

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomique

THESE

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle LMD

Domaine : SNV

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Production et Biotechnologie Animales

Présentée par : Mme. BOUTERFA ép. BENGUENDOZ Asma

Sous le thème

**Authentification et variabilité des fromages à pâtes molle type
Camembert : influence du stade physiologique de la vache
laitière**

Devant le jury :

M. Halbouch Miloud	Professeur. Univ. Mostaganem	Président
M. Bekada Ahmed M.A	Professeur. C.U.Tissemsilt	Directeur de thèse
M. Homrani Abdelkader	Professeur. Univ. Mostaganem	Co directeur de thèse
M. Cheriguene Abderrahim	Professeur. Univ. Mostaganem	Examineur
Mme. Doukani Koula	Maitre de conférences. Univ. Tiaret	Examinatrice
M. Amrane Abdeltif	Professeur, E.N.S.C. Univ. Rennes 2	Invité

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Avant tout, permettez-moi de rendre grâce à Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force, la volonté et le courage durant toutes ces années d'études et d'efforts pour l'accomplissement de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde et respectueuse gratitude à Monsieur BEKADA. A., Professeur au Centre universitaire de Tissemsilet, qui n'a pas hésité de me faire profiter de son vaste savoir, de sa grande expérience, de ses conseils éclairés, de son indulgente compréhension, de sa constante disponibilité et de sa bienveillance.

Je n'oublierai pas d'adresser mes remerciements les plus chaleureux à Monsieur HOMRANI. A., co-directeur de thèse et Professeur à l'université Abdel Hamid Ibn Badis de Mostaganem pour sa disponibilité, sa patience, ses judicieux conseils, et surtout de m'avoir fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail de thèse.

Qu'il me soit permis d'adresser mes sincères remerciements à Monsieur HALBOUCHE. M., Professeur à l'université Abdel Hamid Ibn Badis de Mostaganem qui a bien voulu présider cet honorable jury.

Je tiens aussi d'exprimer ma gratitude à Madame DOUKANI. K., Maitre de conférence à l'université de Tieret, de m'avoir fait de l'honneur de bien vouloir examiner mon travail.

Tous mes remerciements s'adressent également à Monsieur CHERIGUENE A., Professeur à l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner la présente thèse.

J'exprime mes vifs remerciements et reconnaissance à Monsieur AMRANE A., Professeur à l'université de Rennes II, pour sa disponibilité, son aide précieuse et ses judicieux conseils.

Par ailleurs, il ne m'est pas possible de ne pas adresser mes remerciements les plus chaleureux à :

- ❖ Mon cher époux et mes deux petits garçons (El Hassane et El Housseine)
- ❖ Ma chère sœur Fatima, mon cher beau-frère Amine
- ❖ Ma chère belle-mère Nounou
- ❖ Mes chers beaux-parents Latifa et Ali
- ❖ Mon beau-frère Madjid et ma belle-sœur Asma

Pour leur aide précieuse, leur présences et encouragements à réaliser ce modeste travail.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Pr HOMRANI Abdelkader Directeur de Laboratoire de Recherche des Sciences et Techniques de Production Animale ainsi qu'à l'ensemble du personnel du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale de l'Université de Mostaganem pour leur concours déterminant dans la réalisation de ce travail.

De même, il convient d'adresser mes plus vifs remerciements à Pr BOUDEROUA Kaddour ainsi qu'à l'ensemble du personnel du Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition de l'Université de Mostaganem.

Je voudrais remercier également Monsieur Benabdelmoumen D. Maitre de conférences à l'Université de Mostaganem pour son aide précieuse portant sur l'ensemble de ce travail.

J'adresse aussi mes sincères remerciement à Dr Belabess Mohamed, Dr Homrani Mounia, Dr Sassi El hachemi pour leurs encouragements

Je n'oublierai pas la contribution de Monsieur Krideche Abdelaziz qui a bien voulu se charger d'assurer l'acheminement des échantillons de laits soumis à analyse.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également à l'ensemble de mes professeurs, notamment Mme Benkritli Djamila, mon professeur de sciences au CEM, Mr

Beladjel mon professeur de sciences au lycée, Mr Ghaffour, Mr Guelamallah, Mr Debba, Mr Didi (allah yerhmou), Mr Tafer, Mr Lotmani, Mr Tadj, Mr Zelmat, Mme Boualeme, Mme Boufadi, ainsi qu'à tous ceux que je n'ai pu citer dans le cadre de ce modeste ouvrage.

Enfin, avant de conclure je voudrais rendre un vibrant hommage à toutes les personnes connues ou anonymes qui ont bien voulu m'apporter leur soutien moral et matériel dans l'élaboration de ce document.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

La mémoire de ma mère, Bouterfa Amina, une femme exceptionnelle et maman idéale, qui s'est sacrifiée durant toute sa vie pour nous, qui a rêvé de notre réussite et a toujours cru en nous ... Son amour, son soutien, et ses précieux conseils m'ont accompagné même après son départ, elle a su comment semer en nous les graines de succès....

Un infini merci mama

Mon cher père, Bouterfa Abdelhamid, l'homme exemplaire et père idéal, en signe d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour tous les sacrifices, le soutien dont il a fait à mon égard...ses encouragements m'ont illuminé le chemin durant toutes ces années d'études. C'est grâce à lui que je suis devenue ce que je suis aujourd'hui... je suis fière d'être sa fille, fière des valeurs qu'il m'a transmises...

Un infini merci papa...

Je vous aime

Listes des Abréviations

ADH : Activité Arginine dihydrolase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AGCC : Acides gras à courtes chaines

AGLC : Acides gras à longues chaines

ANP : apport non protéique

ARN : Acide Ribonucléique

CLA : acide linoléique conjugué

CPG : chromatographie en phase gazeuse

EPS : Exopolysaccharides

ESD : Extrait sec dégraissé

EST : Extrait sec totale

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

HTST: High Temperature Short Time (pasteurisation à haute température courte durée)

MA : matière azoté

MG : Matière grasse

MGLA : matière grasse laitière anhydre

MO : Matière organique

MP : Matière protéique

MS : Matière sèche

OGA : gelosé à l'oxytétracycline glucose Agar

PI : production initiale

PM : production maximale

SL : Stade de lactation

SS : Salmonella-Shigella

TAGS : Total des acides gras saturés

TB : Taux butyreux

TP : Taux protéique

UFL : Unité Fourragère Lait

VF : Viande-foie

VRBG : Violet Red Bile Glucose Agar

VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar

Liste des figures

Numéro de figure	Titre	Page
1	Composition de la matière grasse du lait	6
2	Structure d'une sub-micelle caséique	7
3	Évolution du TP et TB du lait en fonction du stade de lactation	17
4	Représentation schématique des principales voies métaboliques des bactéries lactiques ayant des impacts technologique	20
5	Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres Associés, obtenu par analyse des ARNr 16S	23
6	Diagramme des différentes étapes de fabrication du camembert	39
7	Teneurs en MG selon les trois phases de lactations	46
8	Teneurs en protéines selon les trois stades de lactation	47
9	Valeurs d'extrait sec dégraissé selon les trois stades de lactation	48
10	Taux de lactose selon trois stades de lactation	49
11	Valeurs du pH selon les trois stades de lactation	50
12	Valeurs d'acidité selon les trois stades de lactation	51
13	Valeurs de Densité selon les trois stades de lactation	52
14	Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu MRS	61
15	Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu M17	61
16	Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100	61
17	Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100	61
18	Résultats de la croissance à la température de 6°C	63
19	Résultats de la croissance à la température de 30°C	63
20	Résultats de la croissance à la température de 45°C	63
21	Résultats de la thermorésistance	63
22	Résultats de la croissance à pH=4	65
23	Résultats de la croissance à pH=9.6	65
24	Résultats de la croissance en milieu hyper salé à NaCl= 4%	65
25	Résultats de la croissance en milieu hyper salé à NaCl= 6.5%	65
26	Résultats de la croissance dans le lait de Sherman à 0.1%	66
27	Résultats de la croissance dans le lait de Sherman à 0.3%	66
28	Résultats du type ferementaire	67

29	Résultats de l'ADH	67
30	Résultats de la production de l'acétoïne	68
31	Résultats de la fermentation des sucres	70
32	Secteurs de répartition des genres des bactéries lactiques	72
33	Moulage	76
34	Égouttage	76
35	Affinage	76
36	Minéralisateur Kjeldhal (DKL series VELP Scientifica)	77

Listes des tableaux

Numéro du tableau	Titre	Page
----------------------------------	--------------	-------------

1	Classification des protéines	7
2	Composition du lait en sels minéraux en mg/ 100 ml	9
3	Résultats du contrôle laitier par race sur l'ensemble des lactations	11
4	Influence du numéro de lactation sur la quantité et la composition du lait produit	12
5	Flore originelle du lait cru	14
6	Principaux genres des bactéries lactiques	24
7	Composition moyenne comparée du lait et des fromages	33
8	Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage	38
9	analyses physico-chimiques des laits récoltés dans les trois stades de lactation	45
10	valeurs des bactéries d'altérations et pathogènes des laits de vache récoltés selon le stade de lactation	52
11	Critères morphologiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache	62
12	Résultats des tests physiologiques	64
13	Résultats des tests biochimiques	69
14	Résultats de profil fermentaire des souches isolées	70
15	Identification des souches lactiques isolés à partir du lait de vache	71
16	Physico-chimie des Camemberts des 3 stades de lactation	81
17	Teneur en matière grasse (MG, %) et profil en acides gras des camemberts fabriqués en selon le stade de lactation	84
18	Évolution du pH durant la période de l'affinage des différents échantillons de camemberts étudiés (14 jours)	87
19	Recherche des bactéries pathogènes et d'altérations dans les différents échantillons de Camemberts étudiés exprimées en UFC /g	88
20	Évolution de la croissance des bactéries lactiques dans les camemberts des trois stades de lactation au cours de l'affinage	90

Sommaire

Remerciements
Dédicaces
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Résumé Français
Résumé Anglais
Résumé Arabe

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Lait : composition physico-chimique, microbiologique, et intérêt nutritionnel

I- Qualité nutritionnelle 4

II- Composition du lait 4

II-1- les différentes phases du lait 4

II-2- Eau 4

II-3- Glucides 5

II-4- Matière grasse 5

II-5- Protéines 6

a- caséines 6

b- protéines de lactosérum 8

II-6- Minéraux..... 9

II-7- Enzymes 9

II-8- Vitamines 9

II-9- Hormones 9

III- Facteurs influençant la composition du lait 10

III-1- Facteurs liés à l'animal 10

III-1-1 Effet génétique 10

III-1-2- Facteurs physiologiques	11
III-1-2-1- Age au premier vêlage	11
III-1-2-2- Rang de mise bas	11
III-1-2-3- Stade de lactation	12
III-2- Facteurs liés à l'environnement	12
III-2-1- Facteurs alimentaires	12
III-2-2- Facteurs climatiques et saisons.....	13
IV- Microbiologie du lait cru	13
IV-1- Microorganismes du lait	13
IV-2- Flore originelle	14
IV-3- Flore de contamination.....	14
V- Influence du stade de lactation	15
V-1- Définition	15
V-1-1- Début de la lactation	15
V-1-2- Milieu de la lactation	16
V-1-3- Fin de la lactation	16
V-1-4- Tarissement	16
V-2- Effet du stade de lactation sur la qualité du lait	17

Chapitre 2 : Bactéries lactiques

I-Généralités sur les bactéries lactiques	19
II-Caractéristiques des bactéries lactiques	20
II-1- Caractères morphologiques	20
II-2- Caractères biochimiques et physiologiques	21
II-3- caractères de la structure	21
II-4- Habitat des bactéries lactiques	21
II-5- Taxonomie des bactéries lactiques	21
II-6- Classification des bactéries lactiques	23
II-6- 1- Les différents genres des bactéries lactiques	23
II-6- 2- Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques	24
II-6- 2-1- Genre <i>Lactobacillus</i>	24
II-6-2-2- Genre <i>Lactococcus</i>	25
II-6-2-3- Genre <i>Streptococcus</i>	25

II-6-2-4- Genre <i>Enterococcus</i>	26
II-6-2-5- Genre <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	26
II-6-2-6- Genre <i>Pediococcus</i>	27
II-6-2-7- Genre <i>Bifidobacterium</i>	27
II-6-2-8- Genre <i>Vagococcus</i>	27
III-Biodiversité des bactéries lactiques dans les fromages	27
IV-Intérêts et rôles des bactéries lactiques dans l'industrie agroalimentaire	28
IV- 1-Domaine alimentaire	28
IV-1-1-Pouvoir texturant.....	28
IV-1-2-Pouvoir aromatisant	29
IV-1-3-Pouvoir acidifiant	29
IV-1-4-Pouvoir protéolytique	29
IV-1-5-Pouvoir lipolytique.....	30
IV-1-6-Pouvoir antibactérien.....	30
5IV-2-Domaine de la santé	30

Chapitre 3 : Généralités sur le fromage

I-Définition du Fromage	32
II- Fromage à pâte molle type Camembert	32
II-1- Caractéristiques et valeurs nutritionnelles	32
II-1-1- Définition	32
II-1-2- Composition et valeur nutritionnelle	32
II-2- Étapes de la fabrication	34
II-2-1- Nature de la matière première	34
II-2-2- Traitement préliminaire du lait	34
II-2-2-1- Standardisation	35
II-2-2-2- Homogénéisation	35
II-2-2-3- Traitements thermiques	35
II-2-3- Étapes clés de la fabrication du Camembert	36

II-2-3-1- Phase ensemencement- maturation	36
II-2-3-2- Coagulation	36
II-2-3-3- Égouttage	37
II-2-3-6- Salage	37
II-2-3-7- Affinage	37
II-2-3-8- Conditionnement – emballage	40
II-2-3-9- Conservation du Camembert	40
II-3- Place du fromage dans la couverture des besoins nutritionnels	40

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Qualité physico-chimique et microbiologique des échantillons du lait de vache des différents stades de lactation

I-Objectifs.....	41
II-Matériels et Méthodes	41
II-1- Échantillonnage	41
II-2-Analyses physico-chimique du lait	41
II-2-1- Analyses effectués à l'aide de l'appareil « Lactostar »	41
II-2-2- Acidité titrable	42
II-2-3- pH	42
II-3- Analyses microbiologiques	42
II-3-1- Flore mésophiles totale	42
II-3-2- Flore lactique	43
II-3-2-1- Dénombrement des Streptocoques lactiques	43
II-3-2-2- Dénombrement des Lactobacilles	43
II-3-3- Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfito-réducteurs.....	43
II-3-4- Les levures et moisissures	43
II-3-5- Dénombrement des coliformes totaux	43
II-3-5-1-Dénombrement des coliformes fécaux	44
II-3-5-2- Dénombrement des streptocoques fécaux	44

II-3-6- Recherche des salmonelles	44
II-3-7- Dénombrement des staphylocoques	44
II-4- Traitement statistique	44
III-Résultats et discussion	45
III-1- Résultats des analyses physico-chimiques	45
III-1-1 Matière grasse	45
III-1-2- Matière protéique.....	46
III-1-3- Extrait sec dégraissé (ESD)	48
III-1-4- Teneur en lactose.....	49
III-1-5- pH	49
III-1-6- Acidité	50
III-1-7- Densité.....	51
III-2- Résultats des analyses microbiologiques	52
III-2-1- Dénombrement de la flore totale aérobies	53
III-2-2- Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	53
III-2-3- Dénombrement des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	54
III-2-4-Dénombrement des coliformes totaux	54
III-2-5- Dénombrement des coliformes fécaux	54

Chapitre 2 : Isolement de la flore lactique à partir d'un lait de vache récolé selon les trois stades de lactation

I-Objectifs.....	56
II-Matériels et Méthodes	56
II-1- Provenance des échantillons	56
II-2- Milieux de cultures utilisés	56
II-3- Caractérisation phénotypique et technologique des isolats	57
II-3-1- Caractérisation phénotypique	57

II-3-1-1- Isolement et purification	57
II-3-1-2- Examen macroscopique	57
II-3-1-3- Examen microscopique	57
II-3-1-4- Recherche de la catalase	57
II-3-1-5- Conservation	58
II-3-2- Identification des isolats	58
II-3-2-1- Croissance à différentes températures et test de thermorésistance	58
II-3-2-2- Croissance des souches dans des conditions hostiles	58
II-3-2-2-1- Croissance à différents pH	58
II-3-2-2-2- Culture sur milieu hypersalé	59
II-3-2-2-3- Croissance sur le lait bleu de Sherman	59
II-3-2-2-4- Activité Arginine dihydrolase (ADH).....	59
II-3-2-2-5- Production de l'acétoïne (A-M-C)	59
II-3-2-2-6- Recherche de type fermentaire	59
II-3-2-2-7- Profil fermentaire des sucres	60
III-Résultats et discussion	60
III-1- Caractérisation des bactéries lactiques	60
III-1-1- Isolement	60
III-1-2- Examen macroscopique et microscopique	60
III-1-3- Caractères physiologiques	62
III-1-3-1- Croissance à différentes températures et thermorésistance	62
III-1-3-2- Croissance aux différentes conditions de culture	65
III-1-3-3- Croissance à pH 4 et 9,6.....	65
III-1-3-4- Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl	65
III-1-3-5- Croissance sur lait bleu de Sherman	66
III-1-4- Test biochimiques	66
III-1-4-1- Type fermentaire	66

III-1-4-2- Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH).....	67
III-1-4-3- Production d'acétoïne	68
III-1-4-4- Fermentation des sucres	69
III-1-5- Identification des souches	71
III-2- Discussion générale	72

Chapitre 3: Effet du stade de lactation de la vache laitière sur les qualités physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnelles des camemberts fabriqués à partir du lait du départ

I-Objectifs.....	75
II-Matériels et Méthodes	75
II-1- Échantillonnage	75
II-2- Fabrication artisanale des Camemberts	75
II-3- Analyses physico-chimique du Camembert	75
II-3-1- Mesure de pH et son évaluation au cours de l'affinage	75
II-3-2- Détermination de l'extrait sec total et l'extrait sec dégraissé	77
II-3-3- Détermination de la teneur en protéines	77
II-3-4- Détermination de la matière grasse	78
II-3-4-1- Dosage des lipides totaux (M.G)	78
II-3-4-2- Composition en acides gras	79
II-4- Analyses microbiologiques du Camembert.....	79
II-4-1- Recherche des germes totaux	79
II-4-2- Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	80
II-4-3- Recherche des <i>Staphylocoques aureus</i>	80
II-4-3-Recherche des <i>Salmonelles</i>	80
II-4-4- Recherche des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	80
II-5- Traitement statistique	80

III-Résultats et discussion	81
III-1- Résultats des analyses physico-chimie du Camembert	81
III-1-1- Extrait sec total et dégraissé	81
III-1-2 Protéines	82
III-1-3- Matière grasse	82
III-1-3-1- Dosage des lipides totaux (M.G).....	82
III-1-3-2- Composition en acides gras	83
III-1-4- Evolution du pH	87
III-2- Microbiologie du camembert	88
III-2-1- Estimation de la qualité sanitaire des camemberts expérimentaux	88
III-2-1-1- Flore aérobies mésophile totale	88
III-2-1-2- Coliformes totaux	89
III-2-1-3 Coliformes fécaux	89
II-2-1-4 <i>Staphylococcus aureus</i>	89
II-2-1-5 Salmonelles	89
II-2-1-6 <i>Clostridium sulfito-réductrices</i> à 44°C	89
III-2-2- Suivi des bactéries lactique	90
Conclusion générale	92
Références bibliographiques	95
Annexes	

Introduction

Le lait de vache est considéré comme une source essentielle de nutriments, très largement répondu en nutrition humaine. Il est une source incontournable en protéines (3,9%) et en lactose (3,2%) **Jensen et al., (1991)**. En outre, il contient d'autres nutriments importants tels que les oligo-éléments, minéraux (0,7%) et les triglycérides, ainsi une source de plus de 400 acides gras, tels que les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés bénéfiques (**Jensen, 2002**), l'acide ruménique considéré comme étant un acide linoléique conjugué (CLA, C18 : 2 cis-9, trans-11), l'acide linoléique (C18 : 2 cis 9,12), acide α -linoléique (C18 : 3 cis 9,12,15) et l'acide oléique

(C9 C18 : 1) (**Rutkowska et al., 2012**). En plus de ces acides gras, il existe d'autres présents dans la matière grasse du lait, appartenant au groupe des acides gras à chaînes irrégulières et ramifiées. Ces acides gras induisent des effets anticarcinogènes et peuvent être utilisés comme des outils potentiels de diagnostic de la fonction du rumen (**Vlaeminck et al., 2006**). De plus, les acides gras essentiels à courte chaîne (AGCC) possèdent également des propriétés biologiques, physiologiques et nutritionnelles hautement bénéfiques. Ils jouent un rôle fondamental dans l'activité anticarcinogène, dans l'inactivation de la croissance de microorganismes pathogènes ainsi que dans le potentiel thérapeutique des maladies touchant le colon (**Adamska et al., 2017**).

Par ailleurs, plusieurs études portées sur plusieurs espèces de ruminant ont révélé que la composition en acides gras des fromages dépend de la nature du lait de fabrication (**Adamska et al., 2017**). Cependant, la composition en acide gras contenue dans le lait destiné à la fabrication du fromage est affectée par plusieurs facteurs fondamentaux, à savoir la nature du régime alimentaire distribué aux animaux, la saison, le processus de fabrication appliqué et le stade de lactation (**Chilliard et al., 2006**). Ces facteurs de variations peuvent avoir des conséquences sur les caractéristiques quantitatives et qualitatives du fromage fabriqué (**Colin et al. 1992**). De plus, ces mêmes facteurs revêtent une importance particulière dans le cas des fromages appelés « Fromages à contrôle d'origine », car les modifications du lait de départ doivent être limitées, voire interdites pendant le traitement. Seul l'effet du stade de lactation sur le rendement en fromage est toléré puisqu'il dépend de la physiologie de l'animal (**Kefford et al. 1995**). En outre, les lipides et les acides gras du lait sont considérés comme des éléments importants qui influencent la valeur nutritionnelle des fromages fabriqués tels les fromages à pâte molle de type Camembert (**Adamska et al., 2017**).

