *Milk Proteins–From Structure to Biological Properties and Health Aspects*. InTech.
- Huang, C., Zhang, L., Johansen, P., Petersen, M., Arneborg, N., & Jespersen, L. (2021).** *Debaryomyces hansenii* Strains Isolated From Danish Cheese Brines Act as Biocontrol Agents to Inhibit Germination and Growth of Contaminating Molds. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Hueso, D., Delgado, D., Gallo, V., Gómez-Guillén, M. C., Fontecha, J., & Gómez-Cortés, P. (2024).** The Effect of Milk Fat Globule Membrane (MFGM) Concentrate Addition on Ultrafiltered Goat Milk Coagulation and Fresh Cheese Rheology. *Food and Bioprocess Technology*, 17(12), 5324–5337.
- Huppertz T., Kelly A.L. 2009.** Properties and Constituents of Cow's Milk in : TAMIME A.Y. (eds). *Milk Processing and Quality Management* Wiley-Blackwell, Chichester UK, Malden MA, 23-47.
- Hutchings, S., Alfante, R., Jacob, N., & Loveday, S. (2024).** Dairy versus non-dairy cheese texture: Sensory and instrumental contrasts. *Journal of Texture Studies*, 55(4), e12863.

I

- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., & Bakhshayesh, R. V. (2021).** Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial

Références bibliographiques

- Agents: Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. *Foods*, 10(12), 3131.
- International Organization for Standardization.** (2010). *Dried milk: Determination of titratable acidity* (ISO 6901:2010).
- International Organization for Standardization.** (2010). *Milk, cream and evaporated milk — Determination of total solids content (Reference method)* (ISO 6731:2010).
- International Organization for Standardization.** (2020). *Milk and milk products — Determination of lactose content — Enzymatic method using the glucose oxidase–peroxidase system* (ISO 22662:2020).
- International Organization for Standardization.** (2022). *Milk — Determination of freezing point — Thermistor cryoscope method (Reference method)* (ISO 5764:2022).
- International Organization for Standardization.** (2023). *Milk and milk products — Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium — Atomic absorption spectrometric method* (ISO 8070:2023).
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Mazhitov, B. (2018).** Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1), 012019.
- J**
- Jain, A., Jain, R., & Jain, S. (2020).** Identification Tests for Proteins (Casein and Albumin)., 177-180
- Jankovská, R., & Šustová, K. (2018).** Analysis of cow milk by near-infrared spectroscopy. *Czech Journal of Food Sciences*, 21, 123-128.
- Jaquetj, Thevenotr., 1961** - Le lait et le froid : les produits laitiers et leur traitement frigorifique. Édition J-B Baillière et fils, Paris, France. 464p
- Jean A,1975.** Les traitements thermiques appliqués aux produits laitiers et leurs conséquences dans le domaine azoté. Le lait. N° 541-542. Janvier-février. CNRS. Suisse. 40 P (25-26P).
- Jeantet, R., Croguennec, T., Brulé, G., Garric, G. (2017).** Introduction to cheese-making technology. Published by *Lavoisier Tec et Doc*. 224 p.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schucke., P, Brule, G. (2007).** Science des aliments ; volume 2. Technologie des produits alimentaires, chapitre 1 du lait aux produits laitier. Edition *tec et doc*. P 43, 50-183.
- Jenness, R., & Patton, S. (2021).** Principles of Dairy Chemistry. Springer Nature.
- Jokanović, O., Radonjić, D., Đokić, M., Mirecki, S., & Marković, B. (2023).** Proteolytic Changes During Ripening Of Kučki Cheese. *Contemporary Agriculture*, 72, 230–234.

Références bibliographiques

Júnior, J., De Oliveira, A., Silva, F., Tamanini, R., De Oliveira, A., & Beloti, V. (2018). The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk.. *Journal of dairy science*, 101 1, 75-83.

Jurášková, D., Ribeiro, S., & Silva, C. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, 11.

K

Kaddour Pacha, S. (2025). *Optimisation du procédé d'affinage d'un fromage local de type J'ben avec une flore lactique autochtone*. [Mémoire de Master]. Université de Mostaganem.

Kadi, F., Tabak, S., & Belyagoubi-Benhammou, N. (2023). Proteolytic activity of indigenous lactic acid bacteria isolated from steppe regions of Algeria. *International Dairy Journal*, 141, 105615.

Kalit, S., Matić, A., Salajpal, K., Sarić, Z., & Kalit, M. (2016). Proteolysis of Livanjski cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 17, 1320-1330.

Kaminarides, S., Moschopoulou, E., & Karali, F. (2019). Influence of Salting Method on the Chemical and Texture Characteristics of Ovine Halloumi Cheese. *Foods*, 8.

Kandler, O., And Weiss, N. (1986). Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology, Vol 2, 9 Ieme Ed.Ed.Sneath Pha, Mair Ns., Sharpe M.E, Holt J.G.Williams And Wilkins, Baltimore Usa.

Kant R., Blom J., Palva A., Siezen R.J., 2011 - W.M. de Vos. Comparative genomics of *Lactobacillus*. *Microbial biotechnology*. 4(3): 323-332.

Kazimierska, K., & Kalinowska-Lis, U. (2021). Milk Proteins—Their Biological Activities and Use in Cosmetics and Dermatology. *Molecules*, 26.

Kecis, S. (2018). Étude de la protéolyse au cours de la maturation des fromages traditionnels en Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences Alimentaires, Université Frères Mentouri - Constantine 1, Algérie.

Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. 2003. Indigenous proteinases in milk. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 495–521, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Ketrouci, L. (2021). Etude physico-chimique et microbiologique du lait de brebis collecté dans différentes régions d'Algérie, détermination de la flore lactique et des caractéristiques technologiques des bactéries lactiques [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem].

Khoualdi, G. (2017). Caractérisation du fromage traditionnel algérien « Medeghissa ». Mémoire de Magister. Université de Constantine 1, I.N.A.T.A.A Constantine. 108 P.

Références bibliographiques

- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., Kot, A.M. (2021).** Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules* 2021, 26, 1858.
- Kleerebezem, M., Bachmann, H., van Pelt-KleinJan, E., Douwenga, S., Smid, E., Teusink, B., & van Mastrigt, O. (2020).** Lifestyle, metabolism and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *FEMS microbiology reviews*.
- König, h, et fröhlich. j. (2009).** Lactic Acid Bacteria In König, H., Unden, G. Et Fröhlich, J., Biology Of Microorganisms On Grapes, In Must And In Wine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 3-24.
- Kowalska, M., Janas, S., & Woźniak, M. (2018).** Innovative application of the moisture analyzer for determination of dry mass content of processed cheese. *Heat and Mass Transfer*, 54, 3071–3080.
- Kubota h., tsuji k., matsuda k., kurakawa t., sahara t.,nojimoto k., 2010.** Detection of human intestinal catalase negative Gram positif cocci by rRNA-targeted reverse transcription- PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 5440-5451.
- Küçükçiftci, S., Geniş, B., & Tuncer, Y. (2025).** effect of different culture media, initial ph, incubation temperature, and carbon sources on growth and bacteriocin production of *enterococcus mundtii* yb6.30. *Gıda*, 50(2), 245–259.

L

- Labrie S. 2015.** Détermination des caractéristiques physico-chimiques des laits du terroir et des microflores fongiques indigènes influençant la qualité des fromages fins ; Université Laval. Article de conférence. <https://www.scientifique-en-chef.gouv.qc.ca/impact-recherche/caracteristiques-des-laits-du-terroir-influençant-la-qualite-des-fromages-fins/.27> Novembre 2015. 4p.
- Lamichhane, P., Sharma, P., Kennedy, D., Kelly, A., & Sheehan, J. (2019).** Microstructure and fracture properties of semi-hard cheese: Differentiating the effects of primary proteolysis and calcium solubilization. *Food research international*, 125, 108525.
- Lamontagne M., Champagne C.P., Gardner N. (2010).** Microbiologie du lait. Dans : Vignola C.L. Science et technologie du lait. Fondation de technologie laitière. Québec : Presses internationales polytechniques, p.75-153.
- Larbaoui D., Meribai A., Kouidri A., Khodja Mohamed Nadjib A., Nouani A., Mouloud Bellal M. 2013.** Influence of Dairy Cows Race and Diet on Milk Composition in Algeria. *Life Science Journal* 2013 ; 10(4)
- Laslo, É., György, É., & Szabó, A. (2025).** Technological aspects of lactic acid bacteria originated from artisanal cheeses. *Acta Univ. SApientiae, AlimentAria*,17,61–82.