Selon une étude menée par **Schlienger et al. (2014)**, les fromages fermentés comme le camembert pourraient être consommés quotidiennement par les personnes atteint d'hypercholestérolémie modérée.

Dans un autre contexte, La flore microbienne du lait cru, composée essentiellement de bactéries lactiques est connue pour ses aptitudes acidifiantes et son implication dans la formation du goût, des arômes et de la texture de nombreux produits laitiers dont les fromages (**Tormo, 2010**). Au-delà des technologies fromagères, les bactéries lactiques sont impliquées aussi dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (**Stiles et Holzappel, 1997**), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut « Generally Recognized As Safe », excepté pour les entérocoques (**Klaenhammer et al., 2005**).

Il est important de signaler que les ferments lactiques jouent un rôle prépondérant dans le processus technologique de transformation du lait et dans la recherche de nouvelles souches connues pour leurs activités biologiques intéressantes dans le secteur de l'industrie laitière (**Boumehira et al., 2011**). En industrie fromagère, les bactéries lactiques sont impératives dans les premières étapes de la transformation du lait, mais elles agissent aussi, directement et indirectement, dans la grande phase d'affinage et dans la qualité sanitaire des produits (**Lee et al., 2006**). Leur action est en relation directe à deux aspects de leur métabolisme : l'activité protéolytique et la production d'acide lactique (**Desmazeaud, 1998**). L'utilisation industrielle des bactéries autochtones (comme Starters) semble être une voie plus prometteuse, cependant peu étudiée (**Fall, 2011**). Enfin, les bactéries lactiques sont considérées comme bénéfiques et sont largement connues pour leur effet probiotique et peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé du consommateur en contribuant à sa protection contre certaines maladies ou à prévenir certaines carences (**Turpin, 2011**).

Dans ce travail de recherche, nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact de la variabilité de la composition de lait de vache en tenant compte de la variation du stade physiologique de lactation des vaches laitières et son influence sur la qualité physico-chimique et microbiologique. En outre, dans cette étude nous allons étudier l'effet du stade de lactation sur la qualité physico-chimique et microbiologique d'un fromage artisanal à pâte molle de type Camembert.

Pour ce faire, ce travail fera l'objet de deux grandes parties :

La première partie : Une étude bibliographique dans laquelle nous avons apporté des rappels surs :

- les intérêts nutritionnels et technologiques du lait de vache cru
- les intérêts des bactéries lactiques en industries laitières
- intérêts et propriétés nutritionnels des fromages fabriqués à partir de lait de vache

❖ La deuxième partie : mettra en relief les étapes de l'expérimentation et l'organisation générale des essais. Il est à noter que cette partie de notre travail de recherche était scindée en trois grands projets, à savoir :

- 1) Qualité physico-chimique et microbiologique des échantillons du lait de vache des différents stades de lactation
- 2) Isolement de la flore lactique à partir d'un lait de vache récolté selon les trois stades de lactation
- 3) Effet du stade de lactation de la vache laitière sur les qualités physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnelles des camemberts fabriqués à partir du lait du départ

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Lait : composition physico-chimique, microbiologique, et intérêt nutritionnel

I- Qualité nutritionnelle

Le lait de vache accapare la production mondiale soit une moyenne de 90%, il en est de même pour les pays tropicaux avec un pourcentage de 70% (FAO, 1998). Ce lait est considéré étant une source riche en grande variété de nutriments essentiels tels les minéraux, les vitamines et les protéines facilement assimilables, ce qui le rend essentiel à l'ensembles des fonctions du corps (Steijns, 2008).

Le lait et les produits laitiers renferment des nutriments fonctionnels tels que les phytostérols, les acides gras et plusieurs genres de bactéries probiotiques. Ces ingrédients sont qualifiés en promotion de la santé. (Steijns, 2008). De plus, les protéines laitières participent à la construction des tissus et de la masse musculaire chez les nourrissons, les personnes âgées, hospitalisés et les athlètes. (Steijns, 2001).

Les laits produits à partir de différentes espèces de mammifères jouissent des caractéristiques similaires et contenant des composants communs : eau, protéines, lactose, matières grasses et minérales. Néanmoins, les valeurs de ces composants s'avèrent différentes d'une espèce à une autre.

II-Composition du lait

II-1- Les différentes phases du lait

Selon Fredot (2006), le lait renferme trois phase

- Une phase aqueuse, contenant le lactose, les protéines sériques, les composants minéraux solubles, l'azote non protéique et la fraction soluble de la caséine
- Une phase gazeuse, comprend l'oxygène et le CO₂ dissous (5% du volume du lait)
- Une phase contenant les éléments en suspensions comme les globules gras, les cellules microbiennes et les leucocytes.
- Une phase micellaire comportant les protéines coagulables sous forme de caséines, ainsi que la fraction insoluble des composés minéraux.

II-2- Eau

Selon Amiot et al., (2002), l'eau est le composant le plus considérable du lait, en proportion. L'eau est caractérisée d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui accordent un caractère polaire. Au moyen de ce caractère polaire une solution vraie est formé avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Cependant, les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles forment alors une émulsion du type huile dans l'eau. Également

pour les micelles de caséines qui sont de caractère solides, forment une suspension colloïdale dans l'eau.

Mahaut et al., (2003) ont enregistré une quantité moyenne d'eau de l'ordre de 875 g /l de lait, cette dernière se trouve sous deux états :

- L'eau extra micellaire, représente environ 90% de l'eau totale, contenant la quasi-totalité du lactose, des sels minéraux solubles, de l'azote soluble. Il est à noter que les éléments hydrosolubles dont les protéines solubles sont liées à une petite partie de cette eau.

- L'eau intra micellaire, représente environ 10% de l'eau totale, une partie de cette eau est liée aux caséines et la deuxième se caractérise par des propriétés de solvants. Alors, les transferts de cette eau dans les opérations de déshydratation et hydratation semblent beaucoup plus lents.

II-3- Les glucides

Le lactose est le sucre primordial du lait ; il prédomine ainsi la composition de la matière sèche total (**Luquet, 1985 ; Mathieu, 1998 ; Dosogne et al., 2000**). La teneur moyenne en lactose dans le lait de vache est d'environ 49 g/l (**Alais, 1984**). D'autres glucides peuvent se trouver en petite quantité tel le glucose et les galactoses qui résultent de l'hydrolyse du lactose ; bien entendu que certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi, le lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70% (**Amiot et al., 2002**).

II-4- La matière grasse

Selon **Jeantet et al., (2008)**, la matière grasse du lait est composée essentiellement de triglycérides (98%), et est présente sous forme de globules gras d'un diamètre de 0.1 à 10 µm. La matière grasse du lait de vache exprime la moitié de l'apport énergétique de ce lait. Cette dernière est composé de 65% d'acides gras saturés de 35% d'acides gras insaturés. La matière grasse du lait est constitué d'une grande variété d'acides gras (plus de 150 d'acides différents), les acides gras à courtes chaînes sont plus dominant par rapport au acides gras à longues chaînes ; avec une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0) et une teneur moyenne en acide stéarique (C 18 :0).

La **figure 1** illustre un globule gras du lait. La membrane est constituée de phospholipides, de lipoprotéines, de cérobroside, de protéines, d'acides nucléiques, d'enzymes et d'oligo-éléments (métaux) et d'eau (**Bylund, 1995**).

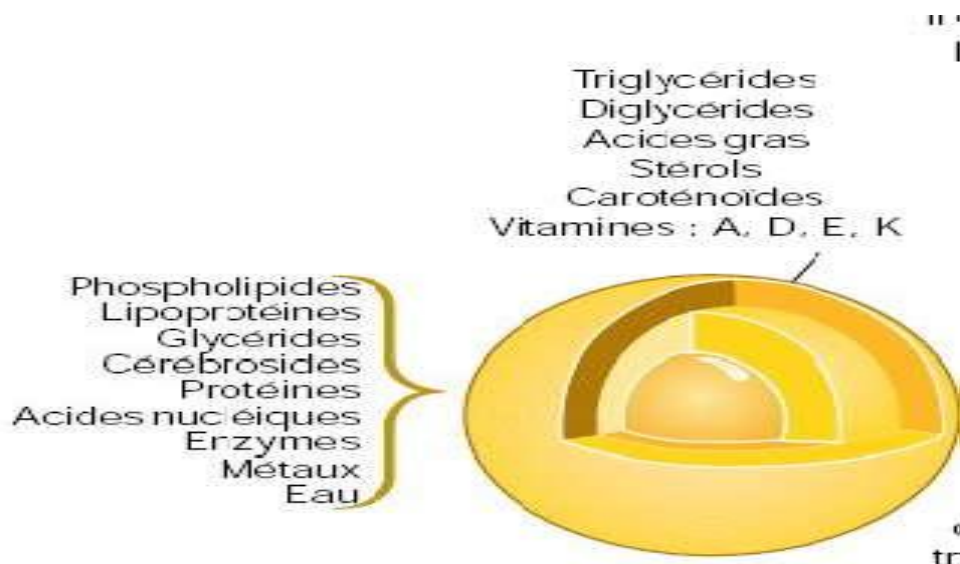


Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait (Bylund, 1995)

La matière grasse du lait est constituée d'1% de phospholipides. Ces derniers sont riches en acides gras insaturés. Par ailleurs, Le lait de vache renferme un taux réduit en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait maternelle (1.6% contre 8.5% en moyenne) (Jeantet *et al.*, 2008).

Selon Stoll (2003), l'acide acétique et l'acide butyrique sont les principaux constituants de la matière grasse du lait. L'acide acétique est le produit des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et l'acide butyrique est formé à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre de betterave). Ainsi, la matière grasse du lait résulte des réserves lipidiques mobilisables de la vache. Enfin, dans certaines conditions, la matière grasse du lait renferme des graisses alimentaires.

II-5- Protéines

D'après Jeantet *et al.*, (2007), le lait de vache contient 3.2 % à 3.5 % de protéines, classés en deux genres différents : les caséines, qui représentent 80 % des protéines totales ; et les protéines sériques, qui représentent 20 % des protéines totales. Ces deux genres de protéines précipitent à un pH de 4.6.

La classification des protéines est illustrée dans le **tableau 1**.

a-Caséines

La caséine est un polypeptide complexe, formé suite à la polycondensation de différents aminoacides citant la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. La caséinate de calcium

forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de 0.1 μm . (Fig . 2) (Jean et Dijon., 1993).

La caséine est composée de 94% de protéine, 3% de Calcium ,2.2% de phosphore, 0.5% d'acide citrique et de 0.1% de Magnésium. (Adrian et al., 2004).

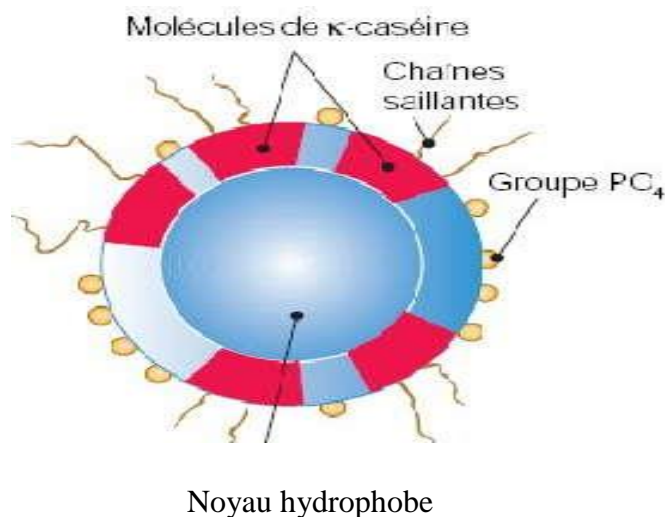


Figure 2 : Structure d'une sub-micelle caséique (Bylund, 1995)

Tableau 1 : Classification des protéines (Brunner, 1981 cité par Pougeon, 2001)

Noms	Pourcentage de Protéines (%)	Nombre d'AA
Caseines	75-85	
Caséines α_{s1}	39-46	199
Caséines α_{s2}	8-11	207
Caséines β	25-35	209
Caséines k	8-15	169
Caséines g	3-7	
Protéines du lactosérum	15-22	
-Lactoglobuline	7-12	162
-Lactalbumine	2-5	123
Serum albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G ₁ , G ₂ , A, M)	1.9-3.3	-
Protéose- peptone	2-4	-

AA : Acide aminé

b-Protéines du lactosérum

Le lactosérum du lait de vache renferme 15 % à 28 % de protéines et 17 % de matière azotées (Debry, 2001). Selon Thapon (2005), les protéines du lactosérum ont une excellente valeur nutritionnelle, par leurs richesses en acides aminés soufrés, en lysine et en tryptophane.

- **L' α -lactalbumine**

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés, caractérisée par trois variantes génétiques (A, B, C). Cette protéine est considérée comme Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22 % des protéines du sérum (Vignola, 2002).

- **La β -lactoglobuline**

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum du fait qu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1. La β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (Debry, 2001).

- **Le sérum-albumine**

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comportant un seul variant génétique A qui est identique au sérum albumine sanguine (Vignola, 2002).

- **Les immunoglobulines**

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines : IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

- **Protéoses-peptones**

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry, 2001).

II-6- Les minéraux

Le lait contient des sels sous formes d'ions. Leurs proportions varient selon l'animal, la race et le stade de lactation. Ces différents sels sont rapportés dans le tableau ci-dessous en mg/ 100 ml (**Hanzen, 1999**).

Tableau 2 : Composition du lait en sels minéraux en mg/ 100 ml selon (**Hanzen, 1999**)

Potassium	Calcium	chlore	Phosphore	Sodium	Soufre	Magnésium
141	123	119	95	58	30	12

Le calcium et le phosphore sont les principaux éléments de la structure de la micelle. Ainsi, ils s'avèrent responsables de sa stabilité, simultanément avec le magnésium. De plus, le potassium, le sodium, le chlore et le lactose sont responsables de l'équilibre de la pression osmotique du lait vis-à-vis du sang (**Hanzen, 1999**).

II-7- Les enzymes

Le lait contient naturellement de nombreuses enzymes, ce sont des éléments organiques de nature protidique, produites par les cellules ou par les organismes vivants. Les enzymes du lait agissent comme des catalyseurs dans les réactions biochimiques (**Luquet, 1985**). Selon **Alais (1984)**, certains enzymes sont présentes sous formes concentrés dans la couche de la surface des globules gras, elles sont emportés dans la crème (réductase aldéhydique, phosphatase); d'autres précipitent avec la caséine à pH=4,6 (protéase, catalase, lipase) (**Adrian et Regine,2003**).

II-8- Les vitamines

Généralement, les vitamines sont de petites molécules de structures très variées, néanmoins, elles occupent habituellement un rôle de coenzyme qui associées à une apoenzyme de nature protéique, produisent une activité biocatalytique. Les vitamines sont classées en deux grandes catégories (**Luquet,1985**):

- Les vitamines hydrosolubles : (vitamine du groupe B, vitamine C) présentes dans la phase aqueuse (lait écrémé, lactosérum).
- Les vitamines liposolubles ;(vitamines A, D, E) associées à la matière grasse (crème et beurre).

II-9- Les hormones

Les hormones qui se trouvent dans le lait appartiennent aux protéo-hormones et aux hormones peptidiques et aux hormones stéroïdes (**Luquet, 1985**). Selon **Alais (1984)**, le lait ne contient que très peu d'hormones ; la mamelle n'en produit pas et seulement 1 à 2% des hormones exogènes sont éliminées par cette voie.

III-Facteurs influençant la composition du lait

Selon **Coulon (1994)**, la composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'influence de multiples facteurs. Les principaux facteurs sont liés à l'animal (facteurs Génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...), au milieu et à la conduite d'élevage (Saison, climat, alimentation).

III-1- Facteurs liés à l'animal

Ce sont les facteurs intrinsèques, ils sont d'ordre génétique, physiologique (âge au Premier vêlage, rang de mise bas, stade de lactation, état de gestation...) et sanitaire.

III-1-1- Effet génétique

Le rendement d'un animal dépend de son potentiel génétique (génotype) et des conditions d'élevage (environnement). De plus, pour avoir une production laitière importante, il est nécessaire d'assurer à l'animal, les conditions d'élevage adéquates pour extérioriser son Potentiel (**Boujenane, 2003**). Selon le même auteur, si le potentiel génétique de l'animal est faible, son rendement le sera aussi, même si les conditions d'élevage sont très perfectionnées. Il semble alors que la performance d'un animal est toujours inférieure ou égale à son potentiel génétique. Le **tableau 3** illustre les résultats de contrôle laitier par race sur l'ensemble des lactations d'après **l'Institut de l'élevage (2018)**.

D'autre part, **Coulon et al., (1991)** ont constaté que le facteur race des vaches laitières influence sur le taux protéique et butyreux (TP et TB). Ainsi, le facteur génétique, agit sur le volume et la composition du lait produit. Ce sont les Frisonnes qui produisent le plus grand volume de lait, en moyenne 7890 kg par vêlage. Cependant, le lait produit à partir des vaches les moins productives se caractérise par leurs richesses en corps gras (5%), contrairement aux Frisonnes qui fournissent un lait contenant que 3,61%. Selon **Froc et al., (1988)**, la race Normande produit moins de lait par rapport à la Pie Noire (- 4kg/j), mais se caractérise par des taux protéiques (+ 2 à + 2,5 ‰), butyreux (+ 2 à + 3 ‰) et calciques (+ 0,1 ‰) nettement plus élevés et des micelles de caséine plus petites.

Tableau 3 : Résultats du contrôle laitier par race sur l'ensemble des lactations

	Nb de lactation	% sur total	Durée de lactation/jour	Production moyenne/kg	TB (g/kg)	TP (g/kg)
Prim Holstein	1 428 836	66.1	366	11 206	39.7	32.1
Montbéliarde	382 681	17.7	334	8 570	39.0	33.2

Source : Institut de l'élevage,(2018)

III-1-2-Facteurs physiologiques

III-1-2-1- Age au premier vêlage

L'âge au premier vêlage est lié au poids corporel et au développement général lors de la première saillie. Selon **Craplet et al. (1973)** le poids corporel au premier vêlage doit être d'environ 60 à 70 % du poids adulte. En outre, plus le poids de la vache laitière au vêlage diminue, plus sa production laitière décline en première lactation (**Wolter, 1994**). **Craplet et al. (1973)** notent qu'en France, dans une région peu étendue et au sein de la même race, les génisses vèlent à des âges très différents. D'autres auteurs ont constaté que la grande variation de l'âge au premier vêlage selon les races, pouvant aller jusqu'à sept mois (**Bougler et Tondu, 1972**).

III-1-2-2- Rang de mise bas

Le développement de l'activité sécrétoire de la mamelle dépend principalement de l'âge de l'animal. Chez les vaches bien exploitées, la capacité productive s'élève progressivement (**Tableau 4**). Le sommet de la production lactée est atteint à la 5^{ème} mise basse, aux environs de la 8^{ème} année elle diminue au cours des lactations suivantes (**Zelter, 1953**). Les variations de la production laitière en tenant compte le numéro de lactation, sont justifiés par la variation corporelle, par l'augmentation du tissu mammaire durant les premières gestations et ensuite par leur vieillissement normal. **Craplet et Thibier (1973)** mentionnent que le TB régresse lentement mais régulièrement dès la deuxième lactation pour se stabiliser à partir de la cinquième, cependant le TP reste assez stable au cours des lactations successives.

Tableau 4 : Influence du numéro de lactation sur la quantité et la composition du lait produit

N° de lactation	Nbr des vaches	Quantité de lait produite (L/lactation)	Matière grasse (g/l)	Composition du lait %			
				ESD	MA	Caséine	Lactose
1	187	3310	41.1	90.1	33.6	27.3	47.2
2	138	3590	40.6	89.2	33.5	26.6	46.2
3	108	3840	40.3	88.2	32.8	36.3	45.9
4	102	4110	40.2	88.4	33	26.1	45.7
5	75	3930	39	87.2	32.6	25.4	45.3
6	65	4020	39.1	87.4	33	26.2	44.8
7	44	4260	39.4	86.7	32.5	25.3	44.8

ESD : Extrait sec dégraissé

source : **Robinson et al**

(1973)

III-1-2-3- Stade de lactation

Les teneurs en matières grasses et en protéines du lait évoluent inversement à la quantité de lait produite. Elles sont maximales au début de lactation (période colostrale), pour atteindre leurs minimums au 2^{ème} mois de lactation. Ces taux augmentent plus rapidement dans les trois derniers mois de lactation (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

D'après **Guéguen et Journet, (1961)**, la composition du lait en minéraux varie selon le stade de lactation, une baisse brutale pendant les premiers jours suite au vêlage a été enregistré. En outre, les teneurs en Calcium et en Phosphore du lait régressent légèrement jusqu'à leurs stabilisations en moyenne lactation pour augmenter à nouveau en fin de lactation. Les écarts extrêmes ne dépassent pas 15%. Néanmoins, les teneurs en Potassium et en Sodium subissent des variations importantes et en sens inverse, de 1,7 à 1,3g/L pour le Potassium et de 0,4 à 0,6g/L pour le Sodium.

III-1-3-Facteurs liés à l'environnement

L'environnement de l'animal se caractérise par la réunion des facteurs agissant sur l'expression d'un caractère donné. Ces facteurs sont liés à la conduite d'élevage (alimentation, abreuvement, mode de traite, tarissement, période de vêlage, hygiène, confort ...etc.) et la saison (lumière, température ...etc.)

III-1-3-1- Facteurs alimentaires

L'alimentation est l'un des facteurs de variation de la production laitière, mené par l'éleveur. Une diminution courte et brutale du niveau de l'alimentation engendre une réduction importante de la quantité de lait produite et une chute variable du taux protéique. Cependant, la mobilisation des graisses corporelles résulte un gain très important du taux butyreux du lait produit associée à une modification de la composition en matière grasse (augmentation des acides gras à chaînes longues). En outre, un apport de fourrages à volonté entraîne un meilleur taux azoté avec un accroissement de l'apport non protéique (ANP) et des caséines. L'ajout de matières grasses dans la ration conduit généralement à une baisse du TB. Cela est due à une perturbation des fermentations ruminales, par contre, elle influence la composition en AG de la matière grasse du lait (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

III-1-3-2- Facteurs climatiques et saisonniers

Selon **Pougheon et Goursaud (2001)**, la saison joue un rôle important dans la production du lait d'une façon continue, le TB s'avère minimum en juin – juillet et maximum à la fin de l'automne. Le taux de protéines connaît deux minimums, le premier à la fin de l'hiver et le second au milieu de l'été et se caractérise ainsi par deux maximums, à la mise à l'herbe et à la fin de la période de pâturage.