Références bibliographiques

- Law, B. A., & Tamime, A. Y. (Eds.). (2010).** Technology of Cheesemaking (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Lawrence, D., O'Donovan, M., Boland, T.M., Lewis, E., Kennedy, E. 2015.** The effect of concentrate feeding amount and feeding strategy on milk production, dry matter intake, and energy partitioning of autumn-calving Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 338–348.
- Le Roux, Y. (1994).** Qualité protéique des laits à la production : facteurs de variation et recherche d'indicateurs de protéolyse [*Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine*].
- Leclercq-Perlat, M., Saint-Eve, A., Picque, D., & Trelea, I. (2024).** Microbiological, physicochemical and sensory changes throughout ripening of an experimental soft smear-ripened cheese in relation to salt concentrations. *Journal of dairy science*.
- Lee, M., Kim, H. J., & Park, S. H. (2022).** Phylogenomic re-evaluation of lactic acid bacteria and implications for species delineation. *Systematic and Applied Microbiology*, 45(5), 126343.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C., & Kim, Y. H. (2012).** Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *J. Vis. Exp.*, (62), e3923.
- Lee, R., Evanowski, R., Greenbaum, H., Pawloski, D., Wiedmann, M., & Martin, N. (2024).** Troubleshooting high laboratory pasteurization counts in organic raw milk requires characterization of dominant thermotolerant bacteria, which includes non-sporeformers as well as sporeformers. *Journal of dairy science*.
- Leksir, C., & Chemmam, M. (2015).** Contribution on the characterization of Klila, a traditional cheese in east of Algeria. *Livestock Research for Rural Development*, 27(5).
- Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019).** Traditional dairy products in Algeria : case of Klila cheese. *Journal of Ethnic Foods*, 6(1), 1-14.
- Lepilkina, O., Grigorieva, A., & Researcher, J. (2023).** Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food systems* Vol 6, No 1
- Li, B., Arju, G., Taivosalo, A., Lints, T., Kriščiunaite, T., Vilu, R., Lyne, J., Roustel, S., Kelly, A., & McSweeney, P. (2023).** Proteolytic activity of three variants of fermentation-produced chymosin on sodium caseinate and during Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*. Volume 149.
- Li, Y., Zhao, X., Yao, M., Yang, W., Han, Y., Liu, L., Zhang, J., & Liu, J. (2023).** Mechanism of microbial production of acetoin and 2,3-butanediol optical isomers and substrate specificity of butanediol dehydrogenase. *Microbial Cell Factories*, 22.
- Limsowtin, G. K. Y., Powell, I. B., & Hillier, A. J. (2002).** Lactic acid bacteria taxonomy and

Références bibliographiques

- physiology. In *Applied Dairy Microbiology (2nd ed.)*, pp. 1–53. Marcel Dekker, New York.
- Liu, S., Contreras, F., Aleman, R., Fuentes, J., Arango, O., & Castillo, M. (2024).** Validation of an Optical Technology for the Determination of pH in Milk during Yogurt Manufacture. *Foods*, 13.
- Liu, W., Wei, Y., Xiang, R., Dong, B., & Yang, X. (2025).** Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Unveiling Multifaceted Insights from Structure to Application in Foods and Health Promotion. *Foods*, 14.
- Liu, Y., Wang, K., & Schmidt, S. J. (2023).** Optimization of fermentation parameters for lactic cheese production. *Food Research International*, 172, 112-135.
- López González, N.; Abarquero, D.; Combarros-Fuertes, P.; Prieto, B.; Fresno, J.M.; Tornadijo, M.E., 2024.** Influence of Salting on Physicochemical and Sensory Parameters of Blue-Veined Cheeses. *Dairy*, 5, 93–105
- Lopez, A., & Heinrichs, A. (2022).** Invited review: The importance of colostrum in the newborn dairy calf. *Journal of dairy science*.
- Lucey, J. A., & Fox, P. F. (2021).** Importance of salt and water activity on enzymatic activity during cheese ripening. *Journal of Dairy Research*, 88(3), 315–328.
- Luo, J., Wang, Z. W., Wang, F., Zhang, H., Lu, J., Guo, H.Y., & Ren, F.Z. (2014).** Cryo-SEM images of native milk fat globule indicate small casein micelles are constituents of the membrane. *RSC Advances*, 4, 48963-48966.
- Luquet F. M., 1985.** Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre). Tome 1 : les laits de la mamelle à la laiterie. *Technique et documentation Lavoisier*, 217-261.

M

- Macedo, A., Carvalho, M., Mecha, E., Costa, L., Ferreira, A., Inácio, R., & Bronze, M. (2025).** Matching the Sensory Analysis of Serpa PDO Cheese with the Volatile Profiles—A Preliminary Study. *Foods*, 14(3), 516.
- Mahaut M., Jeantet R., Brulé G. 2000.** Les produits laitiers. Londres- Paris-New York : *Lavoisier, Tec & Doc*.
- Mahaut M., Jeantet R., Brule G. 2003.** Initiation à la technologie fromagère. Techniques et Documentation – *Lavoisier*, Paris, 194 p.
- Mahony, J., Bottacini, F., & Van Sinderen, D. (2023).** Towards the diversification of lactococcal starter and non-starter species in mesophilic dairy culture systems. *Microbial Biotechnology*, 16, 1745 - 1754.
- Mane, A., & McSweeney, P. (2019).** Proteolysis in Irish farmhouse Camembert cheese during ripening. *Journal of food biochemistry*, e13101.

Références bibliographiques

- Mansour L., 2015.** Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité d'un lait : effet de l'alimentation. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif , *Agronomie*,190P.
- Marroki, A., & Bousmaha-Marroki, L. (2014).** Lactobacilli isolated from Algerian goat's milk as adjunct culture in dairy products. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57, 410-420.
- Martin, P., Ferranti, P., Leroux, C et Addeo, F. (2003)** Non-bovine caseins: qualitative variability and molecular diversity. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 277–318, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Martinez, R., Dubois, C., & Lefèvre, P. (2024).** Salting techniques and their influence on lactic acid bacteria development. *Journal of Food Engineering*, 361, 78-92.
- Matallah, S., Matallah, F., Djedidi, I., Mostefaoui, KN., Boukhris, R. 2017.** Qualités physico-chimique et microbiologique de laits crus de vaches élevées en extensif au Nord-Est Algérien. *Livestock Research for Rural Development* 29 (11) 2017. 1-7p.
- Mathieu J., 1998.** Initiation à la physico-chimie du lait. Techniques et Documentation–Lavoisier, Paris, 220 p.
- McLeod. A, Nyquist.O. L, Snipen.L, Naterstad.K, And Axelsson. L. (2008).** Diversity Of Lactobacillus Sakei Strains Investigated By Phenotypic And Genotypic Methods. *Syst Appl Microbiol.* 31, 393-403.
- McMahon, D., Oberg, C., Oberg, C., Drake, M., Farkye, N., Moyes, L., Arnold, M., Ganesan, B., Steele, J., & Broadbent, J. (2014).** Effect of sodium, potassium, magnesium, and calcium salt cations on pH, proteolysis, organic acids, and microbial populations during storage of full-fat Cheddar cheese. *Journal of dairy science*, 97 8, 4780-98.
- McSweeney, P. (2004).** Biochemistry of Cheese Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 127-144.
- McSweeney, P. L. H. (2023).** Cheese ripening: Biochemistry, microbiology, and flavor development. In *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B - Proteins: Applied Aspects* (5th ed.). Springer.
- McSweeney, P. L. H., & Sousa, M. J. (2022).** Biochemical pathways for flavor development in cheese during ripening. *Foods*, 11(15), 2304.
- McSweeney, P. L. H., Cotter, P. D., & Everett, D. W. (Eds.). (2017).** Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. *Academic Press*. Pp : 5-21.
- Medjahed, M., Dahou, A. A., Desmasures, N., & Homrani, A. (2021).** Molecular appreciation of the native bacterial flora of raw milk in the north-western region of Algeria. *Asian Journal*