IV-Microbiologie du lait cru

IV-1- Microorganismes du lait

Le lait comporte un nombre variable de cellules ; ces dernières consistent à des constituants normaux comme les globules blancs ainsi à des éléments d'origine exogène tels des microorganismes contaminants (**Gripon et al., 1975**).

Les microorganismes présents dans le lait sont notamment les bactéries, les levures, les moisissures et les virus. Plusieurs espèces bactériennes ont la capacité de se cultiver dans le lait. Ce dernier représente pour elles, un substrat nutritif. Durant leurs proliférations dans le lait, elles dégagent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, même des toxines entraînant des pathologies chez l'homme (**Institut de l'élevage, 2009**).

Selon **Agabriel et al., (1995)**, les principales caractéristiques des bactéries qui contaminent le lait, ressortent de l'état sanitaire de l'animal et de la nature des fourrages. En outre, **Robinson (2002)** a constaté que la contamination du lait dépend ainsi des conditions hygiéniques lors de la traite, de la collecte, de la livraison et de la température de conservation du lait.

D'autres part, parmi les micro-organismes contaminant le lait, les bactéries altèrent le plus significativement la qualité hygiénique, l'aptitude à la conservation et également la transformation de la matière première (Adda et al., 1982).

IV-2-Flore originelle

Le lait issu d'un animal sain, prélevé dans de bonnes conditions hygiéniques renferme peu de microorganismes (moins de 10^3 germes/ml). Lors de la traite, le lait est quasiment stérile et protégé par des molécules inhibitrices nommés Lacténines dont l'effet se rapproche d'une heure. (Cuq, 2007).

La flore originelle des produits laitiers comporte l'ensemble des microorganismes présents dans le lait au moment de la traite, cette flore est dominée essentiellement par des mésophiles (Vignola, 2002). Elle regroupe des microcoques, des streptocoques lactiques et des lactobacilles.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont étroitement liés avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le tableau n°5 met en évidence les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives. Il importe de signaler qu'une dominance des *Micrococcus sp* est marquée dans le lait cru suivi par les *Lactobacillus*. Cependant les *Streptococcus* ou *Lactococcus* sont très peu répandu dans le lait cru avec un pourcentage de moins de 10%.

Tableau 5 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

IV-3- Flore de contamination

La flore de contamination regroupe l'ensemble des microflores qui contamine le lait, de la traite jusqu'à la consommation. Elle renferme la flore d'altération, qui engendre des défauts sensoriels et réduit la durée de conservation des produits, et aussi la flore pathogène dangereuse détériorant l'état sanitaire (Vignola, 2002).

Ces contaminations peuvent être causées par plusieurs microorganismes provenant de l'environnement tels que les entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, Corynébactéries, *Bacillus*, etc., par le biais du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol et par l'herbe ou la litière.

Des contaminations fécales traduit la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ce qui exige l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (**Leyral et Vierling, 2007**).

Le lait issu d'un animal malade peut contenir d'autres genre de microorganismes, causant des mammites tels les *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactérium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il s'agit ainsi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'infection des mamelles citant *Salmonella* et *Brucella* qui cause la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, qui provoque la listériose, *Mycobacterium bovis* et *Tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon, *Coxiella burnetii* causant la fièvre Q, et quelques virus. (**Leyral et Vierling, 2007**).

La contamination du lait dépend essentiellement des conditions d'hygiène au cours des manipulations, citant l'état de propreté de l'animal et notamment celui des mamelles, du milieu environnementale (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (**FAO, 1995**).

V-Influence du stade de lactation sur la qualité du lait

V-1 Stades de lactation

V-1-1- Début de la lactation

Selon **Faverdin et al., (1987)** le début de lactation se caractérise par l'élévation de la quantité de lait produite parallèlement avec le niveau de production, l'augmentation entre la production initiale (PI= moyenne des 4,5 et 6^{ème} jours) et la production maximale hebdomadaire (PM) est d'environ 6 kg de lait concernant les faibles productrices (PM= 20 kg chez les primipares et 25 kg chez les multipares) contre 10 kg de lait pour les fortes productrices (PM= 30 kg chez les primipares, 45 kg chez les multipares).

Une perte énergétique importante s'observe au début de lactation. Cette perte est due à l'importance des besoins nutritifs, accompagnés d'une faible aptitude d'ingestion de la vache. Cela conduit à la mobilisation des réserves corporelles ; ces derniers sont de l'ordre de 15 à 60kg de matières grasses permettant à produire de 150 à 600 kg de lait, selon le potentiel des

animaux. Néanmoins, les réserves protéiques mobilisables, s'avèrent plus réduite avec une valeur allant de 5 à 10 kg, servent à produire 100 à 200 kg de lait, selon le potentiel des animaux. **(Hoden et al, 1988).**

Par ailleurs, d'après **Sérieys (1997)**, l'ensemble des besoins d'entretien et de gestation tel que la production laitière de la vache diffère dans des proportions importantes allant de la fin de lactation jusqu'au pic de lactation suivante et cela dépend du niveau de production de ces vaches. Selon **Meschy (1992)**, il est inévitable de puiser des réserves minérales osseuses, lors de la production laitière, cela oblige leurs reconstitutions en fin de lactation ou la capacité d'absorption est plus élevée.

V-1-2- Milieu de la lactation

Faverdin et al (1987) ont constaté que la production laitière pendant le deuxième stade de lactation (entre les semaines 10 et 40), est plus importante chez les primipares par rapport au multipares avec un pourcentage de 93.8% contre 89.2% respectivement. Cette phase se caractérise par un bilan énergétique hautement positif, ainsi, les besoins azotés sont plus facilement couverts. Cela est expliqué par la capacité d'ingestion et la réduction des besoins énergétiques. **(Hoden et al,1988).**

V-1-3- Fin de la lactation

La fin de lactation représente les deux derniers mois de lactation. Cette période se traduit par une diminution importante de la production laitière due à l'effet des hormones de gestation.

D'où le rôle de la progestérone à inhiber les contractions de l'utérus en empêchant la naissance prématurée et par conséquent cette hormone inhibe la lactogénèse en éliminant la formation des récepteurs à la prolactine, en bloquant la synthèse de la prolactine par la glande pituitaire et en empêchant la liaison des glucocorticoïdes avec leurs récepteurs **(Martinet et Houdebine, 1993).**

Selon **Dulphy et Rouel (1988)**, en fin de lactation, les vaches ont une capacité d'ingestion importante en entraînant une prise de poids due à la suralimentation (+2,3 UFL dans les 2 essais). De plus, **Walter (2001)** a constaté que pendant cette même phase de lactation, plus les apports en énergies sont excessifs, plus l'engraissement des vaches l'est aussi. Cependant, cet engraissement excessifs ne peut pas être corrigé pendant la période de tarissement. Il est donc recommandé d'éviter les aliments concentrés et de se contenter des fourrages. Ces derniers peuvent suffire largement à couvrir les besoins nutritifs des vaches ayant une grande capacité

d'ingestion. Enfin, l'éleveur est appelé à préparer la vache au tarissement en réduisant les apports alimentaires essentiellement le concentré et en contrôlant les valeurs nutritives mis à la disposition des vaches.

V-1-4- Tarissement

Le tarissement est une phase de repos physiologique avant la lactation suivante. Pendant cette période sèche, la vache ne produit pas de lait et cela dure environ deux mois avant la date du vêlage (**Sérieys, 1997**). Ce repos physiologique est primordial pour la bonne relance hormonale et la régénération des tissus mammaires. D'après **Wolter (1997)**, le tarissement joue un rôle important lors de la préparation des vaches au vêlage sur le plan alimentaire pour le bon démarrage de la lactation et pour la prévention des troubles qui entourent le vêlage. Il se caractérise par des besoins quantitatifs relativement bas mais aussi par des exigences qualitatives en rapport avec la gestation.

V-2 - Effet du stade de lactation sur la qualité du lait

L'effet de stade de lactation sur la composition chimique du lait et sur les variations de sa production ont fait l'objet de nombreux travaux tel **Agabriel et al (1990)** ; **Rémond (1987)** et **Schultz et al (1990)** qui ont constaté que le taux de matières grasses et de protéines évolue inversement avec la quantité du lait produite. Ces mêmes teneurs s'avèrent maximales lors des premiers jours de lactations, minimales en 2eme et 3eme mois de lactation, pour s'accroître ensuite jusqu'à la fin de la lactation. Cette élévation peut être expliquée par l'avancement du stade de gestation, en diminuant la production laitière. Pour les deux taux, les écarts entre les mois extrêmes atteignent 7 g/kg (**Rémond, 1987** ; **Schultz et al, 1990**).

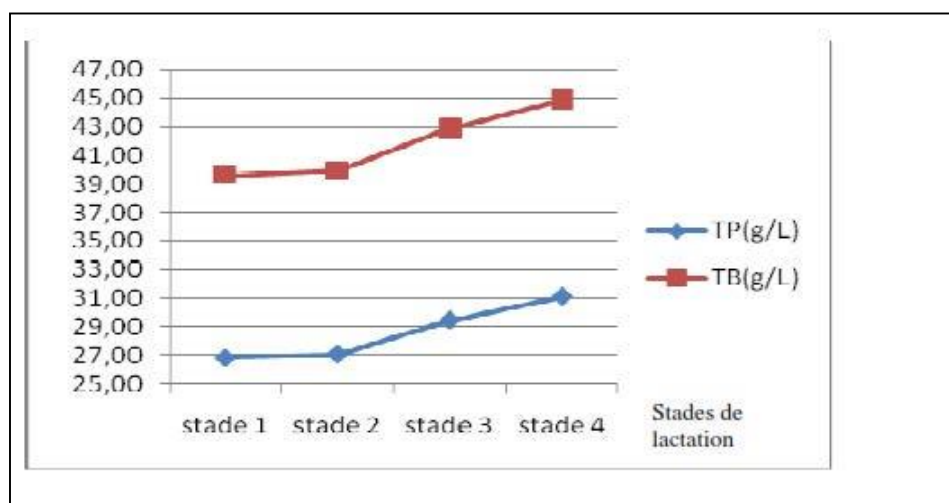


Figure 3 : l'évolution du TP et TB du lait en fonction du stade de lactation

Selon **Coulon et Roybin (1988)**, l'évolution de la production laitière est en moyenne linéaire entre le premier et le huitième mois de lactation et entre le 2ème et le 9ème mois de lactation (**Fig. 3**).

D'après **Agabriel et al., (1990)**, la persistance mensuelle moyenne de la production laitière était de l'ordre de 0.92 ces résultats rejoignent ceux de **Faverdin et al., (1987)** qui ont noté des persistances supérieures chez les primipares égale à 0,93 contre 0,91 chez les multipares. Toutefois, la production laitière demeure inférieure de 3,3 kg/j au cours de leurs trois premiers mois de lactation.

Par ailleurs, **Guéguen et Journet (1961)**, ont rapportés que la composition du lait en minéraux varie selon le stade de lactation. Une diminution brutale de la teneur en minéraux a été observée durant les premiers jours suivant le vêlage, par contre les taux de Calcium et de Potassium du lait régressent graduellement jusqu'à la moyenne lactation ou ces valeurs connaissent une stabilisation pour augmenter à nouveau en fin de lactation. Les écarts extrêmes étaient de l'ordre de 15%. Par contre, les valeurs des Potassium et Sodium ont subi des variations importantes et en sens inverses de 1,7 à 1,3g/L pour le Potassium et de 0,4 à 0,6g/L pour le Sodium.

Chapitre 2

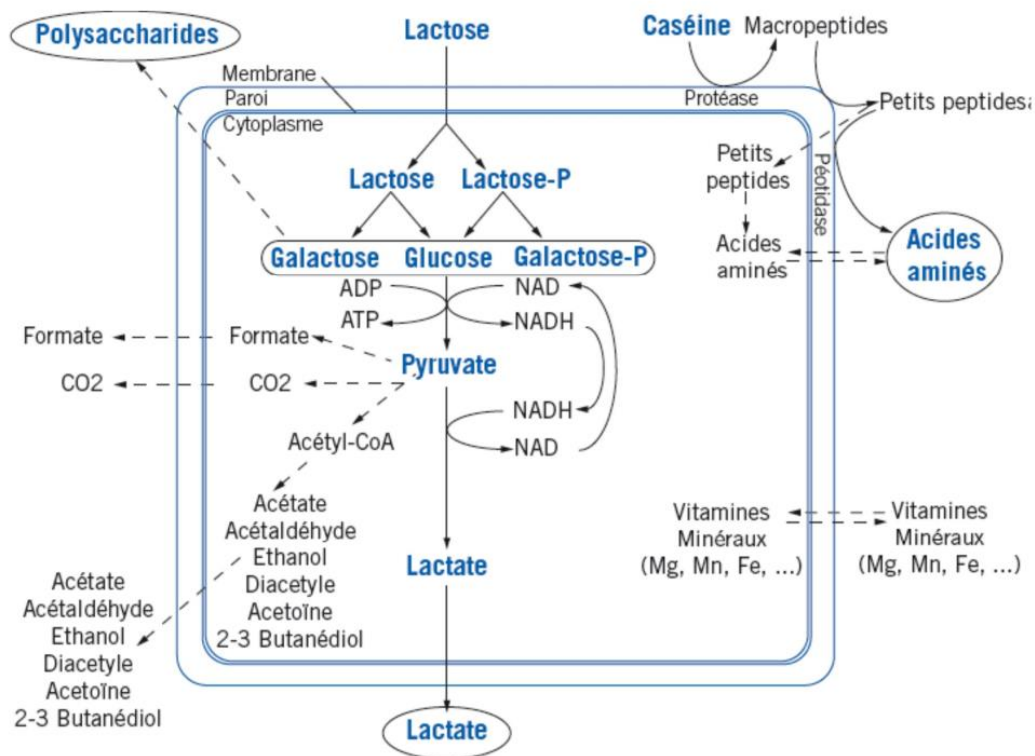
Bactéries lactiques

I- Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été mise en évidence sous plusieurs genres, en 1919 par **Orla-Jensen**, ces microorganismes ont la capacité de fermenter les glucides en induisant la production de l'acide lactique (**Tredez, 2008**). Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes, généralement Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes. (**Gevers 2002**). Leurs formes peuvent être coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire. Les bactéries lactiques sont soit mésophiles ou thermophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C - 30°C et 30°C - 45° respectivement. La majorité des souches se développent à pH 4.0 - 4.5, certaines se multiplient à pH 9.6 et d'autres à pH 3.2 (**Jozala et al., 2005**).

Les bactéries lactiques tirent leurs énergies des substances hydrocarbonées tels que les sucres, les alcools et les acides organiques ce qui les rendent chimio-organotrophe. Elles possèdent souvent des exigences nutritionnelles complexes en termes d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucre (**dellaglio et al., 1994**). En générale ces bactéries ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase à l'exception de quelques souches sous certaines conditions). Elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Dellaglio et al., 1994 ; Salminen et al., 2004**).

Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique en utilisant les glucides (**Fig.4**), ce qui leurs permet de produire soit de : $\frac{3}{4}$ L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes) ; $\frac{3}{4}$ L'acide lactique et l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives) ; $\frac{3}{4}$ L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (**Vandamme et al., 1996**).



D'après Danone – World Newsletter n°5

Figure 04 : Représentation schématique des principales voies métaboliques des bactéries lactiques ayant des impacts technologique (**dellaglio et al., 1994**).

II-Principale caractéristique des bactéries lactiques

II-1- Caractères morphologiques :

L'étude morphologique des bactéries sert à orienter la recherche de leurs identifications. Cette étude se compose d'un aspect macroscopique et d'un autre microscopique. Le volet macroscopique touche principalement les caractéristiques des colonies cultivées sur milieu solide. Il est à noter, que les colonies des bactéries lactiques sont entre 0.5 et 1.5 mm de diamètre, de formes circulaire, à contour régulier, à surface lisse et de couleur blanche avec un aspect laiteux. L'aspect microscopique concerne l'observation microscopique des bactéries lactiques suite à une coloration qui met en évidence les deux formes majeures : coques (0.5 à 2 μm de diamètre) ou bâtonnets (0.5 à 2 μm de diamètre, 1 à plus de 10 μm de long) (**Dellaglio et al., 1994**). Toutes les bactéries lactiques sont à gram positif et en général immobiles. Leurs dispositions sont très hétérogènes (cellules isolées, paire, tétrades, amas irréguliers, longues ou courtes chaînettes) spécifique à chaque genre bactérien (**Hassaine, 2013**).

II-2- Caractères biochimiques et physiologiques

Les bactéries lactiques se distinguent des autres groupes de bactéries par un ensemble de caractéristiques biochimiques et physiologiques qui leur sont propre.

L'ensemble des bactéries lactiques se caractérise par la capacité de fermenter certains sucres en acide lactique. Certaines sont homofermentaires, par ce qu'elles produisent très majoritairement de l'acide lactique. Les hétérofermentaire résultent de l'acide lactique accompagné par d'autres composés (généralement l'acétate et l'éthanol) (**Bolotin *et al.*, 2001 ; Miyoshi *et al.*, 2003**). Les bactéries lactiques sont asporulantes, ne se développent pas en présence de 6.5% de NaCl, ou lorsque le pH est supérieur à 9.6 (**Dellaglio *et al.*, 1994**). Elles sont anaérobies mais souvent micro-aérophiles, et présentent des exigences nutritionnelles complexes concernant les acides aminés, les peptides, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles. (**Dellaglio *et al.*, 1994**).

II-3- Caractères de la structure

Les bactéries lactiques sont unicellulaires, composé obligatoirement d'une paroi, un cytoplasme renfermant les acides nucléiques, principalement l'ADN chromosomique et parfois des plasmides. Le cytoplasme est entouré d'une membrane cytoplasmique (**Stiles et Holzappel ; 1997**).

II-4- Habitat des bactéries lactiques

Ces bactéries sont connues par leur facilité d'adaptation physiologique, pouvant coloniser différents milieux du point de vue physico-chimique et biologique, en résultant des effets bénéfiques ou, plus rarement des altérations biologiques. Les plantes vertes représentent la source originale des bactéries lactiques, et grâce à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries ont eu la capacité de coloniser d'autres environnements et d'autres habitats présentant les conditions satisfaisantes à leurs besoins nutritifs (**Kelly *et al.*, 1998 ; Carr *et al.*, 2002**). De ce fait, le lait et les produits laitiers fermentés sont devenus l'habitat caractéristique des bactéries lactiques, pouvant y accéder à travers le corps de l'animal, les excréments ou les végétaux (**Dellaglio *et al.*, 1994**). En outre, les bactéries lactiques font partie de la microflore naturelle de la bouche, du tractus intestinal et du vagin de l'espèce humaine et de nombreux animaux homéothermes (**Holzappel *et al.*, 1998**).

II-5- Taxonomie des bactéries lactiques

La taxonomie des bactéries lactiques évolue progressivement depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*). Au cours de ces dernières années, le nombre de nouvelles espèces a connu une élévation énorme. Les réorganisations réalisées ont participé à la fusion des espèces en une seule et à l'identification d'une espèce comme un nouveau genre (Pot, 2008). Les bactéries lactiques se classifient selon des critères phylogénétiques à l'aide des méthodes moléculaires. Toutefois, la caractérisation Phénotypique et biochimique classique reste pratique pour l'identification préliminaire des microorganismes.

Les caractéristiques phénotypiques servent à identifier les espèces à l'intérieur des genres telles que l'aptitude à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzapfel, 1997). La morphologie joue le rôle caractéristique clé afin de décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. Il est à noter que les bactéries lactiques se divisent arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins *et al.*, 1993). A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. (Stiles et Holzapfel, 1997 ; Pot, 2008). Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus* ; *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupes des bactéries lactiques (Broadbent, 2001). Le genre *Bifidobacterium* est dernièrement considéré par plusieurs auteurs comme bactéries lactiques, quoi que le pourcentage en G+C qui est de l'ordre de 55%, soit largement supérieur à celui des autres genres. Ainsi, la voie métabolique de fermentation des sucres est différente. Les études phylogénétiques basées sur l'analyse des séquences des ARN ribosomiques ont confirmé l'appartenance de ces différents genres à un même groupe qui inclut également *Clostridium*, *Bacillus* et *Propionibacterium* (Figure 5) selon Stiles et Holzapfel, (1997) ; Pilet *et al.*, (2005).

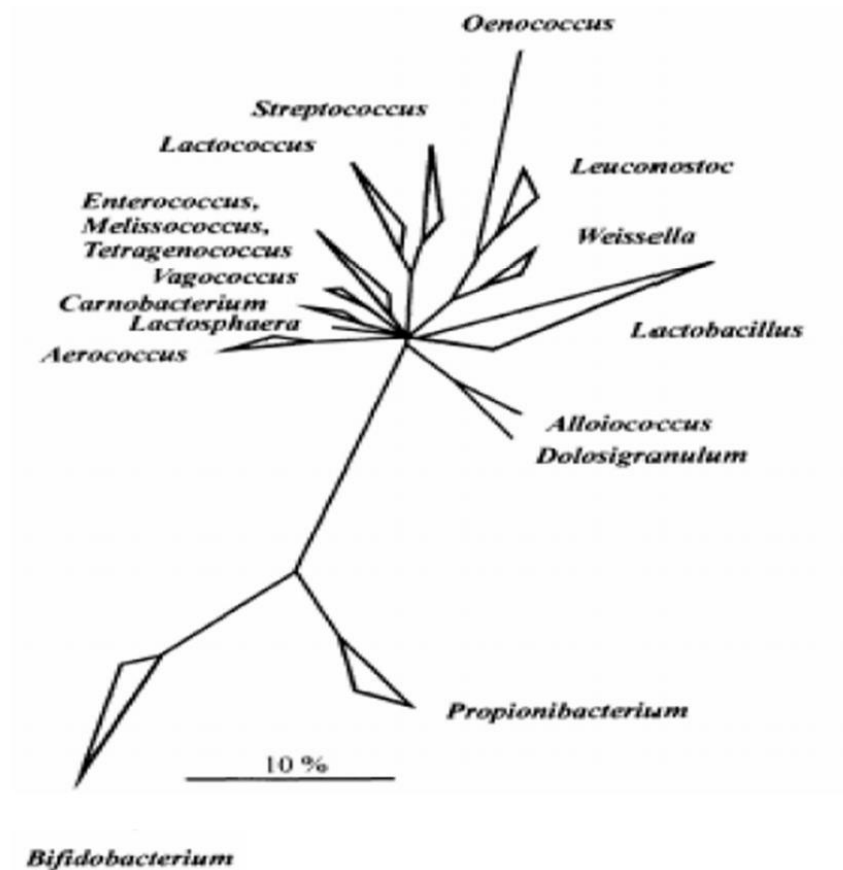


Figure 05 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres Associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997).