Références bibliographiques

- of Dairy and Food Research*, 40(2), 152–156.
- Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M., & Hayaloğlu, A. (2018).** Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk. *International Journal of Food Properties*, 20, S3246 - S3265.
- Meghoufel, N. L. (2019).** Etude de la diversité taxonomique et technologique des bactéries lactiques isolées au cours de la production de Jben et approche moléculaire de leurs interactions au microcosme fromager. Thèse de doctorat. Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.p147.
- Meklati, F. R., Panara, A., Hadeif, A., Meribai, A., Ben-Mahdi, M. H., Dasenaki, M. E., & Thomaidis, N. S. (2022).** Comparative Assessment of Antibiotic Residues Using Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) and a Rapid Screening Test in Raw Milk Collected from the North-Central Algerian Dairies. *Toxics*, 10(1), 19.
- Melkonian, C., Zorrilla, F., Kjærboelling, I., Blasche, S., Machado, D., Junge, M., Sørensen, K., Andersen, L., Patil, K., & Zeidan, A. (2023).** Microbial interactions shape cheese flavour formation. *Nature Communications*, 14.
- Mende, S., Rohm, H., & Jaros, D. (2016).** Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. *International Dairy Journal*, 52, 57-71.
- Merigaud J., Lemoine T., Aguer D. 2009.** Lait et produits laitiers. Élaborée par le Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition, p. 12-13.
- Meskini, Z., Rechidi-Sidhoum, N., Dahou, A., Bounaama, K., & Homrani, A. (2020).** Characteristics and typology of dairy cattle farming systems in west region of Algeria. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*, 20(3), 284-295.
- Mezaini, A., Chihib, N. E., & Dilmi-Bouras, A. (2021).** "Investigation of the proteolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional cheese 'Bouhezza'". *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 15, pages 3682–3691.
- Ming, H., Xu, D., Guo, Z., & Liu, Y. (2016).** Adaptive Evolution of *Lactobacillus casei* under Acidic Conditions Enhances Multiple-stress Tolerance. *Food Science and Technology Research*, 22(3), 331–336.
- Mir Y., Sadki, 2018.** Évaluation de la conductivité électrique du lait comme moyen de détection précoce des mammites bovines dans différentes fermes au sud du Maroc. Revue dans *l'institut Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, Maroc. 313p

Références bibliographiques

- Monteiro, J., Scherer, A., Hass, L., Korber, L., Freitas, G., Carré-Missio, V., Barreiros, M., Rosset, I., & Grange, L. (2020).** Acetoin and chitinase production by native rhizobacteria from Western Paraná. *Colloquium Agrariae*, 16, 01-09.
- Montel M.C, Bouton Y, Parguel P., (2012).** Ecosystèmes des laits et des fromages au lait cru : enjeux pour leur maîtrise. URF INRA 545 F -15000 Aurillac. Renc. Rech. Ruminants, 2012
- Montel M.C., Beuvier E. et Hauwuy A., (2005).** Pratique d'élevage, microflore du lait et qualités des produits laitiers, INRA Prod. Anim., 16, 279-282.
- Moraes. M. P, Perin. L. M, Ortolani. M. B. T, Yamazi. A. K, Viçosa. G. N, Nero. L. A. (2010).** Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. *foodsci.technol.* 43, 1320-1324.
- Mourad, G., & Bettache, G. (2020).** Various traditional dairy products in Africa and Algeria. *Journal of Nutrition and Food Security*, 5(4), 400-408.
- Mukdsi, M., Medina, R., Katz, M., Pivotto, R., Gatti, P., & González, S. (2009).** Contribution of lactic acid bacteria esterases to the release of fatty acids in miniature ewe's milk cheese models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57 3, 1036-44.
- Murata, R., Shim, Y., Kim, Y., Reaney, M., & Tse, T. (2025).** Exploring lactic acid bacteria in food, human health, and agriculture. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1-27.
- Mureşan, C., Marc, R., Semeniuc, C., Socaci, S., Fărcaş, A., Fracisc, D., Pop, C., Rotar, A., Dodan, A., Mureşan, V., & Mureşan, A. (2021).** Changes in Physicochemical and Microbiological Properties, Fatty Acid and Volatile Compound Profiles of Apuseni Cheese during Ripening. *Foods*, 10.
- Muttiah, B., & Law, J. (2025).** Milk-derived extracellular vesicles and gut health. *NPJ Science of Food*, 9.

N

- Nair, K., & Corredig, M. (2021).** Sodium caseinate hinders chymosin-induced aggregation of caseins in concentrated milk: The role of soluble caseins and calcium ions. *JDS Communications*, 2, 309 - 312.
- Ng-Kwai-Hang, K.F. 2003.** Milk proteins: heterogeneity, fractionation and isolation. In: Encyclopedia of Dairy Sciences (eds H. Roginski, J.W. Fuquay & P.F. Fox), pp. 1881–1894, Academic Press, Amsterdam.
- Nicosia, F., Pino, A., Maciel, G., Sanfilippo, R., Caggia, C., De Carvalho, A., & Randazzo, C. (2023).** Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Strains for Potential Use in Cheese Manufacture. *Foods*, 12.
- Nielsen S.S. 2003.** Plasmin system in milk. In: Encyclopedia of Dairy Sciences (eds H. Roginski,

Références bibliographiques

J.W. Fuquay & P.F. Fox), pp. 929–934, Academic Press, Amsterdam.

Nyamakwere, F., Esposito, G., Dzama, K., & Raffrenato, E. (2021). A review of artisanal cheese making: An African perspective. *South African Journal of Animal Science*, 51, 296-309.

O

O’Connell J.E., Fox P.F. 2003. Heat-induced coagulation of milk. In: Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 879–945, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

O’Connell, J., & Fox, P. (1999). Heat-induced changes in the calcium sensitivity of caseins. *International Dairy Journal*, 9, 839-847.

O’Mahony, J., & Kelly, A. (2021). The Plasmin System in Milk and Dairy Products., 11-55

Olson, N. (1990). The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor. *Fems Microbiology Letters*, 87, 131-147.

Ouamba, A., Gagnon, M., LaPointe, G., Chouinard, P., & Roy, D. (2022). Graduate Student Literature Review: Farm management practices: Potential microbial sources that determine the microbiota of raw bovine milk. *Journal of dairy science*.

Ouchene-Khelifi, N. A., Lafri, M., Ferrouk, M., & Ouchene, N. (2017). Physicochemical analysis of raw milk of Prim'holstein cows in the region of Mitidja in Algeria. *Livestock Research for Rural Development*, 29(6), Article 100.

Ounnane, L., Zadi-Karam, H., et Karam, N. E. (2020). Activités enzymatiques des bactéries lactiques isolées de laits crus de chamelle et de brebis en Algérie. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale (REMISEAL)*, 14(1), 1-17.

P

Pangallo, D., Kraková, L., Puškárová, A., Šoltys, K., Bučková, M., Koreňová, J., Budiš, J., & Kuchta, T. (2019). Transcription activity of lactic acid bacterial proteolysis-related genes during cheese maturation. *Food microbiology*, 82, 416-425.

Parente, e, & cogan. t. m. (2004). Starter cultures: general aspects. in p. f. fox, p. l. h. mcsweeney, t. m. cogan, & t. p. guinee (eds.), *cheese: chemistry, physics and microbiology*. 123–148. London, uk: chapman and hall.
Paris, 1987, 1-21.

Parks, V. R., & Torres, D. A. (2023). Yield Gel via Quantitative Gel Electrophoresis. In C. Cupples Connon (Ed.), *Forensic DNA Analysis* (Methods in Molecular Biology, Vol. 2685, pp. non spécifiées). Humana.

Parmar, P., López-Villalobos, N., Tobin, J., Murphy, E., McDonagh, A., Crowley, S., Kelly, A., & Shalloo, L. (2020). The effect of compositional changes due to seasonal variation on

Références bibliographiques

- milk density and the determination of season-based density conversion factors for use in the dairy industry. *Foods*, 9.
- Paswan, R., & Park, Y. (2020).** Survivability of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 Pathogens and Food Safety Concerns on Commercial Powder Milk Products. *Dairy*.
- Perpetuini, G., Rossetti, A. P., Rapagnetta, A., & Tofalo, R. (2024).** Unlocking the potential of *Kluyveromyces marxianus* in the definition of aroma composition of cheeses. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1374567.
- Perreau J.M. 2014.** Conduire son troupeau de vaches laitières Editions France Agricole, Paris, 403p.
- Peyraud J.L. (2019).** Le pâturage des vaches laitières : Données des résultats. Source CNIEL 2019. 6-9p.
- Pfeiler E.A., Klaenhammer T.R., 2007** - The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in microbiology*. 15(12): 546-553.
- Pfeiler, E. A., & Klaenhammer, T. R. (2009).** Role of transporter proteins in bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(18), 6013–6016.
- Piana, V., Pelisser, C., Silveira, M., Endres, C., Finco, D., & Gonçalves, A. C. (2025).** Use of Internet of Things for Monitoring, Automation, and Performance in Industrial Production of Cheese. *Research, Society and Development*, 14(6), e6714649054.
- Podrzaj, L., Burtscher, J., Küller, F., & Domig, K. J. (2020).** Strain-Dependent Cheese Spoilage Potential of *Clostridium tyrobutyricum*. *Microorganisms*, 8(11), 1836.
- Pointurier, H., & Adda, J. (1969).** *Beurrerie industrielle*. La Maison Rustique.
- Pollott G E. 2004.** Deconstructing milk yield and composition during lactation using biologically based lactation models. *J Dairy Sci.*, 87, 2375-2387.
- Porto, M., Kuniyoshi, T., Azevedo, P., Vitolo, M., & Oliveira, R. (2017).** *Pediococcus* spp: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology advances*, 35 3, 361-374.
- Prete, R., Alam, M., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. (2021).** Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers: A Sustainable Tool for Functional Foods. *Foods*, 10.
- Pruitt, K. (2003).** Lactoperoxidase. Dans P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Éds.), *Advanced dairy chemistry, Volume 1: Proteins* (3e éd., p. 563–570). Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Q**
- Qin, X., Cheng, J., Qiu, Y., Guan, N., Gupta, T., Wu, S., Jiang, Y., Yang, X., & Man, C. (2024).** Characterization of psychrotrophic and thermotolerant bacteria in raw milk using a

Références bibliographiques

multi-omics approach. *Microbial Genomics*, 10.