II-6- Classification des bactéries lactiques

II-6-1- les différents genres des bactéries lactiques

Auparavant, les bactéries lactiques ont été classé selon les caractéristiques phénotypiques dont la morphologie, le mode fermentaire, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbones (De Roissart et Luquet, 1994 ; Holzapfel *et al.*, 2001). Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, et *Pediococcus* (Drouault et Corthier, 2001). A l'heure actuelle le groupe des bactéries lactiques liées aux aliments renferme les 12 genres suivantes *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* et *Bifidobacterium*.

Le **Tableau 6** met en évidence les différents genres des bactéries lactiques ainsi que leurs principales caractéristiques physiologiques.

Tableau 6 : Principaux genres des bactéries lactiques (Matamoros, 2008)

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. Viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L (+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L (+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétéro-fermentaire	D (-), L (+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L (+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D (-)	<i>Ln.mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D (-)	<i>Oe. Oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L (+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L (+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L (+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L (+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D (-)	<i>We. viridescens</i>

II-6-2- Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques

II-6-2-1- Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est considéré étant le plus répandus quantitativement par rapports aux autres genres de bactéries lactiques. Représenté sous forme de bacilles longues et fines (parfois incurvés), groupés en chaînes, asporulés, immobiles, catalase négative, et se développent à une température optimale allant de 30 à 40 °C. Les Lactobacilles présentent des exigences nutritionnelles différentes en glucides, en acides aminés, en acides gras, en nucléotides, en vitamines et en minéraux. (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc *et al.*, 1994).

Le genre *Lactobacillus* a été classés en trois groupes par ORLA-JENSEN. Cette classification est souvent utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004) :

Groupe I « *Thermobacterium* » : ce sont des lactobacilles homofermentaires thermophiles, ont la capacité de se développer à une température de 45°C. Les espèces les plus répandus dans les aliments (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

Groupe II « *Streptobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires mésophiles, parfois hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus retrouvés dans les aliments sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

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

II-6-2-2- Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques sont des coques groupées en paires ou en chaînes et de longueur variable. Ces microorganismes sont anaérobies facultatives, homofermentaire et ne produisent pas de l'acide lactique L (+), toutefois, les espèces *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produisent le diacétyle. Leur température de croissance optimal avoisine les 30 °C, capable de survivre à une température de 10 °C mais ne se développent pas à 45°C. Certaines espèces secrètent des exopolysacchariudes et des bactériocines. Ces bactéries sont actives à 3% de bleu de méthylène et arrivent à hydrolyser l'arginine (**Tamime, 2002**).

Selon **Zhang et Cai., (2014)**, le genre *Lactococcus* exige un pH proche de la neutralité, ne pouvant pas se développer à un pH de 4,5. Ces bactéries peuvent se développer à 4% de NaCl. Ce qui fait de ce genre un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits.

Récemment, le genre *Lactococcus* présente cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus importante avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae* (**Pot et al., 1996 ; Pot, 2008**). D'après **Guiraud (1998)**, le genre *Lactococcus* est connu par les espèces suivantes : *Lc. Lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. Lactis* ssp. *Lactis* et *Lc. diacetylactis*. La sous espèce *Streptococcus Lactis* ssp. *diacetylactis* est remplacée par la sous espèce *Lactococcus Lactis* ssp. *Lactis*. Le lait est un habitat préféré des lactocoques (**Dellaglio et al., 1994 ; Corroler et al., 1999**). *Lactococcus lactis* est considéré étant l'espèce la plus étudiée et la plus détectée dans les laits crus (**Corroler et al., 1998 ; Dalmasso et al., 2008**).

II-6-2-3- Le genre *Streptococcus*

Ces microorganismes sont des coques à gram positif, se présentent sous forme de paires ou en chaînettes, non sporulés, parfois capsulés, immobiles, anaérobies facultatifs, fragiles aux variations de température et de pH. Ils sont retrouvés dans la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux. Leur pouvoir pathogène est très polymorphe selon les espèces (**Ctinils, 2010**). Les Streptocoques renferment plus de 40 espèces divisés en six groupes, chacune se caractérise par des propriétés spécifiques et d'un potentiel pathogénique distinct (**Kilian, 2002**). Le premier

groupe s'agit de pyogenic ; qui renferme la majorité d'espèces pathogènes de l'homme et des animaux, le deuxième est celui du groupe mitis regroupant les espèces commensales de la cavité buccale et du pharynx de l'homme. Toutefois, *Streptococcus pneumoniae* est une espèce pathogène très importante. Le troisième groupe renferme les bovis, ces microorganismes vivent au niveau du colon. Le quatrième est le groupe mutans se trouve dans les dents humaines et certains animaux et enfin le groupe anginosus et salivarius fait partie de la microflore commensale de la cavité buccal et du pharynx.

Streptococcus thermophilus se caractérise par son habitat (lait et produits laitiers), son caractère non pathogène et sa résistance à la haute température. Cette souche est capable de résister à une température de 52°C. Il est à noter que le nombre limité des hydrates de carbone permettent de distinguer les *St. thermophilus* des différents Streptocoques (Pilet et al., 2005).

II-6-2-4- Le genre *Enterococcus*

Les Entérocoques comportent les streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*). Ce sont des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes, se développent à 6,5% de NaCl, au pH 9,6. Leur température de croissance de 10° à et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang et Cai, 2014). Ces microorganismes peuvent être mobiles, homofermentaire, pouvant fermenter l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).

II-6-2-5- Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* sont des bactéries lactiques typiques (LAB). Ces bactéries se rapprochent au genre *Lactobacillus*. Elles sont gram positif, catalase négative et anaérobie facultatif.

Le genre *Weissella* comprend deux type différents sur le plan morphologique ; les bacilles (appelés avant les lactobacilles hétérofermentaires "atypique") et les coques de forme ovoïde (*Leuconostocs*, *Oenococcus* et *Streptococcus* "typique") : *Weissella paramesenteroides* et *Weissella hellenica* (Bjorkroth et Holzapfel, 2003).

D'après Hammes et Vogel ., (1995), toutes les espèces du genre *Leuconostoc* et *Oenococcus* ont les caractéristiques physiologiques similaires tel que l'absence de l'arginine déiminase, la production prédominante du D (-) - lactate à partir du glucose. Cependant les espèces de *Weissella* ont une forme ovoïde (*W. paramesenteroides*, *W. hellenica* et *W. thailandensis*).

Le genre *Leuconostoc* et notamment les espèces *Ln. mesenteroides ssp. cremoris* et *Ln. lactis* sont largement utilisés parallèlement avec les lactocoques dans les industries laitières grâce à leurs intérêts technologiques, tel que la production de l'acide lactique et du CO₂ ainsi que la sécrétions des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al.,2008**).

Actuellement, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée à partir du vin a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

II-6-2-6- Le genre *Pediococcus*

Selon **Pilet et al., (2005)**, ces bactéries lactiques sont des coques homofermentaire regroupés en tétrade. Elles sont mésophiles, généralement incapables d'utiliser le lactose et exigent plusieurs facteurs de croissance. Quelques espèces se caractérisent par leur tolérance à des teneurs très élevés de sel, tel que l'espèce *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui se développe à une concentration élevée d'NaCl allant jusqu'à 18%.

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle déterminant dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel tel que les sauces de soja, toutefois, les pedicoques servent parfois comme levains lactiques pour les charcuteries (**Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005**).

II-6-2-7- Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* a été détecté par Tissier en 1899 (**Biavati et al.,2000**), 32 espèces ont été enregistrés de ce genre (**Dong et al., 2000**). Ces microorganismes sont Gram positif, anaérobie, immobiles, non sporulés et catalase négative (à l'exception de *B. indicum* et *B. asteroides*). Les *Bifidobacterium* ont marqué un pourcentage élevé en G+C (entre 55 et 67%) (**Valeria, 2009**). Le tractus intestinal humain et animal représente l'hôte des *Bifidobacterium*, cette bactérie est présente dans la microflore fécale de l'adulte avec un pourcentage de 3% contre 91% chez les nourrissons (**Hadadji et al., 2005 ; Boclé, 2005**).

II-6-2-8- Le genre *Vagococcus*

Les espèces du nouveau genre *Vagococcus* sont presque similaires avec les lactocoques au point de vue morphologique, cependant, ces deux genres sont facilement distincts par leur composition en acides gras. Quelques espèces de *Vagococcus* sont mobiles (**Teixeira et**

al.,1999). Les amorces d'oligonucléotides spécifiques à ce genre et ses espèces sont disponibles, ce qui rend l'identification des bactéries de ce genre fiable et faisable (Ammor et al.,2006).

III-Biodiversité des bactéries lactiques dans les fromages

Des études menées sur la biodiversité de la flore lactique dans les fromages à pâte molle, portées essentiellement sur le Camembert montrent que les lactocoques sont largement marqués dans la flore lactique au cours de l'affinage du camembert avec une valeur de 10^9 ufc/g de fromage (Richard, 1984 ; Desmaures, 1995), avec une prédominance de l'espèce *Lactococcus lactis*. Au niveau intraspécifique, Corroler, (1999) a révélé une prédominance de la sous-espèce *Lc lactis ssp. lactis* et *Lc. lactis ssp. cremoris* au plan génotypique. Les lactobacilles représentent le second groupe de bactéries lactiques dominants avec une valeur de 3.10^6 ufc/g de fromage au cours de l'affinage, tant à l'intérieur qu'en surface, *Lb. paracasei* et *Lb. Plantarum* sont les deux espèces les plus fréquemment présents (Choisy et al., 1997 ; Henri Dubernet et al., 2004).

L'évolution de la flore lactique du Venaco, pâte molle à croûte lavée fabriquée à partir de lait cru de chèvre ou de brebis, a été étudié par Casalta (2003). Ces fromages ont été fabriqués sans ferments ajoutés. En effet, les bactéries dénombrées provenaient exclusivement de la flore naturelle du Venaco. De plus, Casalta (2003) a constaté que les lactocoques, présents dans les laits de l'ordre de 10^5 germes/ml, se développaient progressivement pour atteindre environ 10^9 ufc/g après 2 jours. Ce genre est considéré étant le principal agent acidifiant du Venaco. Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs, sont parmi les flores quantitativement majoritaires du Venaco. Dix fois plus nombreux dans les laits de chèvre (2.10^4) que dans les laits de brebis (10^3). Leur nombre augmente rapidement au cours des premiers jours d'affinage pour atteindre environ 10^7 ufc/g après 15 jours. Les *leuconostocs* et les entérocoques, déjà présents dans le lait de chèvre ou de brebis, sont aussi retrouvés au cours de l'affinage du Venaco.

IV- Intérêts et rôles des bactéries lactiques dans l'industrie agroalimentaire

D'après Belyagoubi (2014), l'intégration des bactéries lactiques dans des applications industrielles repose essentiellement sur leurs propriétés fonctionnelles et technologiques dont l'activité acidifiante, propriétés enzymatiques (activité protéolytique, peptidasique et lypolytique), et la production de métabolites citant la peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines.

Ainsi, les bactéries lactiques participent à l'amélioration des valeurs nutritionnelles des aliments, par leurs propriétés de bioconservation, de probiotique et la réduction de la formation

des produits toxiques. De plus, plusieurs bactéries lactiques ont la capacité de produire des bactériocines en diminuant les gaz issus de la fermentation, ce qui permet l'amélioration du goût et de la qualité du produit fini (Makhloufi, 2011).

IV- 1-Domaine alimentaire

IV-1-1-Pouvoir texturant

La consistance et la rhéologie des produits alimentaires transformés dépendent essentiellement des substances appelées exopolysaccharides (EPS) synthétisées par les bactéries lactiques (Welman et Maddox, 2003 ; Ruas- Madiedo et al., 2002). Les exopolysaccharides (EPS) servent comme agents épaississants naturels en industries alimentaires. Les souches lactiques produisant les EPS ; *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts dans le but d'améliorer la texture, d'éviter la synérèse et d'augmenter la viscosité des produits fini. (Durlu-Özkaya et al., 2007 ; Amatayakul et al., 2006). Toutefois, les EPS issus des souches *Lactococcus lactis ssp. Cremoris* participent à améliorer la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Ruas-Madiedo et al., 2005).

IV-1-2-Pouvoir aromatisant

Les composés d'arômes produits par les bactéries lactiques ayant un pouvoir aromatisant participent aux qualités organoleptiques des fromages. Ces composés sont produits lors du métabolisme du citrate dont l'acétoïne et le diacétyle, qui sont les plus répandus (Tamime, 1990). Le diacétyle est produit généralement suite à la fermentation du citrate (Vignola, 2002). Mahaut et al., (2000) notent que les *Leuconostocs* hétérofermentaires s'associent aux lactocoques lors de la production des composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyle et acétoïne).

IV-1-3-Pouvoir acidifiant

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques représente une propriété métabolique largement recherchée dans les industries alimentaires. La fonction acidifiante apparait suite à la production de l'acide lactique à partir de de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008). Les souches lactiques *L. lactis subsp. lactis, ssp. cremoris* et *biovar. diacetylactis* représentent les bactéries les plus connus pour leurs différents intérêts technologiques, ainsi que pour leur aptitude acidifiante (Casalta et al., 1995 ; Lafarge et al., 2004).

IV-1-4-Pouvoir protéolytique

Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique. De ce fait les bactéries lactiques font appel à un système protéolytique dans les environnements riches en matière azotée (**Law et Haandrikman, 1997**).

La paroi cellulaire des bactéries lactiques est associée à des protéases, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides comprenant 7 à 16 résidus aminés, d'où vient le rôle des endopeptidases (exopeptidases) responsable de la dégradation des peptides en unités transportables d'acides aminés et en petits peptides. Des études comparatives menées sur la protéolyse du Cheddar fabriqués avec ou sans ferments ont prouvé l'importance de ces bactéries lactiques dans la production d'acides aminés libres et des petits peptides durant la phase de maturation (**Lynch et al., 1997; Lane et Fox, 1996; Farkye et al., 1995**).

Par ailleurs, Les lactobacilles ont généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009**). Selon **Jeanson (2000)**, une synthèse de deux types de protéases agissant sur les caséines (protéines impliquées dans la coagulation du lait) est effectuée lors d'une coagulation du lait.

- **Type I** : protéolyse de la caséine β ,
- **Type II** : protéolyse des caséines β , α_1 et κ .

IV-1-5-Pouvoir lipolytique

Les activités lipolytiques des bactéries lactiques jouent un rôle déterminant lors de la maturation du fromage, elles participent principalement au développement des saveurs (**Ortiz De Apodaca et al., 1993**). **Ordofiez et Ortiz De Apodaca (1977)**, ont constaté une activité plus marquée des lipases extracellulaires, par rapport aux lipases intracellulaires présents dans plusieurs microcoques isolés du fromage contre les acides gras à courte et longue chaîne estérifiés aux triacylglycérols.

Stadhouders et Mulder (1958), ont noté que certaines souches de microcoques ont hydrolysé la matière grasse du lait en crème dans les conditions du laboratoire, sans pouvoir hydrolysé la graisse du fromage. Toutefois, d'autres auteurs ont constaté que l'utilisation des souches choisies de microcoques améliore la saveur du fromage (**Reiter et al., 1967; Schleifer et Kloos, 1975**).

IV-1-6-Pouvoir antibactérien

Les bactéries lactiques contribuent à la préservation des qualités hygiéniques des aliments par le biais de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles (**Caridi et al.,**

2003). Ces microorganismes ont la capacité de produire de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du dioxyde de carbone, de la reutéline, du diacétyle et des bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009**).

Certaines souches lactiques produisent des bactériocines à spectre d'action plus ou moins large tels que la nisine et la lactostrepcine produites par *Lc. lactis*, la diplosine par *Lc. cremoris*, la plantaricine par *Lb. plantarum*, la mesentéroline et la leucocine produites par *Ln. mesenteroides* (**Piard et Desmazeaud 1992 ; Piard et al., 1992 ; Vandenberg 1993 ; Corbier et al., 2001**). La production de ces peptides biocides sert à lutter contre les bactéries à Gram positif d'altération ou pathogènes (**Edima, 2007**).

IV-2-Domaine de la santé

Les bactéries lactiques représentent actuellement un groupe d'organismes utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits (**Klaenhammer et al., 2007**). L'utilisation de ces microorganismes est due aux intérêts nutritionnels et thérapeutiques que porte ces derniers. Les bactéries lactiques enrichissent le milieu en vitamines (B et K), acides aminés, composés organiques (acide lactique et acétique), enzymes (lactase) et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes (**Soomro et al., 2002**). Les *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* sont les plus fréquemment utilisées comme probiotiques (**Khan et Ansari, 2007**). Les lactobacilles ont été introduits dans des laits fermentés (**Heller, 2001 ; Oliveira et al., 2001**), des fromages (**Gomes et Malcata, 1998 ; Nayra et al., 2002**) et des glaces (**Christiansen et al., 1996**).

Les probiotiques sont bénéfiques pour la santé de l'hôte. Ils permettent l'annulation de l'activité de certains pathogènes, servent à améliorer l'utilisation du lactose et ont la capacité de réduire le cholestérol sanguin et le niveau des substances carcinogènes. De plus, les probiotiques participent dans l'inactivation des composés toxiques et dans la stimulation du système immunitaire. (**Ninane et al., 2009**). Plusieurs études ont prouvé l'intérêt préventif et curatif des bactéries lactiques sur des différents types de diarrhées (**Mkrtchyan et al., 2010**). Selon **Elghaish et al., (2011)**, les bactéries lactiques se caractérisent par leur capacité de diminuer les allergies alimentaires grâce à leur l'activité protéolytique.

Chapitre 3

Généralités sur les fromages

I-Définition du fromage

Le fromage est une forme de conservation de la matière utile du lait (Protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), et notamment les qualités nutritionnelles et organoleptiques très appréciées par l'homme (**Jeantet et al., 2008**).

Le fromage est un produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenus exclusivement des produits laitiers : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse (directive n°88-1206 décembre 1988, article 1^{er}) (**Mahaut et al., 2000**).

Certains fromages renferment des moisissures sur la croûte externe, soit à l'intérieur, ou bien sur la croûte et à l'intérieur (**Majdi, 2009**). Le fromage est un aliment riche en graisses, protéines, calcium et phosphore, caractérisé par une longue durée de conservation par rapport à celle du lait. Selon la norme (codex alimentarius), « le fromage représente un produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou demi-dure, protéines de lactosérum : caséines ne dépassent pas celles du lait » (**Mallay, 2012**).

Les textures et les goûts des différents types de fromages dépendent de l'origine du lait (notamment le régime alimentaire de l'animal), qu'il soit pasteurisé ou pas, de la teneur en matière grasse, des espèces bactériennes et des moisissures utilisées, du procédé de fabrication, du temps de maturations. De plus l'utilisation des herbes, des épices, la fumaison sont des facteurs variant le goût (**Majdi, 2009**).

II- Le fromage à pâte molle type Camembert

II-1- Caractéristiques et valeur nutritionnelle

II-1-1- Définition

Veisseyre (1975), a défini le Camembert comme étant à fromage à pâte molle, en forme cylindrique plate, d'un caillé non divisé. Ce fromage a un diamètre de 10 à 11 cm et une épaisseur de 3 cm. Il est constitué d'au moins 40% de matière grasse et de 110g de matière sèche. Le Camembert est un fromage affiné moisissures superficielles, d'origine de Normandie (France).

II-1-2- Composition et valeur nutritionnelle

Le **Tableau 7**, met en exergue une composition moyenne comparative du lait et du fromage.

Selon le mode de fabrication du Camembert, la teneur en matière azotée est située entre 30 et 50 % de matière azotée / matière sèche. Le Camembert est considéré parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée (Mietton, 1995). Ces protéines ont une grande valeur biologique, caractérisée par leur composition équilibrée en acides aminés d'une part, et par leur propriété de former une pâte fromagère très désirés par les consommateurs d'autre part.

La matière grasse du Camembert (25 à 40%) assure l'onctuosité de la pâte et participe également à créer la saveur particulière conférée au produit fini (Neelakanten et al, 1971). En ce qui concerne le lactose, il faut savoir que les fromages affinés en générale ne contiennent pas de glucides. Seulement une petite quantité reste dans le caillé après égouttage, et celle-ci est transformée par la suite en acide lactique au cours de l'affinage. Concernant les autres nutriments, le Camembert constitue une source importante en calcium. (200 à 700 mg/ 100g), en phosphore, en sodium et en vitamines (notamment du groupe B) (ECK, 1990). De plus, le petit Camembert est un fromage de diamètre réduit (80-85 mm de diamètre) ayant un extrait sec supérieur à 60 g. Sachant que la dénomination Véritable Camembert de Normandie est protégée par un label de qualité qui définit notamment une aire de production.