R

- Rabêlo, C., Ricardo, M., Porfírio, J., Pimentel, T., Nascimento, J., & Costa, L. (2021).** Psychrotrophic bacteria in Brazilian organic dairy products: identification, production of deteriorating enzymes and biofilm formation. *Food Science and Technology International*.
- Rahmadini, A., Asben, A., Dewi, K., & Ernita, Y. (2024).** Physicochemical Properties of Pasteurized Cow's Milk: Review. *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*.
- Rastegari, F., Driscoll, M., Riordan, J. D., Nadeau, J. H., Johnson, J. S., & Weinstock, G. M. (2025).** Comparison of Lysis and Amplification Methodologies for Optimal 16S rRNA Gene Profiling for Human and Mouse Microbiome Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1180.
- Rattray, W., Gallman, P., Jelen, P. 1997.** Nutritional, sensory and physicochemical Characterization of protein standardized UHT milk. *Le Lait*, 1997, 77 : 279-296.
- Retno Murwani, Refa Anggraeni, Gregorius Nico Adi Setiawan, Putri Dyah Astari, Ni Kadek Dita Cahyani, Mada Triandala Sibero, Ambariyanto Ambariyanto. (2024).** Lactic Acid Bacteria Isolates and the Microbiome of Cincalok, Tempoyak, and Mandai: A Traditional Fermented Food from Kalimantan Island, Indonesia. *Int J Food Sci*. 2024:6589766.
- Rezaei, A., Alirezalu, K., Damirchi, S., Hesari, J., Papademas, P., Domínguez, R., Lorenzo, J., & Yaghoubi, M. (2020).** Effect of Pasteurization and Ripening Temperature on Chemical and Sensory Characteristics of Traditional Motal Cheese. *Fermentation*, 6, 95.
- Rico D.E., Marshall E.R., Choi J., Kaylegian K.E., Dechow C.D., Harvatine K.J. (2014).** Within-milking variation in milk composition and fatty acid profile of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.*, 97, 4259-4268.
- Rinaldi, S., Di Giovanni, S., Palocci, G., Contò, M., Steri, R., & Tripaldi, C. (2023).** Impact of Milk Storage and Heat Treatments on In Vitro Protein Digestibility of Soft Cheese. *Foods*, 12.
- Roca-Fernandez A.I. 2014.** Animal factors condition milk performance and quality of grazing dairy cows Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(1), 1-20
- Ruiz-Ortega, M., González, E., Guevara-Arroyo, A., Chay-Canul, A., Valencia-Franco, E., Pérez-Sato, M., Velázquez-Morales, J., Rodríguez-Castillo, J., Robles-Robles, J., Vázquez-Diosdado, J., & Ponce-Covarrubias, J. (2025).** Physicochemical characteristics of dual-purpose cow's milk during the dry and rainy seasons in a tropical environment. *veterinary sciences*, 12.
- Runthala, A., Mbye, M., Ayyash, M., Xu, Y., & Kamal-Eldin, A. (2023).** Caseins: Versatility of

Références bibliographiques

Their Micellar Organization in Relation to the Functional and Nutritional Properties of Milk. *Molecules*, 28.

S

- Saadi, S., Makhlouf, C., Nacer, N., Halima, B., Faiza, A., Kahina, H., Wahiba, F., Afaf, K., Rabah, K., & Saoudi, Z. (2024).** Whey proteins as multifunctional food materials: Recent advancements in hydrolysis, separation, and peptidomimetic approaches. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 23 1, 1-40.
- Saelim, K., Kaewsuwan, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2015).** Physical, biochemical and genetic characterization of enterocin CE5-1 produced by *Enterococcus faecium* CE5-1 isolated from Thai indigenous chicken intestinal tract. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 37 (3), 299-307.
- Saha, P., Abokor, A., & Vijay-Kumar, M. (2025).** Dynamics of antimicrobial proteins' expression and their bactericidal activity in mouse milk. *ImmunoHorizons*, 9.
- Sahingil, D., Gokce, Y. & Hayaloglu, A.A. (2024).** Determination of the effects of proteolysis-based changes by adjunct lactobacilli on the bioactivity (ACE-inhibitory and antioxidant activities) of cheese: a model cheese study. *J Food Sci Technol* 61, 353–365.
- Saidane, Z. (2022).** *Etude de la dynamique de la microflore lactique indigène d'un J'ben de vaches de race locale* [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem].
- Saidane, Z., Dahou, A., Tahlaiti, H., Daoudi, M., Doukani, K., & Homrani, A. (2021).** Physico-chemical parameters with direct influence on the dynamism of the indigenous microflora of the traditional cheese “J’ben Elgafs”. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 40(4), 416–420.
- Sanchez-Gonzalez, M. E., Mora-Herrera, M. E., Wong-Villarreal, A., De La Portilla-López, N., Sanchez-Paz, L., Lugo, J., Vaca-Paulín, R., Del Aguila, P., & Yañez-Ocampo, G. (2023).** Effect of pH and Carbon Source on Phosphate Solubilization by Bacterial Strains in Pikovskaya Medium. *Microorganisms*, 11(1), 49.
- Sandra I. A. S. P. 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse de doctorat : sciences vétérinaires. Toulouse : Ecole nationale vétérinaire, 2001, 102p.
- Santamarina-García, G., Amores, G., De Armentia, E., Hernández, I., & Virto, M. (2022).** Relationship between the Dynamics of Gross Composition, Free Fatty Acids and Biogenic Amines, and Microbial Shifts during the Ripening of Raw Ewe Milk-Derived Idiazabal Cheese. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 12
- Santamarina-García, G., Yap, M., Crispie, F., Amores, G., Lordan, C., Virto, M., & Cotter,**

Références bibliographiques

- P. (2024).** Shotgun metagenomic sequencing reveals the influence of artisanal dairy environments on the microbiomes, quality, and safety of Idiazabal, a raw ewe milk PDO cheese. *Microbiome*, 12.
- Sassi El Hachemi, M. (2019).** *Etude de la variation saisonnière des paramètres biochimiques et microbiologiques du lait cru de vache à la traite dans l'Ouest Algérien* [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem].
- Savadogo A., Traore A.S., 2011.** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5(5): 2057-2075.
- Sawyer, L. 2003.** Lactoglobulin. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*, 3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 319–386, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Seok-Hwan Yoon, Sung-Min Ha, Soonjae Kwon, Jeongmin Lim, Yeseul Kim, Hyungseok Seo and Jongsik Chun. (2017).** Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*. 65(5).
- Sesín, A. A., Paz, J. J. C., Ledesma, A. E., Taranto, M. P., & Bustos, A. Y. (2023).** Probiotic characterization of lactic acid bacteria from artisanal goat cheese for functional dairy product development. *Brazilian Journal of Food Technology*, 26, e2023024.
- Shakeel-Ur-Rehman & Farkye, N.Y. (2003).** Lactoperoxidase. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (eds H. Roginski, J.W. Fuquay & P.F. Fox), pp. 938–941, Academic Press, Amsterdam.
- Shulga N., BovkunA., Naumenko O. (2023).** Research of hard cheese ripening regimes as a function of the composition of bacterial starter cultures// *Food science and technology*. Vol. 17, Issue2. P.71-79
- Silva, B., Fernandes, N., Carvalho, L., Faria, A., Teixeira, J., Rodrigues, C., Gonzales-Barrón, Ú., & Cadavez, V. (2023).** Lactic acid bacteria from artisanal raw goat milk cheeses: technological properties and antimicrobial potential. *Italian Journal of Food Safety*, 12.
- Silva, C.C.G, Ribeiro, S.C and Bottari, B. (2023).** Editorial: Microbial communities and microbiomes in dairy products. *Front. Microbiol.* 14 – 2023.
- Silva, G. O., Castro, R. D., Oliveira, L. G., Sant’Anna, F. M., Barbosa, C. D., Sandes, S. H. C., Silva, R. S., Resende, M. F. S., Lana, Â. M. Q., Nunes, A. C. C., Cerqueira, M. M. O. P., & Souza, M. R. (2020).** Viability of *Staphylococcus aureus* and expression of its toxins (SEC and TSST-1) in cheeses using *Lactobacillus rhamnosus* D1 or *Weissella*

Références bibliographiques

- paramesenteroides GIR16L4 or both as starter cultures. *Journal of Dairy Science*, 103, 4100–4108.
- Silva, L., Sunakozawa, T., Monteiro, D., Casella, T., Conti, A., Todorov, S., & Penna, A. (2023).** Potential of Cheese-Associated Lactic Acid Bacteria to Metabolize Citrate and Produce Organic Acids and Acetoin. *Metabolites*, 13.
- Sionek, B., Okoń, A., Łepecka, A., Zielińska, D., Jaworska, D., Kajak-Siemaszko, K., Neffe-Skocińska, K., Trząskowska, M., Karbowski, M., Szymański, P., Dolatowski, Z., & Kolożyn-Krajewska, D. (2024).** The role of autochthonous *Levilactobacillus brevis* B1 starter culture in improving the technological and nutritional quality of cow's milk acid-
rennet cheeses—Industrial model study. *Foods*, 13(2), Article 291.
- Smit, G., Smit, B., & Engels, W. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS microbiology reviews*, 29 3, 591-610.
- Soleimani, A., Nasrollahzadeh, A., Khomeiri, M., Dehnad, D., & Arjeh, E. (2024).** Production of soft unripened cheeses using acidic and salty coagulants: Investigation of technological and sensory characteristics. *Food Science & Nutrition*, 12, 3214 - 3224.
- Soto, R. I., Jiménez-Munguía, M. T., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2019).** Growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* NRRL B-4495, *Lactobacillus casei* NRRL B-1922 and *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 in milk supplemented with cysteine, ascorbic acid and tocopherols. *International Dairy Journal*, 97, 15–24.
- Sousa, M. J. and McSweeney, P. L. H. (2001).** Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 11, 327-345.
- Steinberg, R., Silva, L., De Souza, M., Reis, R., Da Silva, P., Lacorte, G., Nicoli, J., Neumann, E., & Nunes, Á. (2022).** Changes in bovine milk bacterial microbiome from healthy and subclinical mastitis affected animals of the Girolando, Gyr, Guzera, and Holstein breeds. *International Microbiology*, 25, 803 - 815.
- Stiles, M. E, ET Holzapfel, W. H. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*. 36, 1-39.
- Strashnova, I., Kovtun, I., & Korotaieva, N. (2020).** CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA FROM THE BLACK SEA SPONGES. *Microbiology & Biotechnology*.
- Sun, X., Gerrard, J., & Anema, S. (2024).** Effect of dephosphorylation on calcium binding to α s1-casein-enriched protein. *International Dairy Journal*.
- SVEC P., FRANZ CHARLE M.A.P., 2014.** The genus *Enterococcus*. Biodiversity and taxonomy. 340-346.
- Swaigood, H.E. 2003.** Chemistry of caseins. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*,

Références bibliographiques

3rd edn (eds P.F. Fox & P.L.H. McSweeney), pp. 139–202, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. SVEC P., FRANZ CHARLE M.A.P., 2014 - The genus *Enterococcus*. *Biodeversity and taxonomy*. 340-346.

I

- Tabet, R., Mechai, A., Branes, Z., & Chenchouni, H. (2023).** Effect of vegetable coagulant and lamb rennet on physicochemical composition, fatty acid profile and lipid quality indices of a traditional fresh cheese (Jben). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48, 102609.
- Tahlaiti, H., Dahou, A. A., Rechidi Sidhoum, N., & Homrani, A. (2020).** Assessment of the cheese-making ability of individual cow milks from the experimental farm of the University of Mostaganem, Algeria. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 39(4), 286–290.
- Tailliez P., 2004** - Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*. 6(1): 35–41.
- Takagi, H., Nakano, T., Aoki, T., & Tanimoto, M. (2023).** The structural changes of a bovine casein micelle during temperature change; in situ observation over a wide spatial scale from nano to micrometer. *Soft matter*
- Tamime Y.A., 2009.** Milk processing and quality management. Blackwell Publishing L.td. ISBN: 978-1-405-14530-5.
- Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., & Mathewos, M. (2021).** Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Cow Milk and Milk Products. *The Scientific World Journal*, 2021,4697445, 6 pages.
- Tedde, A., Grelet, C., Ho, P. N., Pryce, J. E., Hailemariam, D., Wang, Z. Q., Plastow, G., Gengler, N., Froidmont, E., Dehareng, F., Benzaquen, L., Boichard, D., Daltro-Oliveira, R., Do, C., Egorov, A. V., Eriksson, S., Guedes, G., Hanotte, O., Kargo, M., . . . Negussie, E. (2021).** Multiple Country Approach to Improve the Test-Day Prediction of Dairy Cows' Dry Matter Intake. *Animals*, 11(1), 5.
- Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, Đ., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L., & Golić, N. (2020).** Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries - Technological and probiotic properties. *Food research international*, 136, 109494.
- Thomas, P., Sekhar, A., Upreti, R., Mujawar, M., & Pasha, S. (2015).** Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples. *Biotechnology Reports*, 8, 45–55.

Références bibliographiques

Thompson, M., Johnson, R., & Williams, S. (2023). Quality assessment methods for lactic acid cheeses. *Journal of Food Quality*, 2023, 158-172.

Tirfie, F. W. (2023). A Review of Genetic and Non-Genetic Parameter Estimates for Milk Composition of Cattle. *Animal and Veterinary Sciences*, 11(3), 64-

Torres, A., Morales, C., & Vargas, O. (2021). The influence of milk-clotting enzymes on the lipid composition and organoleptic properties of semi-matured cheeses. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20.1.

U

Upadhyay, V. K., Bhatia, S., & Kumari, A. (2023). Enzymatic degradation of casein-derived peptides during cheese maturation. *Food Chemistry*, 403, 134294.

V

Veisseyre, R. (1979). Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. (3e éd.). La Maison Rustique.

Verce, M., De Vuyst, L., & Weckx, S. (2020). The metagenome-assembled genome of *Candidatus Oenococcus aquikefiri* from water kefir represents the species *Oenococcus sicerae*. *Food microbiology*, 88, 103402.

Verdier-Metz, I., Delbès, C., Bouchon, M., Pradel, P., Theil, S., Rifa, E., Corbin, A., & Chassard, C. (2022). Influence of Post-Milking Treatment on Microbial Diversity on the Cow Teat Skin and in Milk. *Dairy*.

Verraes, C., Vlaemynck, G., Weyenberg, S., Zutter, L., Daube, G., Sindic, M., Uyttendaele, M., & Herman, L. (2015). A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*, 50, 32-44.

Vignola, C. L. (2010). *Science et Technologie du Lait* (2e éd.). Presses internationales polytechniques. Montréal. ISBN 2553015526 (600p) Canada.

Vignola, C. L. (2002). Science et technologie du lait. Transformation du lait. Edition: école Polytechnique de Montreal. Paris. p 1-45.

Von Wright, A, Et Axelsson, L. (2012). Lactic Acid Bacteria: An Introduction. In Lahtinne, S, Salminen, S, Von Wright, A. Et Ouwehand, A. Lactic Acid Bacteria: Microbiological And Functional Aspects. *Crc Press*. 1-17.

Vorlová, L., Prokopová, L., Pospíšil, J., Tichovský, P., Brázdová, Z., & Bogdanovičová, K. (2017). Dynamics of lactose changes during ripening of Edam cheese. *Potravinarstvo*, 11, 696–701.