Tableau 7 : Composition moyenne comparée du lait et des fromages Selon Alais et Linden (1993)

	Lait	Fromage
Eau	Environ 87%	Éliminée en partie par la fabrication Teneur en eau varie de : -35% (pâte cuite dure) -50% (pâte molle) -80% (fromage frais)
Glucides	-lactose 5 % Les ferments lactiques transforment le lactose en acide lactique, ce sucre peut être également transformé en alcool.	Pratiquement éliminé avec l'eau par la fabrication.
Lipides	-environ 4 % Sous forme de globules gras très petit en émulsion dans le liquide ; Ce sont en majeure partie des triacylglycérols (beaucoup d'oléine) avec un peu de lécithines.	se retrouvent dans la majorité des fromages sauf dans les fromages maigres » : 23 % fromages à pâte molle, 30 % fromages à pâte dure.
Protéines	Environ 3,5 %. Les plus importantes en quantités sont les caséines : 3 % Les protéines du sérum sont aussi d'un apport non négligeable.	la caséine coagulant avec la présure, est l'élément essentiel de tout les fromages (même maigre) : 18 % fromages à pâte molle,

		19 % fromages blancs au lait crémé, 24 % fromages à pâte ferme.
Minéraux	<p>-Très intéressante valeur minérale car très riche en calcium et en phosphore. Le calcium étant plus abondant que le phosphore, le rapport Ca / p= 1,39 donc le lait est recalcifiant.</p> <p>-Contient aussi potassium et chlorure de sodium : -pas de fer.</p>	<p>grande richesse en calcium et en phosphore, surtout dans les fromages à pâte ferme rapport Ca / p= 1,26 en moyenne, donc aliment recalcifiant ; plus au moins riches en chlorures de Sodium selon leur fabrication adjonction de sel, pâte lavée à l'eau salée, etc...)</p>
Vitamines	<p>-B1 en petite quantité -B2 assez importante.</p> <p>-C en quantité variable dans le lait frais, mais pratiquement détruite au contact de l'air durant les manipulations et le transport et par la pasteurisation et l'ébullition.</p> <p>-A en quantité importante dans la matière grasse, donc absente dans, les laits écrémés -D en quantité variable selon la saison</p>	<p>-les fromages fermentés à pâte molle, notamment les fromages bleus, sont de bonnes sources de vitamines B, du fait les synthèses réalisées par les moisissures.</p> <p>-se retrouve dans le fromage selon la teneur en matières grasses</p>

II-2- Étapes de la fabrication

II-2-1- Nature de la matière première

La fabrication des fromages à pâtes molles de type Camembert fait appel à l'usage d'un lait de bonne qualité physico-chimique et sanitaire. De plus, la nature du lait utilisé lors de la fabrication dépend essentiellement de la production du lait cru. Dans les pays connus par leurs grandes traditions fromagères notamment la France, le Camembert est fabriqué à partir de lait cru ou bien d'un lait pasteurisé, contrairement au pays où la production du lait cru est déficitaire, l'utilisation du lait reconstitué est recommandé, ce lait est composé de produits d'importation (*poudre de lait et matière grasse laitière anhydre : MGLA*) et des volumes d'eau reconstitution bien appropriés (**Remeuf et al.,1991**). Les mêmes auteurs affirment également que l'aptitude à la transformation du lait en fromage dépend de plusieurs paramètres citant ici ; la composition chimique du lait (notamment sa richesse en caséines), la charge microbienne et la nature de sa microflore, l'aptitude au développement des bactéries lactiques et Enfin, son comportement vis à vis de l'enzyme coagulante à savoir la présure.

II-2-2- Traitements préliminaires du lait

Les laits réceptionnés à l'usine doivent être contrôlés afin d'écartier tous les laits impropres à la transformation fromagère (laits plus ou moins acides ayant une charge microbienne importante). Après un entreposage à basse température (3-4°C), Certains traitements technologiques sont appliqués sur les laits destinés à la fabrication fromagère dont l'homogénéisation et le traitement thermique, afin d'assurer un produit fini appréciable tout en assurant un bon rendement de fabrication. (**Lenoir, 1974 ; Miranda et Gripon, 1986**). Cependant, une mauvaise manipulation de ces traitements, engendre des modifications physico-chimiques et nutritionnelles désagréables (**Feuillat et al, 1976 ; Lemieux et al, 1994**).

II-2-2-1-Standardisation

La standardisation sert à ajuster la composition du lait selon celle du fromage à élaborer. Pour ce faire, la teneur en matière grasse du lait doit être aux alentours de 28g/l et le taux de protéine du Camembert doit être supérieur à 31 g/kg de fromage) (**Bertrand, 1988**).

II-2-2-2- Homogénéisation

L'homogénéisation est une action mécanique effectuée à l'aide d'un homogénéisateur, à une température de plus de 60° C. L'objectif principal de cette étape est de stabiliser l'émulsion de la matière grasse du lait en réduisant le diamètre des globules gras aux alentours de 1 micron par une pression de 100 à 200 bars (**Bourdier et Luquet, 1991**).

II-2-2-3- Traitements thermiques

Le traitement thermique des laits destinés à la fabrication fromagère dépend de la température et de la durée du chauffage. Ce traitement peut influencer la flore microbienne initiale d'une part et la composition physico-chimique du lait d'autres part. cette influence se manifeste par des changements des différentes caractéristiques du lait et par conséquent, l'altération de la qualité du produit fini notamment sa valeur nutritive (**ECK, 1990**). Ainsi, la thermisation (traitement à 64°C pendant 15 à 20 secondes) est indiquée pour éliminer les bactéries psychotrophes. Ces microorganismes se développent dans les laits réfrigéré (à la ferme ou bien eu niveau de la fromagerie) dont les espèces les plus connus sont ; Pseudomonas, Achromobacter et Flavobacterium produisant des lipases et des protéases exocellulaires résistantes à la pasteurisation (à 72-74°C pendant 15-20 secondes) et également à la stérilisation UHT (à 132°C pendant 1-2 secondes) (**Lenoir et al, 1983**). Ces enzymes secrétés dégagent des goûts désagréables (malté, amer, rance), et favorisent également les pertes du rendement fromager. Ce traitement n'assure pas totalement la protection de la santé du consommateur, du fait qu'il ne détruit qu'une partie des germes pathogènes (**Bertrand, 1988**).

Par ailleurs, la technique de pasteurisation est la plus adaptée dans les industries fromagères afin d'assurer la destruction totale des germes pathogènes présents dans le lait tout en réduisant ainsi la flore banale. Il est à noter que la technique de pasteurisation est adaptée selon des barèmes appropriés (température / temps de chauffage) ; une pasteurisation basse à 63° C pendant 30 minutes, ou bien une pasteurisation haute (HTST) 72° C pendant 20 secondes (*Luquet et Bourdier, 1991*).

II-2-3- Étapes clés de la fabrication du Camembert

La fabrication du Camembert ; un fromage à caractéristiques organoleptiques spécifiques, fait appel à de nombreuses étapes technologiques notant principalement l'ensemencement–maturation, la coagulation, l'égouttage et enfin l'affinage. (**Fig. 6**)

II-2-3-1- Phase d'ensemencement – maturation

La première étape de fabrication du Camembert à partir d'un lait est d'en introduire des ferments lactiques sélectionnés qui servent à coaguler le lait (en provoquant l'acidification) et participent aussi dans l'activité protéolytique au cours de l'étape de l'affinage de ce fromage. De plus, la dose des ferments lactiques mésophilesensemencée dans un petit volume de lait. Elle est de l'ordre de 1.5 à 2% (**Lenoir et al, 1983**). Il est nécessaire d'accorder un temps de maturation suffisant afin d'assurer un bon développement des souches lactiquesensemencés (**Bertrand, 1988**).

Dès que les souches revivifient, ce levain est servi à ensemencler les grandes cuves de coagulation. D'autres part, le phénomène de l'affinage fait appel à l'inoculation des levains fongiques notamment *Penicillium Camemberti*, *Penicillium caseicolum* ainsi que *Geotrichum candidum*.

II-2-3-2- Coagulation

Il s'agit d'une formation d'un gel (coagulum) provenant dans le cas du Camembert des changements de propriétés physico-chimiques autour des micelles de caséines en contribuant à leur déstabilisation complète. La coagulation adaptée généralement pour les fromages à pâtes molles est mixte. Elle est assurée par la combinaison de l'action de la présure (coagulation enzymatique) et celle des bactéries lactiques (coagulation acide). Pour ce qui est de la coagulation acide (sous l'effet de l'acide lactique produit par les bactéries lactique), la chute du pH conduit à la solubilisation du calcium et du phosphate inorganique. Par conséquent, le pont salin casse petit à petit les micelles. Celles-ci se lient entres elles en formant un gel cassant, très friable et peu élastique (**Mietton, 1995**). La coagulation enzymatique est assurée par l'action

de la présure ; une enzyme protéolytique tirée de caillottes de veaux non sevrés. La présure présente deux fractions actives la première dite majeure (80%) appelée Chymosine et la deuxième mineure (20%) est la pepsine (**ECK, 1990**). Il importe de signaler qu'au cours de la coagulation enzymatique, la présure hydrolyse la caséine k au niveau de la liaison (Phe105-Met106), ce qui provoque une déstabilisation des micelles de caséines. Ces dernières se flocculent petit à petit afin de former un gel ferme et compact représente une bonne cohésion (**Veisseyre, 1975**).

NB : Le gel formé subit un découpage en portions égales dans le but de faciliter l'élimination du lactosérum, cette étape est suivie d'un moulage ; qui s'agit de la mise du caillé dans des moules pour permettre à obtenir la forme finale du fromage.

II-2-3-3- Égouttage

L'intérêt principal de cette étape est de séparer le lactosérum du caillé, tout en réglant sa teneur en eau, sa minéralisation et son délactosage.

D'après **Bertrand (1988)**, durant l'étape de l'égouttage, deux actions complémentaires peuvent être observés, la première s'agit d'une expulsion du sérum par le coagulum qui se contracte et se concentre (synérèse), la deuxième consiste à la séparation du sérum et du caillé par action physique.

II-2-3-4- Salage

La pâte obtenue subit un salage par adjonction de chlorure de sodium. Le sel assure l'élimination de certaines proliférations microbiennes, il permet de poursuivre l'étape de l'égouttage et sert comme exhausteur de goût en relevant la saveur du fromage (**Alais et Linden, 1993**).

Le salage fait appel à deux techniques ; la première consiste à un salage à sec par saupoudrage superficiel, par frottage ou par incorporation dans la masse du caillé. La deuxième technique représente le salage en saumure par immersion dans une solution saturée en NaCl « 317,8 g /l ». La teneur en sel du fromage à pâte molle type Camembert est de l'ordre de 1,7 à 2,5 g/100g de fromage. (**Alais et Linden, 1993**).

II-2-3-5- Affinage

C'est une étape de digestion enzymatique, il s'agit des enzymes de la flore microbienne présente, responsables de la dégradation des constituants du caillé. La pâte subit une multitude

de modification autour de son aspect, sa texture et sa consistance. À ce stade, cette pâte devient un produit élaboré dénommé fromage.

Selon **Mietton (1995)**, l'affinage est assuré par l'association de trois principales actions biochimiques à savoir ; la dégradation des protéines, l'hydrolyse de la matière grasse et la fermentation du lactose.

Le **Tableau 8** met en évidence les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage.

Tableau 08 : Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage (**Abdoune, 2003**)

<i>Groupes microbiens</i>	<i>Origines</i>	<i>Fonction</i>
<p>Bactéries</p> <p>STREPTOCOQUES LACTIQUES</p> <p><i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis Subsp diacetylactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i></p> <p>LEUCONOSTOC LACTOBACILLES</p> <p><i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i></p> <p>MICROCOQUES BACTERIES CORYNEFORM</p> <p><i>Corynebacterium</i> <i>Brevibacterium</i></p>	<p>Levain lactique</p> <p>Lait, éventuellement levain lait</p> <p>Lait, saumure, sel</p> <p>Lait éventuellement Levain</p>	<p>Acidification</p> <p>Production de composants d'arôme Production de composants d'arôme</p> <p>Protéolyse, dégradation des acides aminés Protéolyse, dégradation des acides aminés</p>
<p>Levures</p> <p>Kluyveromyces Debaryomyces Saccharomyces</p>	<p><i>lait, atmosphère des locaux, matériels de fromagerie, éventuellement levain</i></p>	<p><i>Production de composant d'arôme</i></p>
<p>Moisissures</p> <p><i>Penicillium camemberti</i></p> <p><i>Geotrichum candidum</i></p>	<p><i>Levain fongique</i></p> <p>Lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, Levain éventuellement</p>	<p>Désacidification Protéolyse, lipolyse production des composants d'arôme</p> <p>protéolyse, lipolyse, Production de composants d'arôme</p>

La **Figure 6** représente un diagramme des différentes étapes de fabrication du Camembert.

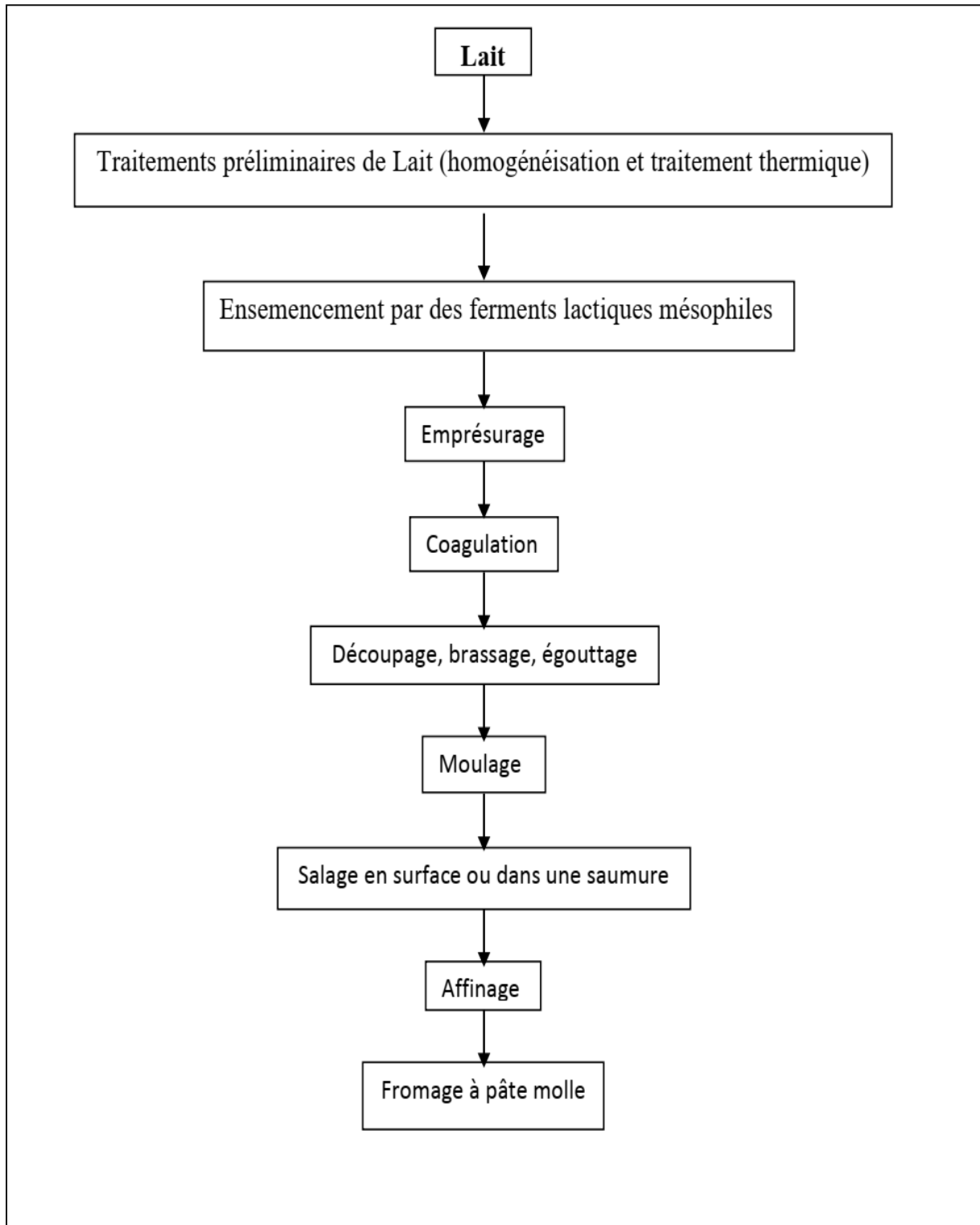


Figure 6 : *Diagramme des différentes étapes de fabrication du camembert*

II-2-3-6- Conditionnement–Emballage

Le conditionnement et l’emballage sont effectuées sur des lignes industrielles classiques, les opérations sont achevées dans des chambres froides afin d’éviter les chocs thermiques. **(Mahaut et al, 2000).**

II-2-3-7- Conservation du camembert

Selon **Plati (1998)**, la réfrigération reste le meilleur moyen de conservation du Camembert. Ce dernier est conservé à une température est comprise entre 4° et 8° dans son emballage d’origine, tout en l’isolant du reste des aliments réfrigérés. Sa durée de conservation ne dépasse pas les 10jours.

II-3- Place du fromage dans la couverture des besoins nutritionnels

Le fromage est un aliment hautement digestible, intéressant pour tout âge confondu. Les fromages les plus riches en Calcium sont conçus pour les enfants et les adolescents afin de couvrir leurs besoins élevés en Calcium (environ 800 mg/jour). En ce qui concerne l’adulte il est conseillé de consommer des produits laitiers apportent 15% des besoins en vitamines A, 10% en thiamine, 40% en riboflavine, 30% en niacine et 25% en vitamine B12 **(Dillon & Berthlier, 1997)**. S’agissant des personnes âgées, le fromage représente une source très appréciable de calcium, de protéines de haute valeur biologique. Toutefois, les troubles digestifs liés à la mauvaise digestion des graisses marqués à un certain âge nécessite la fabrication des fromages à une faible teneur en matière grasse **(ECK, 1997)**.

Partie Expérimentale

Chapitre 1

Qualité physico-chimique et
microbiologique des
échantillons du lait de vache
des différents stades de
lactation

I- Objectifs :

L'objectif principal de la première partie de cette thèse consiste à étudier la variabilité de la composition de lait de vache selon le stade de lactation des vaches laitières et son influence sur la qualité des fromages à pâtes molles de type Camembert. Pour ce faire, un prélèvement des échantillons de lait de vache cru provenant de trois stades de lactation différents (premier, deuxième et troisième stade) a été effectué. Ensuite des analyses physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques ont été réalisées sur les différents laits prélevés afin de définir leurs qualités biochimiques initiales de point de vue composition (dosage des protéines, lipides totaux, lactose, ESD, la densité, l'acidité et le pH), ainsi que leur état sanitaire (recherches des flores mésophiles totales, des coliformes fécaux et totaux, clostridium sulfito-réducteur, streptocoques fécaux, salmonelles, staphylocoques, la flore lactique, levures et moisissures).

II-Matériels et méthodes



II-1- Échantillonnage :

Les laits de cette étude ont été collectés entre le mois de Mars et Avril 2016, à partir de 20 vaches laitières de race Holstein, âgées entre 36 et 60 mois. Les vaches ciblées dans notre expérimentation ont été réparties sur 4 fermes situées dans les régions de Mazagran et de Hassi Mameche (wilaya de Mostaganem (Algérie)). Les vaches ont reçu une alimentation à base de concentré, accompagné d'un pâturage à plein temps. Il est à signaler que le niveau de production laitière moyen des vaches de notre étude est de l'ordre de 22kg/jour. Dans ce travail de recherche, trois stades de lactation ont été pris en considération avec des prélèvements de lait de mélange de la traite du matin et du soir, respectivement tout en respectant les règles d'hygiène et d'asepsie. Le premier stade de lactation est représenté par les trois premiers mois de lactation, le deuxième du 4ème au 6ème mois et le troisième du 7ème au 10ème mois. Enfin, les différents échantillons de laits prélevés ont été mis dans une glacière pour qu'ils soient acheminés en toute sécurité au laboratoire et procéder à leurs analyses physico-chimiques et microbiologiques.

II-2- Analyses physico-chimique du lait :

II-2-1- Analyses effectués à l'aide de l'appareil « LactoStar » (FT 120, FossElectric, Hilleroed, Danmark)

Le Lactostar est un appareil qui permet d'analyser avec précision plusieurs paramètres. Ce qui nous a aidé à déterminer :

-  La teneur en Matière grasse
-  La teneur en Protéine

- ✚ La teneur en lactose
- ✚ La teneur en extrait sec dégraissé
- ✚ La densité

II-2-2- Acidité titrable

L'acidité titrable est déterminée par un titrage de l'acide lactique avec l'hydroxyde de sodium à 0,1 N sur un volume de 10 ml de lait en présence de phénolphtaléine comme indicateur ; le virage au rose est facilement perceptible, par comparaison avec un témoin constitué du même lait. Le virage de couleur est pris en considération lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes (AFNOR, 1980). L'acidité titrable exprimée en degré dornic est calculée selon la formule : L'acidité en degré dornic = $V_{\text{NaOH}} * 10$
 V_{NaOH} est le volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N nécessaire.

II-2-3- pH

Le principe consiste à la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence réunies en un système d'électrodes combiné.

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique à 20°C (Hanna H211, Hanna instrument, Portugal) et ce après avoir plongé l'électrode dans un bêcher contenant une suspension de lait à analyser.

II-3- Analyses microbiologiques

D'après Jora (1998), les analyses bactériologiques du lait sont limitées à la recherche de la flore mésophile totale, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, *staphylococcus aureus*, les *Clostridium sulfito-réducteurs* et les salmonelles. Ainsi, la recherche de la flore lactique et des levures et moisissures a été effectuée.

II- 3-1- Flore mésophile totale

La flore mésophile, (également désignée : germes aérobies totaux) est l'ensemble des germes aptes à se multiplier à l'air libre avec une croissance optimale à 30°C (Leclerc et Mossel, 1989).

Les dilutions 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} sontensemencées en masse sur milieu solide PCA, suivi d'une incubation à 30°C pendant 24h.

II-3-2- Flore lactique

Elle est constituée essentiellement des genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*. Leur recherche est importante car ce sont des germes utiles dans l'affinage. Leur quantification permet le suivi de la maturation du fromage, particulièrement de la protéolyse.