W

Références bibliographiques

- Walstra, P., 1978.** The milk fat globule natural and synthetic, XX International Dairy Congress, Paris, *International Dairy Federation, Brussels*, 75 5T, 1978, 1-18.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. et Geurts, T.J. 2006.** Dairy Science and Technology, 2nd edn, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Wang, J., Chen, L., & Ito, K. (2023).** Curd processing techniques for soft lactic cheeses. *Food and Bioprocess Technology*, 16(4), 210-225.
- Wang, Y., Li, C., Liu, P., Ahmed, Z., Xiao, P., and Bai, X. (2010).** Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 895-903.
- Wegkamp. A, Teusink. B, De Vos. W. M Et Smid. E. J. (2010).** Development Of A Minimal Growth Medium For *Lactobacillus Plantarum*. *Letters In Applied Microbiology*. 50, 57–64.
- Whiley R.A., Hardie J.M., 2009** - Genus *Streptococcus* Rosenbach 1884, 22AL. In: De Vos, P; Garrity G., Jones D et al .(eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, Vol3. New York: Springer.655-711.
- Widyastuti, Y., Nbsp, R., & Febrisiantosa, A. (2014).** The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 435-442.
- Williams, E., Van Doren, J., Leonard, C., & Datta, A. (2023).** Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, and *Campylobacter* spp. in raw milk in the United States between 2000 and 2019: A systematic review and meta-analysis.. *Journal of food protection*, 86 2, 100014.
- World Health Organization (OMS). (2023).** Definition and standards of identity for milk and milk products. *Who Food Safety and Quality Division*.
- Woźniak, D., Cichy, W., Dobrzyńska, M., Przysławski, J., & Drzymała-Czyż, S. (2022).** Reasonableness of Enriching Cow's Milk with Vitamins and Minerals. *Foods*, 11.
- Wu, Q., Ong, L., Yao, S., Ye, A., & Chen, J. (2023).** Effect of Ultrafiltered Milk on the Rheological and Microstructure Properties of Cream Cheese Acid Gels. *Food and Bioprocess Technology*, 16(8), 1728–1745.

Y

- Yadav, M. K., Song, J. H., Vasquez, R., Lee, J. S., Kim, I. H., & Kang, D.-K. (2024).** Methods for Detection, Extraction, Purification, and Characterization of Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria.A Systematic Review. *Foods*, 13(22), 3687.
- Yalçın, S., Simsir, M., & Kurtulus, E. (2024).** Evaluation of Lactic Acid Bacteria and Total Bacterial Load in Milk from Clinical Mastitis, Subclinical Mastitis and Healthy Cows. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*.

Références bibliographiques

- Yang, M., Ye, A., Yang, Z., Everett, D., Gilbert, E., & Singh, H. (2022).** Kinetics of pepsin-induced hydrolysis and the coagulation of milk proteins. *Journal of dairy science*.
- Yanthi, N., Said, S., Anggraeni, A., Damayanti, R., & M. (2018).** Correlation of electric conductivity values with the dairy milk quality. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*
- Yardı, D., & Durak, M. (2023).** Identification of antihypertensive bioactive peptides in the herby and white cheeses produced from different milk types. *European Food Research and Technology*, 249, 2265-2272.

Z

- Zanon, T., Franciosi, E., Cologna, N., Goss, A., Mancini, A., & Gauly, M. (2024).** Alpine grazing management, breed and diet effects on coagulation properties, composition, and microbiota of dairy cow milk by commercial mountain based herds. *Journal of dairy science*.
- Zhang, Q., Park, Y. W., & O'Brien, E. (2023).** Selection and characterization of lactic acid bacteria for artisanal cheese production. *Dairy Science & Technology*, 103(1), 85-102.
- Zhang, S., Wang, T., Zhang, Y., Song, B., Pang, X., & Lv, J. (2022).** Effects of *Monascus* on Proteolysis, Lipolysis, and Volatile Compounds of Camembert-Type Cheese during Ripening. *Foods*, 11.
- Zhang, Y., Liu, Z., & Chen, J. (2023).** Phylogenetic relationships and metabolic diversity of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods. *Microorganisms*, 11, 317.
- Zhang, G., Mills, D. A., Block, D. E. (2009).** Development Of Chemically Defined Media Supporting High-Cell-Density Growth Of Lactococci, Enterococci, And Streptococci. *Applied And Environmental Microbiology*. 75 (4), 1080–1087.
- Zhao, G., Zhao, S., Zhou, F., Gu, L., Solem, C., & Jensen, P. (2023).** Unveiling the hidden potential of nisin-permeabilized *Streptococcus thermophilus* as proteolysis accelerant during cheese ripening. *LWT*. Volume 191.
- Zhao, J., Gong, J., Liang, W., & Zhang, S. (2024).** Microbial diversity analysis and isolation of thermoresistant lactic acid bacteria in pasteurized milk. *Scientific Reports*, 14.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020).** A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782–2858.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., et al. (2020).** A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera.

Références bibliographiques

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70, 2782–2858.

Ziarno, M., Bryś, J., Kowalska, E., & Cichońska, P. (2023). Effect of metabolic activity of lactic acid bacteria and propionibacteria on cheese protein digestibility and fatty acid profile. *Scientific Reports*, 13.

Annexes

Annexe : 1



UNIVERSITE ABDELHAMID IBNBADIS DE MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

**LABORATOIRE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE PRODUCTION
ANIMALE**

Questionnaire sur l'état zootechnique et sanitaire des exploitations laitières

Wilaya de : RELIZANE

Nous remercions les éleveurs pour leur participation à cette enquête, et nous les rassurons que ce travail se déroule uniquement dans le but de la recherche, il ne s'agit pas de service de contrôle, ni de fiscalité.

N° d'ordre de l'exploitation : /_ //_ / visite n° /_ / Date de la visite : /_ //_ /-
/_ //_ /- /_ //_ /

Daïra : Commune

Code Wilaya : /_ //_ /

SAT (ha) : SAU (ha) :

Superficie irriguée (ha) :

Mode de faire valoir : Propriété /_ / location /_ /
Fermage/_ /

Ressources hydriques (nombre) : Puits /_ / Forages /_ / Autres /_ /
.....

CARACTERISTIQUES DU TROUPEAU

1. Elevage :

- Assurance : oui /_/_/ non /_/_/ CRMA : /_/_/ Autre /_/_/ :
- Adhésion à une association d'éleveurs : oui /_/_/ non /_/_/
- Présence d'un registre d'élevage : oui /_/_/ non /_/_/
- Conception : Stabulation libre /_/_/ Entravée /_/_/ Autre /_/_/
- Agrément de l'élevage : oui /_/_/ non /_/_/ Type :
- Nombre de bovins dans l'exploitation : Total.....
- + Vaches /_/_/_/ Génisses /_/_/_/ Reproducteurs /_/_/_/ veaux /_/_/_/ vêles /_/_/_/
- + Vaches : Vides /_/_/_/ Pleines /_/_/_/ En lactation /_/_/_/ Pleines et en lactation /_/_/_/
- + Age moyen des vaches : de /_/_/_/ à /_/_/_/ ans
- Races exploitées :
- + Pie Rouge /_/_/
- + Pie Noire /_/_/
- + Montbéliarde /_/_/
- + Tarentaise /_/_/
- + Locale /_/_/
- + Autres races /_/_/

2. Environnement et habitat:

- Etat de propreté des abords du bâtiment et de l'ensemble de l'exploitation :
Bon /_/_/ Assez Bon /_/_/ Médiocre /_/_/
- Présence de litière : oui /_/_/ non /_/_/ Si oui, Qualité de la litière : Sèche /_/_/ Humide /_/_/
- Nature de la litière : Paille /_/_/ Copeaux de bois /_/_/ Autres /_/_/
- Fréquence de renouvellement de litière : Quotidien /_/_/ Hebdomadaire /_/_/ Autres (Précisez) /_/_/

3. Aménagement des locaux :

- + Local de mise bas : oui /_/_/ non /_/_/
- + Local de jeune bovin : oui /_/_/ non /_/_/
- + Salle de traite : oui /_/_/ non /_/_/
- + Local de stockage des aliments : oui /_/_/ non /_/_/
- + Aire d'exercice : oui /_/_/ non /_/_/
- + Infirmerie : oui /_/_/ non /_/_/
- + Local de quarantaine : oui /_/_/ non /_/_/

- + Superficie de l'étable : (Vaches laitières)
- + Surface par vache :
- + Circuit d'évacuation lisier et eau de nettoyage : oui /_ / non /_ /
- + Fosse septique : oui /_ / non /_ /

4. Alimentation :

- Abreuvement : bac collectif /_ / automatique /_ / autre, préciser :
- Source d'abreuvement : Puits : /_ / Oued : /_ / Forage : /_ / Autre : /_ / Précisez :
.....
- Pâturage : oui /_ / non /_ / - période (mois) :
- Concentré : UAB, laquelle ?.....

5. Conduite de la reproduction :

- Présence de registre des saillies et des vêlages : oui /_ / non /_ /
- Age à la mise à la reproduction des femelles: /_ // _ / mois
- Age de la puberté.....
- Cyclicité des vaches.....
- Méthode de détection des chaleurs :.....
- Synchronisation des chaleurs : oui /_ / non /_ /
- Taux de réussite de la 1ère saillie.....
- Intervalle entre 2 vêlages :.....
- Insémination artificielle /_ / Monte naturelle /_ /
- Taux de réforme pour infertilité :
.....
- Taux de fertilité :
.....
- Taux de fécondité :
.....
- Taux de prolificité :
.....
- Taux de productivité :.....
- Statut sanitaire du géniteur connu : oui /_ / non /_ /
 - + Dépistage de la brucellose: oui /_ / non /_ /
 - + Dépistage de la tuberculose : oui /_ / non /_ /
 - + Vaccination anti-aphteuse: oui /_ / non /_ /
 - + Vaccination antirabique

- + Dragage (parasitisme interne) : oui /_ / non /_ /
- + Déparasitage externe: oui /_ / non /_ /
- Isolement du reproducteur introduit avant l'accouplement : oui /_ / non /_ /
- Caractéristiques du reproducteur :
 - + Age :
 - +Race Pie Rouge :
.....
 - +Race Pie Noire :
 - +Autre :

6. Conduite du troupeau :

- Présence de registre d'identification des animaux : oui /_ / non /_ /
- Identification des animaux (boucles) : oui /_ / non /_ /
- Respect des contrôles de dépistage obligatoire : oui /_ / non /_ /
- Date du dernier contrôle : /_ // _ /- /_ // _ /- /_ // _ // _ /
- Présence d'autres espèces animales : oui /_ / non /_ /
- Ovins /_ / Caprins /_ / Equidés /_ / Chiens /_ / Chats /_ / volailles /_ /
- Mise en quarantaine avant l'introduction d'animaux dans l'étable : oui /_ / non /_ /

7. Conduite de la traite :

- Présence de registre de la traite (contrôle laitier) : oui /_ / non /_ /
- Traite : Manuelle /_ / Mécanique à chariot /_ / Mécanique en salle de traite /_ /
- En cas de Traite Mécanique à chariot : Nombre de chariots : /_ // _ /
- En cas de Traite en salle: Nombre de postes : /_ // _ /
- Horaire de traite : /_ // _ /- /_ // _ / heures et /_ // _ /- /_ // _ / heures
- Quantité/vache/jour : /_ // _ // _ // _ / litres
- La totalité de la production est commercialisée : oui /_ / non /_ /
 - + Laiterie : oui /_ / non /_ / Autres : précisez :.....
 - + Aliment pour les veaux : oui /_ / non /_ /
 - + Consommation personnelle : oui /_ / non /_ /
- Lavage des trayons : oui /_ / non /_ /
- Désinfection des trayons avant la traite : oui /_ / non /_ / Nature du produit :.....
- Essuyage des trayons avec des lavettes individuelles : oui /_ / non /_ /
- Elimination du premier jet avant la traite: oui /_ / non /_ /
- Trempage des trayons dans un gel après la traite : oui /_ / non /_ /

- + Désinfectant utilisé :
- Propreté des gobelet-trayeurs : oui /_/ non /_/
- Collecte quotidienne : oui /_/ non /_/ si non, précisez :
- Livraison : collecteur /_/ exploitant /_/
- Citerne réfrigérée /_/ bidons /_/
- Hygiène des vachers trayeurs : oui /_/ non /_/
 - + Lavage des mains avant la traite : oui /_/ non /_/
 - + Port d'une tenue de travail: oui /_/ non /_/
 - + Port de bottes: oui /_/ non /_/
 - + Autres taches hors traite : oui /_/ non /_/ Précisez :

8. Situation sanitaire :

- Présence d'un registre sur l'état de santé des animaux: oui /_/ non /_/
- Statut sanitaire des animaux introduits connu : oui /_/ non /_/
- + Dépistage de la brucellose (par sérologie): oui /_/ non /_/
- + Dépistage de la tuberculose (par intradermo-réaction) : oui /_/ non /_/
 - + Vaccination anti-aphteuse: oui /_/ non /_/
 - + Dragage : oui /_/ non /_/
 - + Déparasitage externe: oui /_/ non /_/
 - + Détection des mammites: oui /_/ non /_/
 - + Détection des antibiotiques : oui /_/ non /_/
- + Contrôle bactériologique périodique du lait: oui /_/ non /_/
- Présence de document sanitaire valide : oui /_/ non /_/

Maladies présentes en 2021-2022:

- Mammites : oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Avortements: oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Cas de dystocies : oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Stade de la gestation au moment de l'avortement : trimestre : 1er /_/ 2ème /_/ 3ème /_/
- Boiteries: oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Anœstrus (Corps jaune persistant): oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Fièvre vitulaire : oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/
- Troubles respiratoires : oui /_/ non /_/ Nombre : /_/_/

- Autres Maladies : précisez :.....
.....

Brucellose : oui /_/_/ non /_/_/

- Confirmation de la maladie par sérologie: oui /_/_/ non /_/_/

- Nombre d'avortements s'il y a lieu : 2017 /_/_/_/ 2018 /_/_/_/ 2019 /_/_/_/ 2020 /_/_/_/ 2021 /_/_/_/

- Animaux atteints : Bovins /_/_/ précisez

- Nombre d'animaux atteints par sexe : Femelle /_/_/_/ Mâle /_/_/_/ année /_/_/_/_/

- Age des animaux atteints :

- Origine de la contamination :

*Introduction d'un animal dans la ferme : (achat) /_/_/ Lors de l'accouplement /_/_/

- Zone d'isolement des animaux malades : oui /_/_/ non /_/_/

Fièvre aphteuse : oui /_/_/ non /_/_/

Autres /_/_/ : précisez :.....

- Confirmation de la maladie par sérologie: oui /_/_/ non /_/_/

Animaux atteints : Bovins /_/_/ précisez

- Nombre d'animaux atteints par sexe : Femelle /_/_/_/ Mâle /_/_/_/ année /_/_/_/_/

- Age des animaux atteints :

- Origine de la contamination :

*Introduction d'un animal dans la ferme : achat /_/_/ Lors de l'accouplement /_/_/

- Zone d'isolement des animaux malades : oui /_/_/ non /_/_/

-Temps passé pour le questionnaire :

Début : h/.....mn.

Fin : h/.....mn.

OBSERVATIONS PERSONNELLES :

.....
.....
.....
.....
.....

Annexe 2: Évaluation du potentiel productif et rentabilité économique des élevages bovins laitiers à Relizane : Étude multi-zones par bassins de production.

Caractérisation technico-économique des exploitations laitières par bassin (Wilaya de Relizane, 2022-2024)

Indicateurs de performance	Bassin de Zemmora	Bassin de Djidiouia	Bassin d'Oued Rhiou	Bassin de Mazouna
Profil de l'exploitant				
Âge moyen (ans)	55	60	48	62
Niveau d'instruction	Vétérinaire praticien	Universitaire	Secondaire	Secondaire à Universitaire
Spécialisation	Élevage pur	Poly-culture élevage	Élevage & Transformation	Élevage & Transformation
Structure du troupeau				
Effectif total (VL)	298	485	380	530
Mix racial	Holstein / Montbéliarde	Holstein / Montbéliarde	Holstein / Montbéliarde	Holstein / Montbéliarde
Orientation technico-économique	Mixte (Lait & Viande)	Mixte (Lait & Viande)	Mixte (Lait & Viande)	Mixte (Lait & Viande)
Gestion & Modernisation				
Mode de traite	Mécanique (Salle)	Mécanique (Salle)	Mécanique (Salle)	Mécanique (Salle)
Suivi zootechnique	Registre (100%)	Registre (100%)	Registre (100%)	Registre (100%)
Couverture des risques	Assurance (100%)	Assurance (100%)	Assurance (100%)	Assurance (100%)
Ressources & Foncier				
Statut juridique	Propriété (100%)	Propriété (100%)	Propriété (100%)	Propriété (100%)
Source d'irrigation	Forage privé	Forage privé	Forage privé	Forage privé

Caractérisation des systèmes de conduite et de l'état sanitaire des élevages bovins laitiers
(n=4 zones) (période 2022-2024)

Paramètres d'étude	Caractéristiques et Pratiques Observées	Observations Complémentaires
Mode de conduite	Stabulation entravée ou libre (animaux rassemblés dans le même espace)	Promiscuité élevée
Gestion de la litière	Utilisation systématique de la paille de céréales	Matériau prédominant
Infrastructures disponibles	Présence de : local de mise bas, salle de traite, stockage aliment, infirmerie et quarantaine	Conformité infrastructurelle (100%)
Abreuvement	Bacs collectifs ; Source d'eau : Forages privés/agricoles	Approvisionnement sécurisé
Statut Sanitaire	Dépistage (Brucellose, Tuberculose) et Vaccinations (Anti-aphteuse, Antirabique) effectifs	Couverture vaccinale totale
Prophylaxie médicale	Déparasitages interne et externe systématiques	Contrôle parasitaire régulier
Identification	Boucles auriculaires en plastique agréées	Traçabilité individuelle assurée
Hygiène des locaux	Curage de la litière basé sur les indicateurs d'odeurs et de propreté des robes (nuisance d'insectes)	Entretien réactif
Désinfection	Usage de Chaux, Eau de Javel et TH5 (bisannuel)	Protocole de désinfection chimique