II-3-2-1 Dénombrement des Streptocoques lactiques

Le principe de ce dénombrement repose sur l'utilisation du milieu spécifique (milieu M17) rendu sélectif par addition d'acide nalidixique. L'incubation a lieu à 25°C pendant 72 h (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

II-3-2-2- Dénombrement des Lactobacilles

Le dénombrement de cette flore repose sur l'utilisation du milieu MRS (**De Man et al., 1960**) avec incubation à 37°C pendant 48 h. Ce milieu tient compte des caractères acidogènes et acidophiles ainsi que des exigences nutritionnelles de ces germes (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

II-3-3- Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfito-réducteurs

5 tubes à essai ont étéensemencés, par 2 ml de la solution 10^{-1} puis sont chauffés à 80°C pendant 10 min et refroidi immédiatement. Par la suite, la gélose VF est ajoutée aux tubes jusqu'au remplissage complet afin de forcer l'anaérobiose. Après homogénéisation, les tubes sont incubés à $46\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 48 h (**Joffin, 1999**).

II-3-4- Levures et moisissures

Les levures et moisissures sont des micro-organismes unicellulaires et filamenteux, se développant dans les milieux acides (pH inférieur à 4,5) et à une température comprise entre 20 et 25 °C. Ces micro-organismes peuvent provoquer des accidents de fabrication comme la détérioration du goût, le gonflement et le défaut de texture.

Le principe de ce dénombrement repose sur l'utilisation d'un milieu rendu sélectif par addition d'antibiotiques tel que le milieu dit gelosé à l'oxytétracycline glucose Agar (OGA) (**Jora, 1998**).

II-3-5- Dénombrement des coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes totaux peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

Le milieu VRBG a été utilisé avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 h (**Jora, 1998**).

II-3-5-1-Dénombrement des coliformes fécaux

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBG après 48 h d'incubation à 44°C. Deux tubes ont également été ensemencé du milieu liquide (BLBVB) par 1ml de chaque dilution, puis incubé à 44°C pendant 48 h (test présomptif) (**Jora, 1998**).

II-3-5-2- Dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux se caractérisent par leur appartenance au groupe sérologique D de LANCEFIELD et par le fait que leur habitat normal étant le tube digestif des animaux, leur présence en nombre excessif est un signe d'un défaut d'hygiène. Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques du groupe D sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique NPP (nombre le plus probable). La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

- **Le test présomptif** : réservé à la recherche des streptocoques sur milieu de Rothe l'agent sélectif dans ce milieu est l'azide de sodium
- **Le test confirmatif**: réservé à la confirmation proprement dite sur milieu EVA LITSKY, des tubes positifs du test de présomption. Les agents sélectifs du milieu sont l'azide de sodium et l'éthyle violet.

- Recherche du caractère hémolytique

À partir des cultures en milieu liquide Eva Litsky, nous avons procéder à l'isolement du germe sur une gélose au sang de mouton défibriné, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 h (**Jora, 1998**).

II-3-6- Recherche des salmonelles

Du fait de leur rareté et de l'endommagement des cellules, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un pré-enrichissement sur eau peptonée tamponée, puis un enrichissement des cellules sur bouillon au sélénite de sodium cystine. Un isolement est effectué par la suite sur milieu SS (**Jora, 1998**). (voir Annexes).

II-3-7- Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement est effectué sur milieu Chapman par étalement en surface de 0,1 ml de chaque dilution, puis incubation à 37°C pendant 24 à 48 h (**Jora, 1998**).

II-4- Traitement statistique

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse de variance suivie d'une comparaison des moyennes en appliquant le test de Duncan (**IBM SPSS software® version 20**).

III- Résultats et discussion

III-1- Résultats des analyses physico-chimiques

Le tableau 9 résume les résultats des teneurs en matière grasse, matière protéique, extrait sec dégraissé (ESD), lactose ainsi que les valeurs du pH, de l'acidité et la densité des laits issus des différents stades de lactation en g/l.

Tableau 9 : Analyses physico-chimiques des laits récoltés dans les trois stades de lactation

	1^{er} stade de lactation	2^{ème} stade de lactation	3^{ème} stade de lactation	signification
pH	6.53±0.10 a	6.69±0.15 a	6.41±0.23 a	NS
Acidité	16.73±0.51 a	16.69±0.42 a	17.15±0.25 a	NS
Densité	1023.63±1.52 a	1031.63±1.81 b	1030.50±1.61 b	*
MG (g/l)	41.56±1.01 a	33.13±0.92 b	28.4±0.81 c	*
Protéines (g/l)	30.86±1.78 a	38.08±1.29 b	30.39±0.98 a	*
ESD (g/l)	78.76±1.47 a	83.76±2.01 b	80.45±1.68 c	*
Lactose(g/l)	41.96±1.21 a	53±0.87 b	50.83±0.78 c	*

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart type (n=3). Les différentes lettres affectées (a, b, c) et le symbole (*) indiquent un effet significatif du site de capture (P<0,05). NS indique « effet non significatif » du paramètre étudié.

III-1-1 Matière grasse

Les teneurs en lipides selon le stade de lactation sont illustrées dans le **tableau 9 et la figure 7**.

La comparaison des teneurs en lipides selon le stade de lactation montre une supériorité plus marquée sur le lait du premier stade par rapport au deuxième et troisième. Les résultats enregistrés montrent clairement que les contenus lipidiques des laits du deuxième et du troisième stade de lactation ont enregistré une baisse par rapport à celui du premier stade de lactation (41.56 Vs 33,13 et 28,4 g/l).

La teneur en matière grasse décline après le vêlage et atteint son minimum lorsque les vaches sont entre 40 à 60 jours post-partum, avec une légère augmentation journalière par la suite (Schultz et al., 1990 ; Barber et al., 1997 ; Walker et al., 2004). Cette baisse peut être expliquée principalement par un effet de dilution vu que la teneur matière grasse évolue inversement à la production de lait (Coulon et al., 1991 ; Varga et Ishler, 2007).

Les teneurs en matière grasse enregistrés dans le lait du 2^{ème} stade de lactation vont de paires avec les valeurs signalées par Sassi et al.;(2018), qui sont de l'ordre de 33.72g/l durant le printemps. Selon Coulon et al., (1986), la mise à l'herbe en fin d'hiver et en printemps engendre une élévation du taux butyreux. Cependant, les résultats obtenus dans le lait du 1^{er} stade de lactation s'avèrent inférieurs à ceux rapportés par Linkmark et al., (2003) qui sont de l'ordre de 43.4g/l pour le lait suédois. Il en est de même pour les résultats obtenus par Mansour (2015) qui a enregistré un taux maximal de matière grasse de l'ordre de 45 g/l. D'après Mendia et al., (2000), les variations du taux butyreux du lait sont dues principalement aux facteurs alimentation et aux stades de lactation.

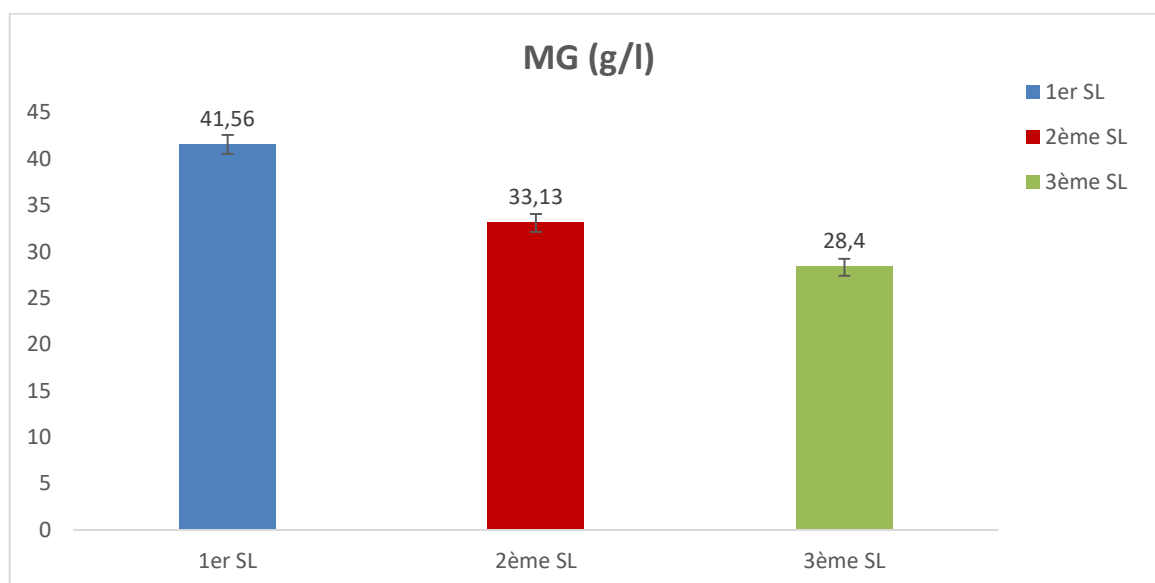


Figure 7 : Teneur en MG selon les trois phases de lactations

III-1-2- Matière protéique

Les contenus protéiques des différents laits récoltés laissent observer que celui du deuxième stade de lactation surclasse ($P < 0,05$) les laits du premier et du troisième stade de lactation de 19% et de 20,19% respectivement (tableau 9, figure 8).

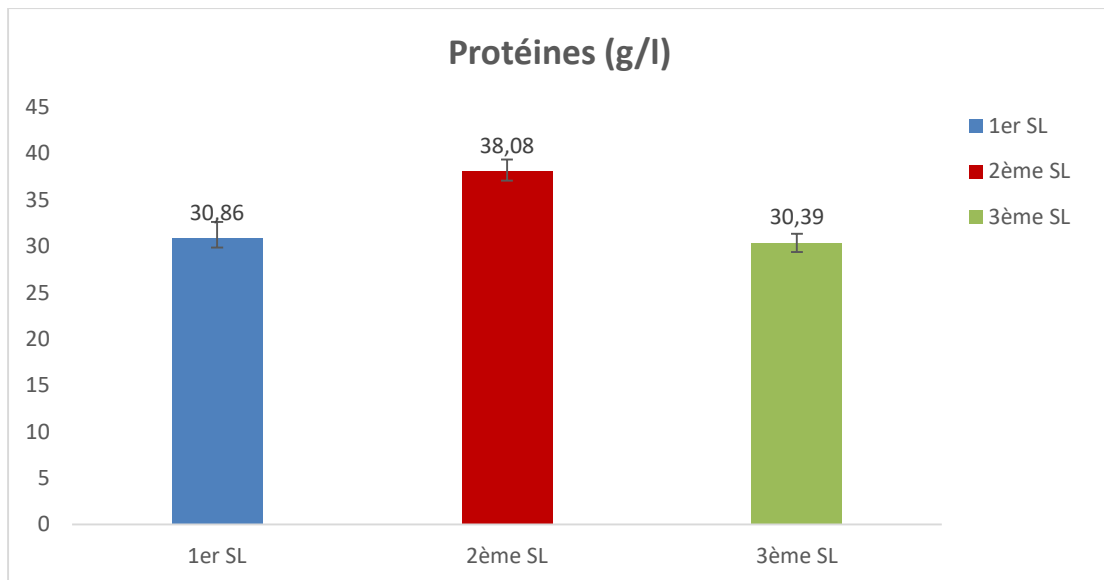


Figure 8 : Teneur en protéines selon les trois stades de lactation

Le stade de lactation a un effet sur la teneur en protéines du lait (**Beever et al., 2001**). Après le vêlage, la teneur en protéines est la plus élevée, cette teneur baisse au fur et à mesure pour atteindre son minimum entre la 5^{ème} et 6^{ème} semaines de lactation et augmente à nouveau graduellement jusqu'à la fin de la lactation (**Beever et al., 2001**).

Néanmoins, nos résultats montrent que la teneur en protéines du lait issu du premier stade de lactation est inférieure à celle du lait du deuxième stade de lactation. Ce faible taux de protéines peut être expliqué par l'état sanitaire des animaux et la présence de cellules somatiques dans le lait. Selon **Amiot et al., (2002)**, l'inflammation de la mamelle affecte la synthèse des protéines du lait « caséine ».

D'après **Alais (1984)**, la teneur en protéines du lait de vache est comprise entre 33 g/l à 36 g/l contrairement aux valeurs enregistrées dans notre étude. Toutefois, la teneur moyenne en protéine du lait issu du premier et du troisième stade de lactation avoisine celle obtenue par **Sassi (2018)** qui a constaté que la teneur moyenne en protéine du lait de vache à la wilaya de Relizane était de l'ordre de 29.82 g/l. Toutefois, la teneur moyenne en protéines issue du lait du deuxième stade de lactation s'avère plus élevée que les normes avec une valeur de l'ordre de 38.08 g/l. D'après **Coulon et al., (1991)**, l'augmentation de la teneur en protéine est due principalement à l'avancement du stade de gestation.

Par ailleurs, **Remond (1987)** et **Schultz et al., (1990)** affirment que les teneurs en TP et TB sont maximales au cours des premiers jours de lactation, minimales durant les 2^{ème} ou 3^{ème} mois de lactation, et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de la lactation. Cette augmentation est due à l'avancement du stade de gestation. Ce dernier diminue la persistance

de la production laitière. Il est à noter que pour les deux taux (protéiques et butyreux), les écarts entre les mois extrêmes atteignent 7 g/kg (**Remond, 1987 ; Schultz et al., 1990**)

III-1-3- Extrait sec dégraissé (ESD)

Le contenu en extrait sec dégraissé entre les trois laits récoltés apparait dans des proportions comparables (**Tableau 9, figure 9**).

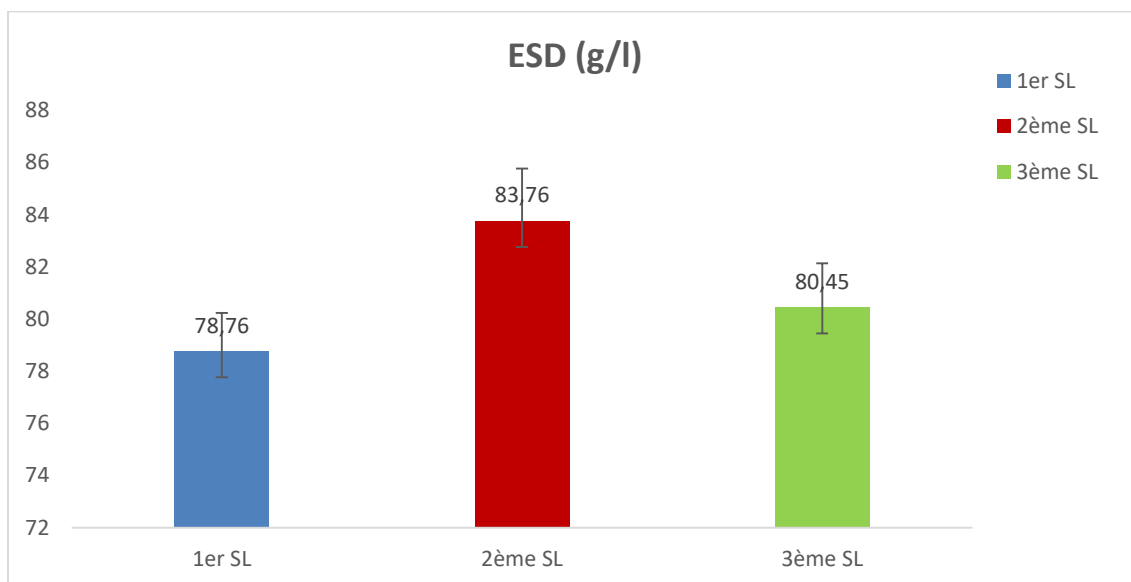


Figure 9 : Teneur en extrait sec dégraisser selon les trois stades de lactation

Toutefois, le stade de lactation présente un effet significatif ($P < 0,05$) sur le taux de l'ESD. À cet effet, une augmentation de ESD de l'ordre de 6 et 8 % pour les laits du deuxième et du troisième stade de lactation est observée respectivement par rapport à celui du premier stade (78.76 Vs 83.7 et 85.44g/l).

Le taux d'extrait sec dégraissé représente la teneur en éléments secs après soustraction de la matière grasse, les valeurs d'ESD sont beaucoup plus stables que celles de la matière sèche totale, (**Veisseyre, 1975**)

Les teneurs en ESD des différents laits récoltés issus des trois stades de lactation s'avèrent inférieures à celle citée par **Vierling (2008)**, soit une teneur supérieure à 8,5g/100ml. Cela peut être justifié par la richesse de nos échantillons de laits en matière grasse (**Codou, 1997**)

Selon **Mathieu (1998)**, le taux d'ESD dégraissé doit être supérieur ou égal à 85g/litre, car une valeur inférieure laisse à suspecter le mouillage du lait.

Par ailleurs, **Coubronne et al., (1980)** affirment que les rations peu énergétiques engendrent une baisse de la teneur en extrait sec dégraissé.

III-1-4- Teneur en lactose

La teneur en lactose est plus élevée dans le lait du deuxième stade de lactation que dans les laits du troisième et du premier stade de lactation (53 Vs 50.83 et 41.95 g/l) avec des différences de l'ordre de 4% et 21% respectivement.

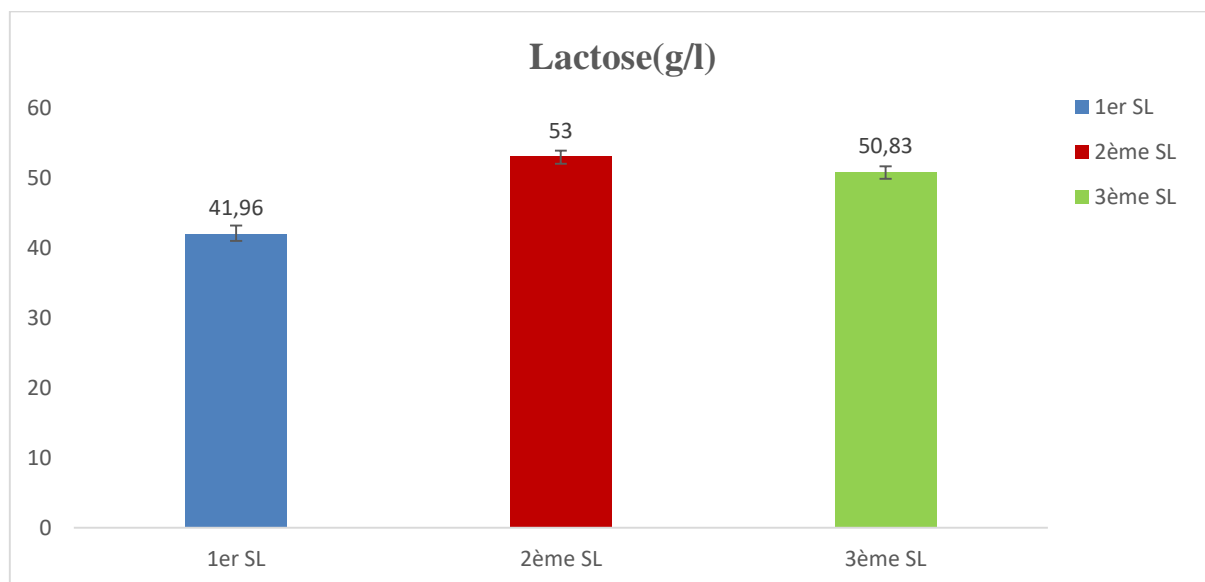


Figure 10 : Taux de lactose selon les trois stades de lactation

Selon **Mathieu (1999)**, le lait comporte des glucides principalement représentés par le lactose, ce dernier est synthétisé au niveau des cellules des acini à partir du glucose sanguin et produit en majorité par le foie. Le lactose est considéré comme étant l'unique glucide du lait de vache avec un pourcentage de 99% des glucides du lait.

La Teneur moyenne en lactose dans les laits des différents stades de lactations est comprise entre 41,96 g/l et 53 g/l. Par contre, **Sassi (2018)** a révélé que de la teneur en lactose est dans l'intervalle de 45.22 g/l à 45.33 g/l.

Les résultats obtenus pour le lait du 3^{ème} stade de lactation corroborent ceux de **Hoden et Coulon, (1991)** qui ont révélé que la teneur en lactose varie de 48 à 50 g/l dans le lait de vache. Cependant la teneur en lactose dans le lait du 2^{ème} stade de lactation demeure supérieure à cet intervalle alors que la teneur de lactose du lait du 1^{er} stade de lactation est inférieure à ce dernier.

III-1-5- pH

La valeur du pH des différents échantillons de laits de vache issus de différents stades de lactation sont illustrés dans le **tableau 9 et la figure 11**.

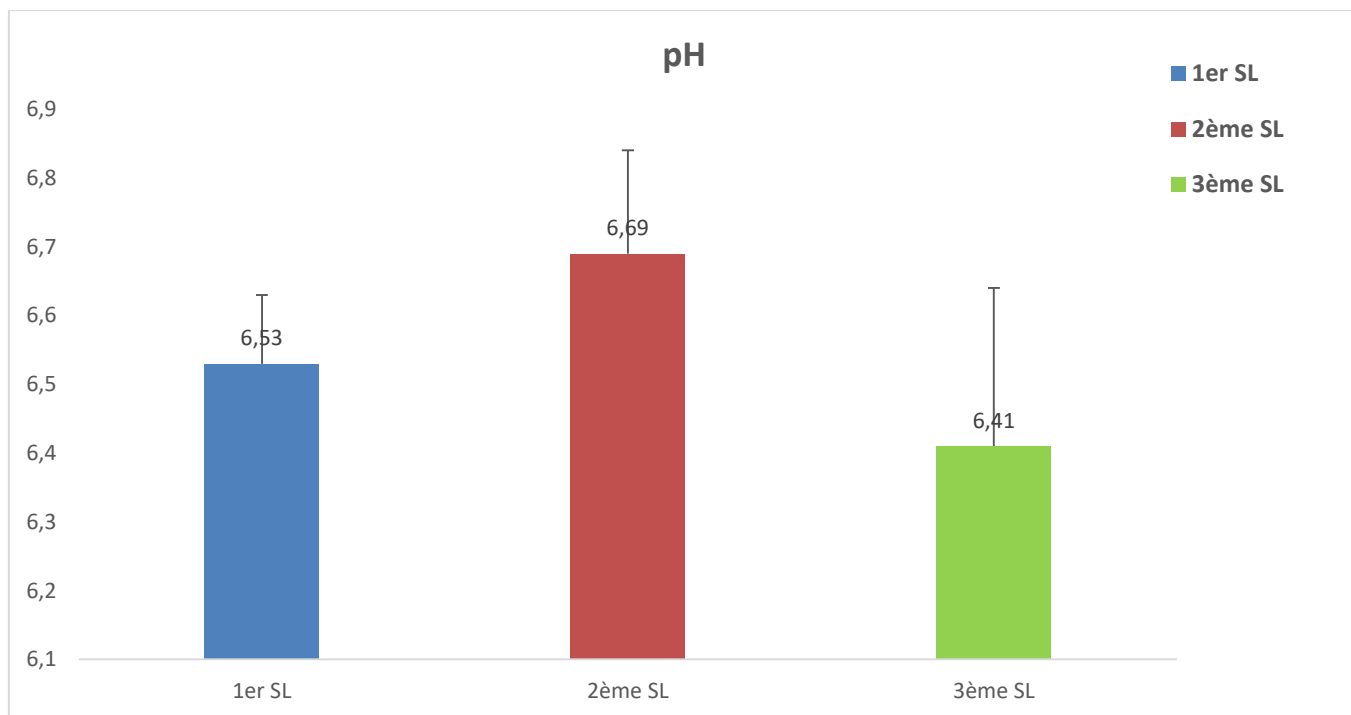


Figure 11 : valeurs du pH selon les trois stades de lactation

Il importe de signaler, que le taux moyen de pH du lait du 2ème stade de lactation (6,69) reste supérieur à celui du 1^{er} et du 3ème stade de lactation dont la teneur en pH était de l'ordre de 6,53 et 6,41 respectivement.

Les résultats obtenus dans le lait du premier stade de lactation vont de pair avec l'intervalle des pH du lait normal affirmé par **Mahaut (2000)** et **Vignola (2002)** qui passe de 6,6 à 6,8. Cependant, les valeurs enregistrées dans le lait du 1^{er} et 3^{ème} stade de lactation s'avèrent inférieure à cet intervalle. En outre, les pH obtenus dans le lait du 1^{er} et du 2^{ème} stade de lactations rejoignent ceux les enregistrés par Sassi (2018) qui était comprises entre 6.51 et 6.78.

D'après **Mathieu (1998)**, les valeurs des pH inférieurs à 6,5 ou supérieurs à 6,9 sont anormales pour le lait de vache. L'état sanitaire du pis fait varier le pH du lait et son taux peut dépasser 7 lors d'une mammite.

III-1-6- Acidité

L'acidité des laits échantillonnées des trois stades de lactations sont mises en exergue dans le **tableau 9** et **figure 12**.

La valeur d'acidité était supérieure dans le lait du 3ème stade de lactation avec un taux de 17,15 suivi de celles des laits du 1^{er} et du 2^{ème} stade de lactation (16,73 et 16,69)

respectivement. Nos résultats vont de pair à l'intervalle rapporté par FIL-AFNOR qui est de l'ordre de 15 à 18°D.

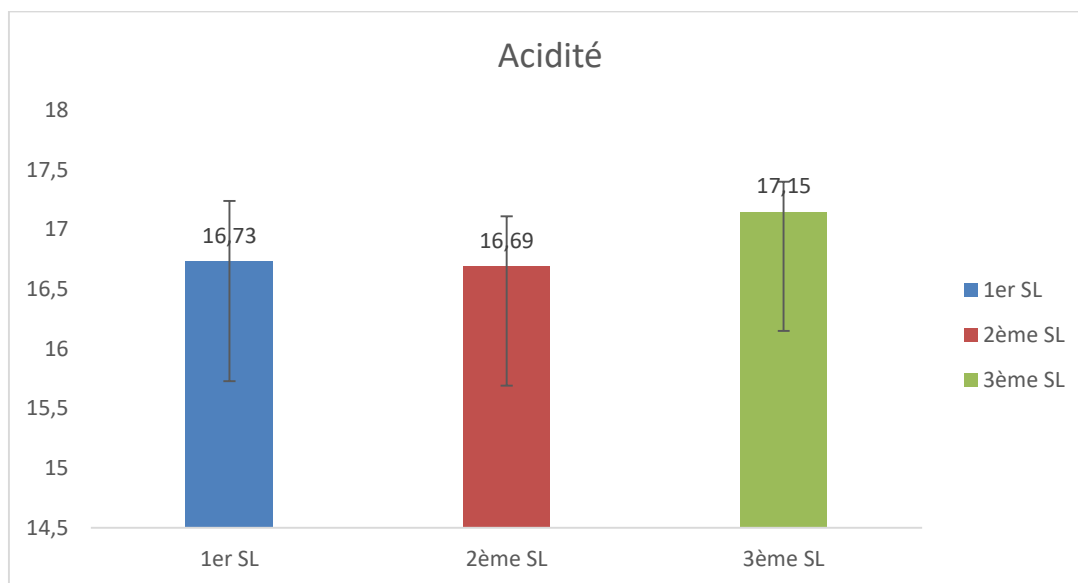


Figure 12 : Valeurs d'Acidité selon les trois stades de lactation

D'après **Vignola (2010)**, l'acidité titrable sert à mesurer les ions H⁺ qu'ils soient ionisés ou disponibles dans le milieu. Elle associe l'acidité naturelle et l'acidité développée. L'acidité du lait dépend principalement de la teneur en caséines et en sels minéraux (**Alais, 1984**).

III-1-7- Densité

Les résultats de densité des différents laits récoltés issus des trois phases de lactation sont illustrés dans le **tableau 9**.

La teneur en densité apparait en valeur inférieure dans le lait du premier stade de lactation (1023,63) par rapport à celles enregistrés dans les laits du deuxième et du troisième stade de lactation avec une teneur de 1031,63 et 1030,50 respectivement.

Les résultats obtenus dans les laits du 2^{ème} et 3^{ème} stade de lactation corroborent ceux de **Mahaut (2000)** qui ont fixé un intervalle allant de 1028 à 1034. Cependant, la faible densité du lait du premier stade de lactation (1023,63) peut être expliquée par sa richesse en matière grasse (**Alais, 1984**). Selon le même auteur l'addition d'eau fait baisser la densité du lait.

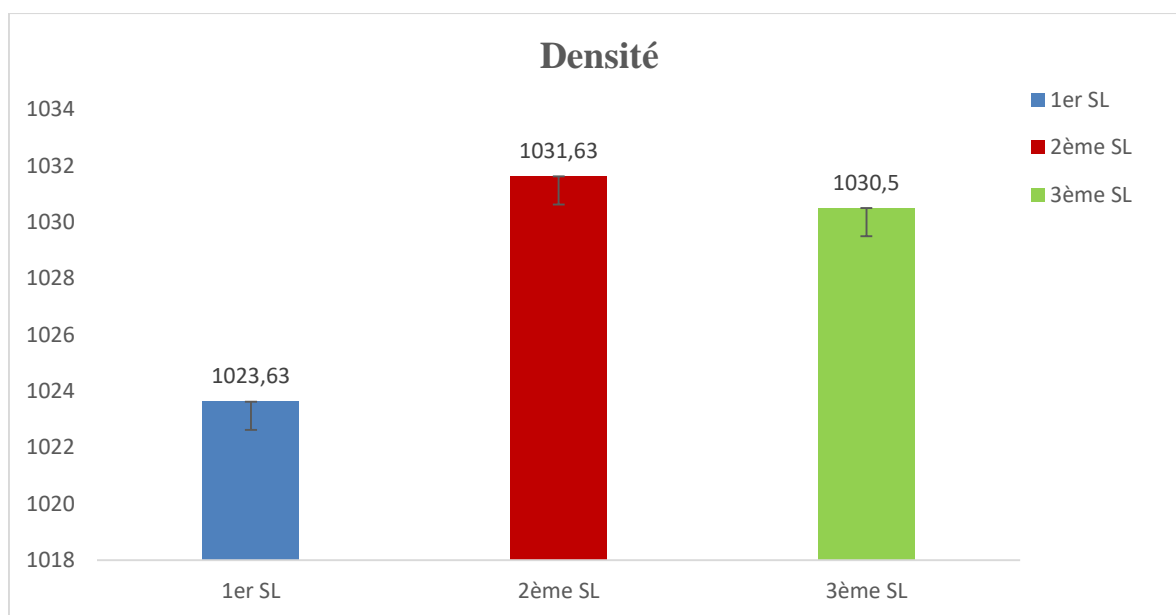


Figure 13 : Valeurs de Densité selon les trois stades de lactation

Il importe de signaler que nos résultats vont de paires avec ceux de **Sassi (2018)** qui a déclaré des valeurs moyenne de densité allant de 1029.7 à 1030.04.

III-2- Résultats des analyses microbiologiques

Le **tableau 10** met en exergue les valeurs des différents paramètres étudiés tels que les germes pathogènes (germes aérobies, coliformes totaux et fécaux, staphylococcus aureus, clostridium sulfito-réducteur) ainsi que les levures et moisissures présent dans les laits des différents stades de lactation

Tableau 10 : valeurs des bactéries d'altérations et pathogènes des laits de vache récoltés selon le stade de lactation

Stades de lactation	1 ^{er} SL (UFC/ml)	2 ^{ème} SL (UFC/ml)	3 ^{ème} SL (UFC/ml)	Normes Algérienne
Germes aérobies	0,08.10 ⁵	1,22.10 ⁵	0,25.10 ⁵	10 ⁵
Coliformes fécaux	5,2.10 ³	1,7.10 ³	4,5.10 ³	10 ³
Coliformes totaux	10 ³	5,7.10 ³	7. 10 ³	10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs
Levure	6.10 ³	25.10 ³	29.10 ³	/

<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Abs	Abs	Abs	50
Moisissures	10 .10 ³	3.10 ³	8.10 ³	/
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs

III-2-1- Dénombrement de la flore totale aérobies

Les échantillons de laits des différents stades de lactation présentent une charge de germes aérobies de l'ordre de $0,08 \cdot 10^5$ UFC/ml dans le lait du 1^{er} stade contre $1,22 \cdot 10^5$ UFC /ml et $0,25 \cdot 10^5$ UFC/ml dans les laits du 2^{ème} et du 3^{ème} stade de lactation respectivement.

Les résultats obtenus laissent observer que les laits récoltés issus du premier et du troisième stade de lactation sont en bonne qualité en se référant aux normes algériennes qui fixent un seuil de contamination à 10^5 UFC/ml

En effet, d'après **Jora (1998)** ces mêmes valeurs n'ont pas dépassé la norme fixée à 10^5 UFC/ml, d'autre part, ces dernières sont également inférieures aux seuils tolérés par la réglementation française qui sont de l'ordre de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml (**Alais, 1984**). De plus, la valeur de la flore totale du lait issu du deuxième stade de lactation est de l'ordre de $1,22 \cdot 10^5$ UFC/ml. Celle-ci s'avère inférieure au seuil exigés par la réglementations française tout en dépassant les normes algériennes fixés à 10^5 .

Par ailleurs, Les valeurs enregistrées de la flore totale des différents laits de notre étude semblent inférieures à celles obtenus par **Sassi (2018)** qui étaient entre $1,6 \cdot 10^5$ UFC/ml et $3,8 \cdot 10^5$ UFC/ml.

Selon **Faye et Loiseau (2002)** un lait cru produit d'un animal sain, obtenu dans de bonne conditions d'hygiène lors de la traite, est peu contaminé et se caractérise par une faible charge de flore globale allant de 10^3 et 10^5 UFC/ml.

III-2-2- Dénombrement des *staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus dans les différents stades de lactation sont conformes à la norme fixée par le journal officiel algérien qui exige l'absence totale du germe *Staphylococcus aureus*

Selon **Booth et Dodd, (2000)**, le *Staphylococcus aureus* est l'une des bactéries pathogènes majeures, cette bactérie cause des infections mammaires tout en augmentant par la suite la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait ce qui modifie enfin la composition de ce dernier.

La présence des staphylococcus aureus dans le lait peut être due aux mammites sub-cliniques des vaches. Sachant que les infections mammaires aux staphylococcus aureus constituent la source principale de contamination du lait au moment de la traite. Il importe de signaler que cette bactérie est responsable d'environ un tiers des mammites cliniques et une grande majorité des mammites chroniques chez la vache laitière. D'où la présence de ce germe dans le lait dans le cas des quartiers infectés peut atteindre les 10^3 à 10^5 bactéries/ ml en moyenne contre 10^6 et 10^8 bactéries/ml le cas d'infection sub-clinique, et d'infection clinique respectivement (**Bassa et al., 2010**).

III-2-3- Dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Nos résultats vont de pair au normes exigés par le journal officiel algérien qui est de l'ordre de 50. Il est à noter, que le lait ne représente pas un milieu favorable à la croissance des clostridium ce qui explique le faible niveau de contamination suite à ce germe par rapport à d'autres (**Julien, 2008**).

Selon **Benzakour et al., (2009)**, l'absence des *Clostridium sulfito-réducteur* dans le lait de vache cru reflète une bonne pratique d'hygiène de la traite, des étables ainsi qu'une bonne santé des vaches. Cependant la présence de ce germe dans le lait laisse à déduire un manque d'hygiène du sol, de l'alimentation de bétail, de l'environnement des étables et de l'eau (**Gledel, 1978**).

III-2-4-Dénombrement des coliformes totaux

Les échantillons de lait issu du premier stade de lactation présentent une charge en coliformes totaux conforme aux normes exigés par le journal officiel algérien, (10^3). Cependant, les charges en coliformes totaux présentent dans les échantillons de laits issues du 2^{ème} et 3^{ème} stade de lactation s'avèrent supérieurs aux normes algériennes fixés à 10^3 avec des valeurs de $5,7.10^3$ UFC/ml et 7.10^3 respectivement. Ces résultats sont inférieurs à ceux de **Afif et al., (2008)** qui ont mentionné une charge de $3,2.10^5$ UFC/ml.

D'après **Larpen (1997)**, la présence des coliformes dans le lait n'est pas forcément une contamination fécale, elle peut être due à la présence de ces germes dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier. Toutefois, **Magnusson et al., (2007)**, ont signalé

que les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes ce qui augmente la prévalence de mammites provoquant par la suite une contamination plus importante des trayons et du lait. Il est à noter que la contamination du lait aux coliformes peut être due au manque d'hygiène de la traite et des mauvaises conditions de transport.

III-2-5- Dénombrement des coliformes fécaux

La charge en coliformes fécaux enregistrés dans les différents échantillons de lait cru issus des différents stades de lactations dépasse la norme Algérienne fixé à 10^3 UFC/ml, avec des valeurs allant de $1,7 \cdot 10^3$ pour le lait du 2^{ème} SL contre $4,5 \cdot 10^3$ pour le lait du 3^{ème} SL et enfin $5,2 \cdot 10^3$ pour le lait du 1^{er} stade de lactation. Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Sassi (2018)** qui sont de l'ordre de $1,2 \cdot 10^3$ UFC/ml en été contre $4,1 \cdot 10^3$ UFC/ml en printemps et enfin $5,2 \cdot 10^3$ UFC/ml en printemps à la wilaya de Relizane.

Selon **Aggad et al.,(2010)** et **Fatine et al., (2012)** les coliformes fécaux ne peuvent pas survivre longtemps en dehors de l'intestin. Ce qui fait que la présence de ce germe dans le lait annonce une contamination fécale récente. De plus, une forte contamination du lait par des coliformes fécaux indique une mauvaise qualité hygiénique lors de la production laitière. Les principales sources de contamination par des coliformes sont les pis et les tétines, le fumier, le sol, l'alimentation, l'eau et le personnel (**Bille et al., 2009**). La présence de ce germe en grande proportion peut provoquer des intoxications alimentaires après l'ingestion d'un lait contaminé (**Audiguie et al., 1980**).

La valeur moyenne enregistré dans le lait du 2^{ème} SL rejoint la valeur moyenne obtenue par **Ghazi et Niar (2011)** qui était de l'ordre de $1,7 \cdot 10^3$. Toutefois, les valeurs moyennes des coliformes fécaux présents dans les laits des différents stades de lactation s'avèrent inférieurs à ceux de **Afif et al (2008)**, de **Ouinine et al., (2004)** et de **Fatine et al., (2012)** qui ont noter des valeurs de l'ordre de $3,2 \cdot 10^5$ UFC/ml , $2 \cdot 10^6$ UFC/ml et $4,2 \cdot 10^7$ UFC/ml respectivement.

Selon **Falkenberg et al.,(2006)** la présence excessive des coliformes dans le lait est expliquée par une contamination plus importante des supports de la machine à traite par cette bactérie. En outre, les déjections dans les litières constituent des milieux favorables à la multiplication des coliformes (**Rendos et al., 1975**).

Chapitre 2

Isolement de la flore lactique à partir d'un lait de vache récolté selon les trois stades de lactation

I-Objectifs :

Les bactéries lactiques sont largement impliquées dans la fabrication des produits laitiers fermentés, du fait de leurs activités métaboliques diverses, particulièrement la production d'acide lactique traduisant ainsi leur pouvoir acidifiant, ainsi que d'autres activités liées à leurs pouvoirs protéolytique, lipolytique, aromatisant et texturant. Les bactéries lactiques sont connues également dans la production d'acides organiques et d'autres composés antimicrobiens telles que les bactériocines, qui jouent un rôle dans la conservation des produits laitiers et à l'inhibition des germes pathogènes.

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à étudier des laits de vache crus de différents stades de lactation destinés à la fabrication du camembert en ciblant les objectifs suivants :

- Isolement des bactéries lactiques à partir de différents échantillons de laits de vache crus destinés à la fabrication du camembert
- Étude de propriétés phénotypiques, physiologiques et biochimiques des souches isolées.
- Pré-identification des bactéries lactiques isolées sur la base des résultats des tests phénotypiques, physiologiques et biochimiques.

II-Matériels et méthodes

II-1- provenance des échantillons

(Voir chapitre 1 de la partie expérimentale)

II-2- Milieux de cultures utilisés

Plusieurs milieux de cultures ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale dont les principaux sont :

- a) Le milieu MRS (**De Man et al.,1960**) est utilisé pour la recherche des *Lactobacillus*, *Pediococcus* et les *Leuconostoc*. L'ensemencement a été réalisé en profondeur et en double couches.
- b) Le milieu M17 (**Tetzaghi et Sandine 1975**) est utilisé pour la recherche des *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*. L'ensemencement a été réalisé en surface.
- c) Bouillon MRS et M17, bouillon hypersalé à 4% et 6.5% de NaCl , ADH, lait de Sherman, Clark et Lubs .

II-3- Caractérisation phénotypique et technologique des souches

II-3-1- Caractérisation phénotypique

II-3-1-1- Isolement et purification

L'isolement est l'étape clé qui nous permet de distinguer les différentes colonies. Pour cela, les dilutions décimales ont été initialement effectuées jusqu'à 10^{-6} .

Afin d'isoler un maximum d'espèces nous avons opté pour trois types d'ensemencement (en surface sur le milieu M17, en profondeur et en double couche sur le milieu MRS), en portant quelques gouttes des dilutions décimales. L'incubation est faite à 30°C et 45°C pendant 24h (**Dahou, 2017**).

La purification est l'étape la plus importante car elle permet l'obtention des souches pures ce qui facilitera leur caractérisation. Elle consiste à effectuer des repiquages successifs sur bouillon-gélose (MRS/M17 selon la souche) jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur indiquant la pureté des souches (**Idoui et al., 2009**). La purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode des stries. La pureté des souches est contrôlée par examen macroscopique, microscopique (après coloration de Gram) avec une recherche de catalase après chaque repiquage, et l'aspect caractéristique de la culture des bactéries lactiques en bouillon.

II-3-1-2- Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies (la couleur, la forme, l'aspect et la taille des colonies) (**Badis et al., 2005**).

II-3-1-3- Examen microscopique

Une coloration de Gram est effectuée pour chaque colonie isolée. Les cellules sont examinées au microscope optique à immersion (G x100) selon le protocole décrit par **Prescott et al., (2003)**. Celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement.

II-3-1-4- Recherche de la catalase

La catalase est mise en évidence en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (**Guiraud et al., 2003**). Chez les bacilles, elle permet de distinguer les bactéries sporulées, aérobies et catalase positive appartenant au genre *Bacillus* et les bacilles asporulées catalase négative du

genre *Lactobacillus*. Chez les coques, elle permet de différencier les coques lactiques qui sont catalase négative (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*) et les coques non lactiques qui sont catalase positive (*Staphylococcus* et *Micrococcus*) (Guiraud, 1998).

II-3-1-5- Conservation

✓ Repiquages successifs

Cette méthode est utilisée pour une conservation des souches pures à courte durée. Les souches pures sont cultivées sur milieu solide incliné (MRS/M17) dans des tubes. Après la croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines (Badis *et al.*, 2004).

✓ Congélation

La conservation à long terme des souches pures est réalisée dans un milieu contenant 70% de lait écrémé (enrichi par 0.05% d'extrait de levure et 0.05% de glucose) et 30% de glycérol et stockées à une température de -80°C (Badis *et al.*, 2004).

II-3-2- Identification des isolats

L'identification des souches isolées a été réalisée par l'application des méthodes classiques décrites par Guiraud, (1998); Bourel *et al.*, (2001); Badis *et al.*, (2005).

II-3-2-1- Croissance à différentes températures et test de thermorésistance

Elle permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles. Après inoculation du bouillon MRS/M17 par les cultures pures, les tubes sont incubés pendant 24 à 48 heures aux températures 10°C, 30°C et 45°C. (Leveau *et al.*, 1991). La croissance est appréciée par un trouble du milieu. La thermorésistance est un critère de classification qui permet d'étudier la résistance à un traitement thermique de 63°C pendant 30 min suivi d'une incubation à 37° pendant 24 à 48h. (Rouissat *et al.*, 2006)

II-3-2-2- Croissance des souches dans des conditions hostiles

II-3-2-2-1- Croissance à différents pH (pH= 4 ; pH= 9.6)

Ce test permet de différencier les *Enterococcus* des *Streptococcus* et des *Lactobacillus* (Guiraud, 1988). Il est effectué sur bouillon MRS. Après ajustement du pH à 4 à l'aide d'une solution de HCl (ou à l'aide d'une solution de soude 1N pour le pH 9,6), les différents isolats sontensemencés, puis incubés à 30°C pendant 24h à 72h. L'apparition d'un trouble indique une croissance bactérienne (Guiraud *et Galzy*, 1980).