Tableau Comparatif des Pratiques d'Élevage Bovin Laitier dans Quatre Régions (2022-2024)

Indicateur	Région 1 : Zemmora (Ex: Traditionnelle)	Région 2 : Djidiouia (Ex: Intensive 1)	Région 3 : Oued Rhiou (Ex: Intensive 2)	Région 4 : Mazouna (Ex: Moderne)
Mode de Reproduction	Monte Naturelle & Saillie au Pâturage	Insémination Artificielle (IA)	IA & Transfert d'Embryons (TE)	IA avec Semence Congelée/Frais
Production Laitière (L/vache/jour)	21-26 L	24-29 L (5100 L/an)	22-27 L (8900 L/an)	27-32 L (12600 L/an)
Relation Vétérinaire	Présence à la ferme (Préventif)	Présence à la ferme (Curatif)	Présence à la ferme (Technique)	Présence à la ferme (Technique/Nut.)
Maladies Dominantes	Mammites, Troubles digestifs	Mammites, Troubles Métaboliques	Mammites, Fièvre de lait (début lactation)	Mammites, Troubles Repro (Placentaires),

	(Météorisation), Boiteries (sol)	(Acétonémie, Hypocalcémie)		Digestifs (Changement ration)
--	-------------------------------------	-------------------------------	--	-------------------------------------

Stratégies de conduite alimentaire selon le stade de lactation et la zone géographique
(Période 2022-2024)

Région	Composante de la Ration	Début de Lactation	Milieu de Lactation	Fin de Lactation
Zemmora	Ration de base	Foin d’avoine	Foin d’avoine	Foin d’avoine
	Complémentation	Concentré ¹	Concentré ¹	Concentré ¹
	Fourrage vert / Parcours	Pâturage	Sorgho fourrager	Néant
Djidiouia	Ration de base	Foin d’avoine	Foin d’avoine	Foin d’avoine
	Complémentation	Concentré ¹	Concentré ¹	Concentré ¹
	Fourrage vert / Parcours	Pâturage	Sorgho fourrager	Néant
Oued Rhiou	Ration de base	Foin d’avoine	Foin d’avoine	Foin d’avoine
	Complémentation	Concentré ¹	Concentré ¹	Concentré ¹
	Fourrage vert / Parcours	Pâturage	Luzerne en vert	Néant
Mazouna	Ration de base	Foin d’avoine + Paille	Foin d’avoine + Paille	Foin d’avoine + Paille
	Complémentation	Concentré ¹	Concentré ¹	Concentré ¹
	Fourrage vert / Parcours	Pâturage	Foin d’avoine	Néant

Note : ¹ Le concentré utilisé est un mélange standardisé : Maïs, Son, Orge et Soja.

Annexe 3: Présentation la composition des différents milieux de culture utilisés dans le protocole expérimental.

➤ **Eau physiologique (pH 7)**

- Chlorure de sodium 9 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

➤ **Eau peptonee tamponnée**

- Peptone 10.00 g
- Chlorure de sodium 5.00 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

➤ **Milieu MRS (Man, Rogasa et Sharpe) (pH 5.6)**

- Peptone 10 g
- Extrait de viande 10 g
- Extrait de levure 5 g
- Glucose 20 g
- Tween 80..... 1 mL
- Phosphate bipotassique 2 g
- Acétate de sodium 5 g
- Citrate d'ammonium 2 g
- Sulfate de magnésium, ...0.2 g
- Sulfate de manganèse 0.5 g
- Agar 15 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

➤ **Milieu M17 (pH 6.5)**

- Peptone Bactériologie 10g qui contient Peptone de (soja 5g, viande 2.5 g, caséine 2.5 g)
- Extrait de viande 5 g
- Extrait de levure 2.5 g
- Glycérophosphate de sodium 19 g
- Sulfate de magnésium, ... 0.25 g
- Acide ascorbique 0.50 g

- Agar-agar 15 g
- Eau distillée qsq 1000 mL

➤ **Milieu Plate Count Agar PCA (pH =7,0)**

- Tryptone.....5.0 g
- Extrait de levure.....2.5 g
- Glucose 1.0 g
- Agar agar bactériologique.....15.0 g
- Eau 1000ml

➤ **Bouillon MRS (Man, Rogasa et Sharpe)**

- Peptone 10 g
- Extrait de viande 10 g
- Extrait de levure 5 g
- Glucose 20 g
- Tween 80..... 1 mL
- Phosphate bipotassique 2 g
- Acétate de sodium 5 g
- Citrate d'ammonium 2 g
- Sulfate de magnésium, ...0,2 g
- Sulfate de manganèse 0,5 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

➤ **Bouillon M17**

- Peptone Bactériologie 10g
- Extrait de viande 5 g
- Extrait de levure 2.5 g
- Glycérophosphate de sodium 19 g
- Sulfate de magnésium, ... 0.25 g
- Acide ascorbique 0.50 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillée qsq 1000 mL

N.B : Tous les milieux de culture utilisés dans le protocole expérimental ont été stérilisés par autoclavage à 121 °C pendant une durée de 15 minutes afin de garantir leur caractère aseptique.

Préparation du milieu PCA-lait pour l'évaluation de l'activité protéolytique:

- Le milieu PCA-lait est préparé dans un flacon contenant 100 mL de milieu PCA stérile.
- Du lait écrémé reconstitué est ajouté afin d'obtenir les concentrations souhaitées.
- Les volumes de lait à ajouter après le refroidissement de milieu PCA sont les suivants :
 - PCA- lait 10 %: ajouter 11.1 mL de lait reconstitué.
 - PCA- lait 5 %: ajouter 5.3 mL.
 - PCA- lait 3 % : ajouter 3.1 mL.
 - PCA-lait 1 % : ajouter 1.1 mL.
- Le mélange est homogénéisé puis utilisé pour l'ensemencement des souches lactiques afin d'observer leur activité protéolytique.

Préparation du lait écrémé reconstitué :

Pour 250 ml du lait on a pesé 30 g de la poudre du lait écrémé dans un 220 ml d'eau distillé dans un température 40 C°

1ère pasteurisation 75 C° pendant 5 min après refroidissement à 50 C°

2ème pasteurisation 92 C° pendant 30 seconde.

Annexe 4 :

Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)

Date :

Nom du dégustateur :

Fonction :

Lieu :

Type du fromage :

Examen	Nom du produit	Points à examiner	Vocabulaire
1/ Visuel		Etat de la surface	Surface : lisse, sèche, humide Couleur : blanche, crème, jaune
		Pâte	Elasticité : Souple, ferme, cassante Homogénéité : homogène, crevasse
2/ Olfactif		Arômes	Lactique : lait frais, naturel, Autres : diacétyl, fermenté, synthétique
		Intensité	Forte, fade, typée, piquante
3/ Gustatif		Saveurs	Description de la saveur : Sucrée, acide, salée, amer Description des sensations : Douceur, piquant, crémeux, fondant, onctueux Description de la finale bouche : Agréable, très typique, riche en arôme, intense et persistante, plutôt courte

Observation aux dégustateurs :

Mettre une croix sur l'appréciation accordée au produit dégusté

Prestation finale : appréciable acceptable désagréable Indifférent

Note d'appréciation sur 10 points à évaluer en fonction des commentaires des dégustateurs :

1) Etat de la Surface :

Surface : lisse : 1 Humide : 0.25 Sèche : 0

Couleur : blanche : 1 Crème : 0.5 Jaune : 0

2) Pâte :

Elasticité : Souple : 1 Ferme : 0.25 Cassante : 0 **Homogénéité :** Homogène : 1 Crevasse : 0

3) Arômes :

Lactique : Lait frais : 1 Naturel : 0.5 **Autres :** Diacétyl : 1 Fermenté : 0.5 Synthétique : 0

Intensité : typée : 1 Forte : 0,25 Fade : 0 Piquante : 0

4) Saveurs :

Description de la Saveur : Sucrée : 0 Acide : 0.5 Salée : Amer : 0

Description des sensations : Douceur : 1 Crémeux : 0,5 Onctueux : 0,25 Fondant : 0.15

Piquant : 0

5) Description de la finale à la bouche

Agréable : 1 Riche en arôme : 0.25 Plutôt courte : 0

Très typique : 0.5 Intense et persistance : 0.15