II-3-2-2-2- Culture sur milieu hypersalé

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux pour l'identification. Les cultures à tester ont étéensemencées sur des bouillons de MRS/M17 à 4 % et à 6,5% de Na Cl, puis incubées à 37°C pendant 24h. Ce test permet de séparer les *Lactococcus* et *Streptococcus* des *Enterococcus* (Devriese et al., 1993). L'aptitude à croître sur ces milieux se traduit par l'apparition d'un trouble.

II-3-2-2-3- Croissance sur le lait bleu de Sherman

Ce test indique l'aptitude des bactéries à se multiplier en présence de bleu de méthylène, bleu en milieu très oxydant et incolore en milieu réduit. Chaque culture à tester a étéensemencée dans le lait écrémé au bleu de méthylène à 0,1% et 0,3%. Après 24h à 48h d'incubation, on note les observations relatives à la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait. Seules certaines espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus* sont capables de se développer. La décoloration du bleu de méthylène est d'autant plus rapide que le nombre de bactéries est élevé (Delarras, 2007).

II-3-2-2-4- Activité Arginine dihydrolase (ADH)

La recherche de cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques. Cette enzyme libère l'ammoniac et la citruline à partir de l'arginine. Pour réaliser ce test, 1 ml d'une culture jeune est introduite dans un tube à essai en ajoutant quelque goutte d'arginine en ampoules. Après incubation à 37°C pendant 24h, les souches d'arginine positifs catabolisent l'arginine et libèrent l'ammoniac (NH₃) et empêchent le virage de la couleur au jaune (Guiraud, 1998).

II-3-2-2-5- Production de l'acétoïne (Acétyle-Méthyle-Carbinol)

La recherche de l'acétoïne est testée par la réaction de Voges-Proskauer (VP). Il s'agit d'une culture sur milieu Clark et Lubs à 37°C pendant 24 h. après incubation 5 gouttes du réactif VPI (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et 5 gouttes du réactif VPII (alpha-naphtol à 6% dans l'alcool à 95%) ont été ajoutés avec agitation. La présence d'acétoïne se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant diffuser dans tout le milieu (Guiraud, 1998).

II-3-2-2-6- Recherche de type fermentaire

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homofermentaires de celles hétérofermentaires (Hassaine, 2013). Il a été effectué dans un milieu dépourvu de citrate afin

d'éviter la formation du CO₂ liée à ce métabolisme particulier. Un tube de 9ml de bouillon de MRS (sans citrate) ou M17 a étéensemencé, ensuite une cloche de Durham a été introduite pour passer à l'incubation à 37°C pendant 24h à 48h. Les souches homofermentaires produisent 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO₂; par contre les souches hétérofermentaires produisent l'acide lactique et le CO₂ à proportion égale (Carr *et al.*, 2002).

II-3-2-3-7- Profil fermentaire des sucres

Ce test permet d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers composés carbonés, en particulier des sucres. Le milieu de base utilisé pour fermentation est le bouillon MRS (sans glucose et sans extrait de viande) additionné de 40 mg/L de pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH (MRSBCP) (Mannu *et al.*, 2000). Le glucose est alors remplacé par le composé à tester, filtré sur membrane et introduit en solution à concentration finale de 1% des carbohydrates suivants : **glucose, fructose, saccharose, xylose, cellobiose, Mannose, Maltrose, Lactose et mannitol**. Les solutions de sucres sont préparées à raison de 20% dans 100 mL d'eau distillée. La croissance est appréciée par virage de l'indicateur de pH. Les conditions d'anaérobiose sont assurées par l'addition d'une couche d'huile de paraffine stérile à la surface du milieu (Samelis *et al.*, 1994). L'acidification est appréciée après 18 à 72 heures par virage du milieu au jaune.

III- Résultats et Discussion

III-1- Caractérisation des bactéries lactiques

III-1-1-Isolement

Soixante-quinze isolats ont pu être isolées à partir des différents laits récoltés. Après purification sur milieux MRS et M17, les isolats étaient examinés au microscope puis testés pour leurs activités catalase et coloration de gram. Les bactéries lactiques sont Gram positif et catalase négative.

III-1-2- Examen macroscopique et microscopique

Au cours de la purification, seuls les isolats qui répondent aux caractéristiques communes, propres aux bactéries lactiques ont été conservés. Sur l'ensemble des 75 isolats, 20 souches positives à la coloration de Gram et de forme cocci ont été retenues (Badis *et al.*, 2004; Axelsson, 2004). Les cellules isolées se présentent sous forme de courtes ou longues chainettes (A4, B3, C4, C5). Cependant des coques et diplocoques ont été également observés (A1, A2, A3, A5, B1, B6, C1, C2, C3, C4, C6, C7, C8, C9). Ces codifications correspondent aux différents isolats issus des laits de trois stades de lactation (A : isolats issus du lait du 1^{er} SOL,

B: Isolats issus du lait du 2^{ème} SOL et C : Isolats issus du lait du 3^{ème} SOL). Par ailleurs, l'examen macroscopique des colonies obtenues sur milieu MRS ou M17 a montré qu'elles étaient de différentes tailles, de couleurs blanchâtres, blanc-crème, de forme circulaire à contour régulier avec un diamètre qui varie entre 0,1 et 0,5 mm. Par ailleurs, l'ensemble des isolats sont catalase négatif. Sur bouillon, les bactéries présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques (**Guiraud, 2003**).

La **Figure 14 et 15** montre l'aspect macroscopique des colonies de lactobacilles et des coques cultivées sur gélose MRS et M17 respectivement.

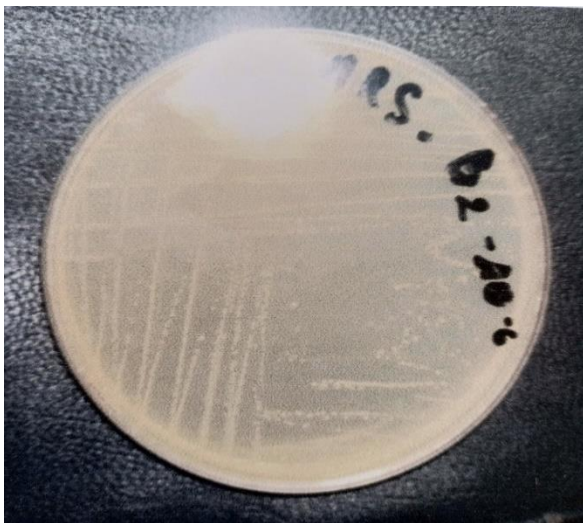


Figure 14 : Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu MRS

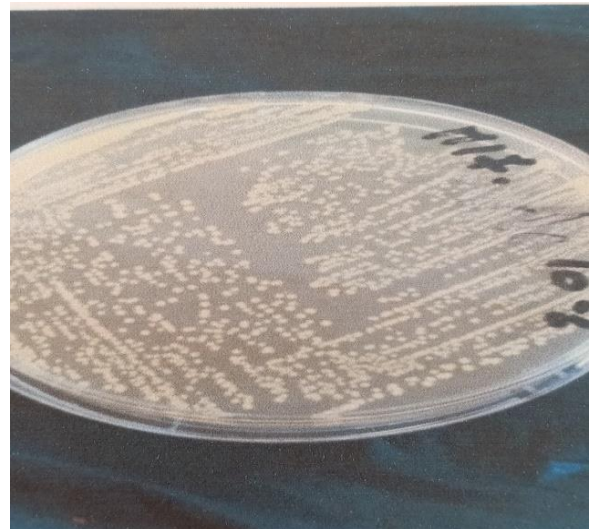


Figure 15 : Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu M17

La figure **16 et 17** montre une observation microscopique après une coloration de Gram au grossissement x100



Figure16 : Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100

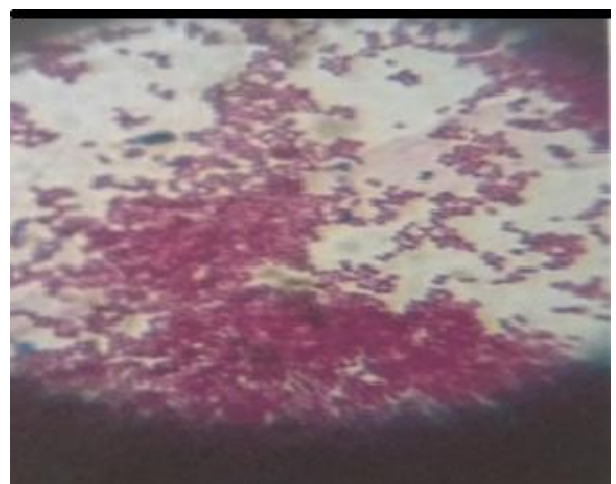


Figure17 : Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100

Tableau 11 : Critères morphologiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache

Souches	Gram	Catalase	Observation macroscopique
A1	+	-	Coques, diplocoques
A2	+	-	Diplocoques
A3	+	-	Coques, diplocoques
A4	+	-	Coques en chaînettes
A5	+	-	Diplocoques
B1	+	-	Diplocoques
B2	+	-	Coques, diplocoques
B3	+	-	Coques en chaînettes
B4	+	-	Coques
B5	+	-	Coques en chaînettes
B6	+	-	Diplocoques
C1	+	-	Coques
C2	+	-	Coques
C3	+	-	Coques
C4	+	-	Coques en chaînettes
C5	+	-	Coques en chaînettes
C6	+	-	Diplocoques isolées et en amas
C7	+	-	Diplocoques
C8	+	-	Diplocoques
C9	+	-	Coques, diplocoques

(les codifications **A,B,C** : correspond au isolats issus des laits du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stades de lactation respectivement)

III-1-3- Caractères physiologiques

Les résultats des tests effectués pour l'identification biochimique et physiologique des bactéries pré-identifiées sont illustrés dans le **Tableau 12**.

III-1-3-1- Croissance à différentes températures et thermorésistance

La variation de température d'incubation pour les différents isolats permet de les identifier et de mettre en évidence leurs aptitudes biotechnologiques (**Tableau 12**). Ce test sert

à distinguer entre les souches mésophiles, psychrophiles, et les souches thermophiles poussant à des températures variables, qui avoisinent les 10°C, 30°C et 45°C respectivement. Toutefois, la thermorésistance est un caractère physiologique permettant de distinguer entre les souches pouvant tolérer une température de 63°C pendant 30mn de celles qui en sont incapables.

Les figures 18, 19 et 20 correspondent au résultats de la croissance aux différents température (10°, 30° et 45°C). La figure 21 illustre les résultats de la thermorésistante.



Figure 18 : Résultats de la croissance à la température de 10°C



Figure 19 : Résultats de la croissance à la température de 30°C



Figure 20 : Résultats de la croissance à la température de 45°C



Figure 21 : Résultats de la Thermorésistance des différents isolats à 63°C pendant 30min

Les résultats de ce test ont révélé qu'une seule souche (C2) est psychrophile. Cependant, les souches A4, B1, B2, B3, C3, C7, C8, C9 sont des mésophiles poussant bien à 30°C après 24 h d'incubation, alors que les souches A1, A2, A3, B4, B5, C1, C4, C5, C6 sont thermophiles.

Tableau 12: Résultats des tests physiologiques

Souches	Thermorésistance à 63°C	Température (°C)			pH		NaCl (%)		Lait de sherman (%)	
		10	30	45	4	9.6	4	6.5	0.1	0.3
A1	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
A2	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
A3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
A4	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
A5	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
B1	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
B2	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
B3	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+
B4	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
B5	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
B6	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
C1	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
C2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
C3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
C4	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
C5	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
C6	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
C7	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
C8	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
C9	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

+ : croissance ; - : pas de croissance (les codifications **A,B,C** : correspond au isolats issus des laits du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stades de lactation respectivement)

III-1-3-2- Croissance aux différentes conditions de culture

Les souches isolées ont été cultivées sur divers milieux en vue de tester leur résistance aux différentes conditions de culture (**Tableau 12**).

III-1-3-3- Croissance à pH 4 et 9,6

La croissance à différents pH acides et basique (4 ; 9,6) sur milieu MRS se traduit par un trouble bactérien visible à l'œil nu, les résultats sont rapportés sur le **Tableau 12**.



Figure 22 : Résultats de la croissance à pH=4



Figure 23 : Résultats de la croissance à pH=9.6

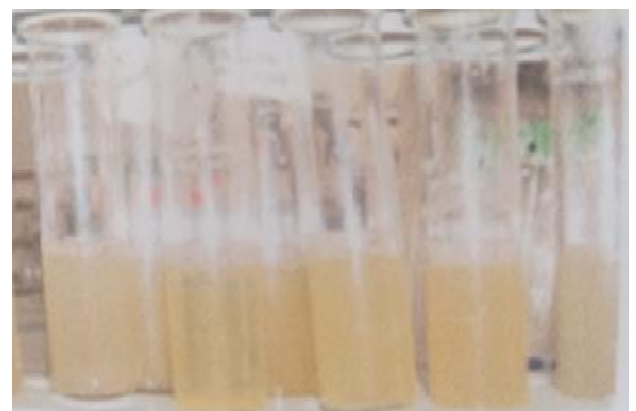
Les deux isolats A4 et C7 ont pu résister au milieu alcalin contrairement à toutes les autres isolats. Cependant, seul l'isolat A4 a le pouvoir de pousser en milieu acide.

III-1-3-4- Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl

La croissance dans un milieu hypersalé (hostile) se manifeste par un trouble dans les tube après incubation.



Figures 24 : Résultats de la croissance en milieu hyper salé à NaCl= 4%



Figures 25 : Résultats de la croissance en milieu hyper salé à NaCl= 6.5%

Les isolats codés (A3, A5, B2, B3, B4, B5, C1) ont pu croître au milieu hypersalé à 4% contre seulement deux isolats (A4, A5) qui ont toléré le milieu hypersalé à 6.5 %.

III-1-3-5- Croissance sur lait bleu de Sherman

Un bleu de méthylène oxydé garde sa couleur bleue, une fois réduit il perd sa couleur par gain d'électrons faisant apparaître la couleur blanche originelle du lait.



Figure 26 : Résultats de la croissance dans le lait de Sherman à 0.1%



Figure 27 : Résultats de la croissance dans le lait de Sherman à 0.3%

La culture des isolats sur bleu de Sherman à des concentrations de 0,1 et 0,3%, a permis de distinguer 09 isolats (A1, A4, A5, B1, B2, B3, B5, B6, C4) qui se sont développées à 0,1% et 15 isolats (A1, A2, A4, B1, B2, B3, B4, B5, C1, C3, C4, C5, C6, C7, C8) qui ont pu croître à 0,3%. La capacité de ses isolats à se développer en utilisant l'oxygène du bleu de méthylène permet à ce dernier de perdre sa couleur. Des résultats négatifs ont été observés pour 11 souches à la concentration de 0,1% et 05 souches à 0,3% de bleu de méthylène.

Selon **Rabah (2010)**, seuls les entérocoques peuvent se développer dans le lait de Sherman à 0,3% et certaines coques ont la capacité de se développer dans le lait à 0,1% de bleu de méthylène après incubation à 30°C pendant 48h.

III-1-4- Tests biochimiques

Les résultats des différents tests biochimiques sont présentés dans le **tableau 13**

III-1-4-1- Type fermentaire

Ce test laisse à déduire la voie métabolique par laquelle le substrat carboné est transformé, il s'agit de la formation de CO₂, piégé dans une cloche de Durham en milieu MRS-BCP glucosé (pour les bacilles) (**Hassaine, 2013**). Ce test permet de différencier les isolats

homofermentaires des hétérofermentaires après incubation à 30°C pendant 24 heures jusqu'à 72 heures (**Hassaine, 2013**).

Toutes les souches sont homofermentaires, caractérisées par leurs capacités de fermenter le sucre en lactate sans production de gaz. Selon **Thompson et al., (1994)**, les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pediocoques, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie métabolique conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée

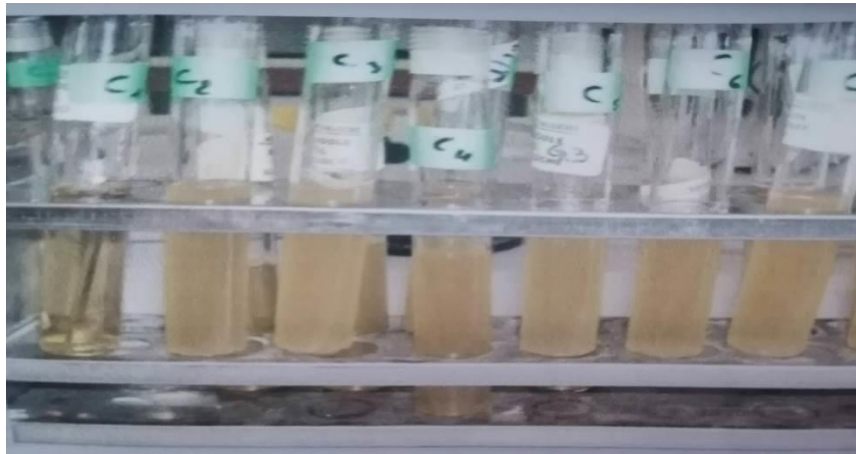


Figure 28 : Résultats du type fermentaire

III-1-4-2- Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH)

L'activité de l'arginine déshydrogénase effectuée sur les 20 isolats, sur milieu Möeller à arginine a révélé que l'isolat A1 est ADH négative, alors que les 19 isolats restants sont ADH positives. (**Tableau 13**).

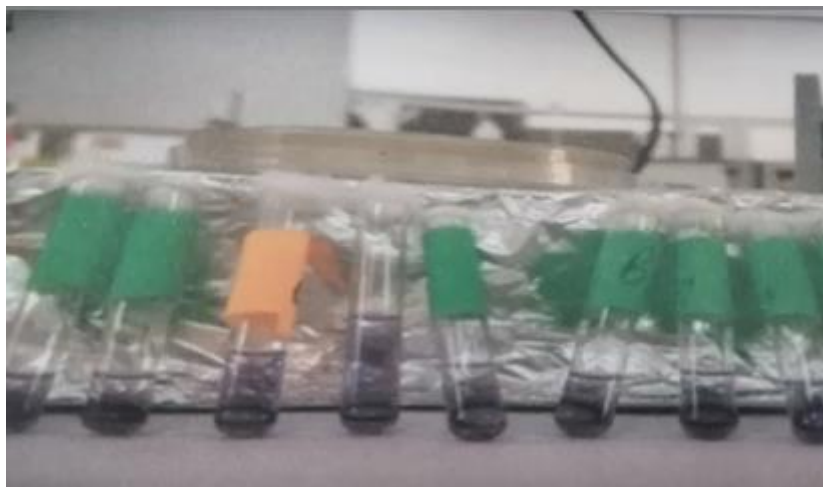


Figure 29 : Résultats de l'ADH

III-1-4-3- Production d'acétoine

Tous les isolats ont marqué un résultat négatif, ces derniers n'ont pas la capacité de produire l'acétoine. D'après **Kerrache (2008)**, certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent à la qualité organoleptique de fromage. Les composés responsables de l'arôme des divers produits laitiers sont nombreux tels que le diacétyl et le CO₂.



Figure 30 : Résultats de la production de l'acétoine

Tableau 13: Résultats des tests biochimiques

souches	ADH	Acétoïne	Type fermentaire
A1	-	-	Homofermentaire
A2	+	-	Homofermentaire
A3	+	-	Homofermentaire
A4	+	-	Homofermentaire
A5	+	-	Homofermentaire
B1	+	-	Homofermentaire
B2	+	-	Homofermentaire
B3	+	-	Homofermentaire
B4	+	-	Homofermentaire
B5	+	-	Homofermentaire
B6	+	-	Homofermentaire
C1	+	-	Homofermentaire
C2	+	-	Homofermentaire
C3	+	-	Homofermentaire
C4	+	-	Homofermentaire
C5	+	-	Homofermentaire
C6	+	-	Homofermentaire
C7	+	-	Homofermentaire
C8	+	-	Homofermentaire
C9	+	-	Homofermentaire

+ : Réaction positive ; - : Réaction négative. (Les codifications **A, B, C** : correspond au isolats issus des laits du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stades de lactation respectivement)

III-1-4-4- Fermentation des sucres

Ce dernier test biochimique concerne l'utilisation des sucres par les souches. Il nous a permis de s'orienter vers les différentes espèces lactiques en référence de la classification établie dans le **Bergy's manual (2009) (Tableau 14)**.

Le tableau 14 montre la fermentation des différents sucres par les souches lactiques étudiées.



Figure 31 : Résultats de la fermentation des sucres

Tableau 14 : Résultats de profil fermentaire des souches isolées

Souches	Glu	Fru	Sach	Xyl	Cello	Man	Mal	Lac	Mani
A1	+	-	+	-	-	+	+	+	+
A2	+	-	+	+	-	-	+	+	-
A3	+	+	-	-	+	+	+	+	-
A4	+	-	+	-	-	+	+	+	-
A5	-	+	+	-	-	+	+	+	-
B1	+	+	+	+	+	-	+	+	-
B2	+	-	-	-	-	+	+	+	-
B3	+	+	+	+	+	-	+	+	-
B4	+	+	+	-	+	-	+	-	+
B5	+	+	-	-	-	-	+	+	+
B6	+	+	+	-	+	+	+	+	-
C1	+	-	+	+	-	-	-	+	+
C2	+	+	-	+	+	-	+	+	-
C3	+	-	-	-	+	-	+	-	-
C4	+	-	+	-	+	-	-	-	+
C5	+	+	+	+	+	-	-	+	-
C6	+	+	+	+	-	-	+	-	-
C7	+	+	-	+	+	-	-	-	-
C8	+	+	-	+	+	-	-	+	-
C9	+	+	-	-	-	-	-	+	-

+ : Réaction positive ; - : Réaction négative (les codifications **A,B,C** : correspond au isolats issus des laits du 1^{er} , 2^{ème} et 3^{ème} stades de lactation respectivement)

Glu : Glucose ; **Fru** : fructose ; **Sach** : Saccharose ; **Xyl** : Xylose ; **Cello** : Cellobiose ; **Man** : Mannose ; **Mal** : Maltose ; **Lac** : lactose ; **Mani** : manitol.

III-1-5- identification des souches

Selon le tableau d'identification des bactéries lactiques présenté par **Guiraud (1998)** et **Axelsson (2004)**, les isolats ont pu être identifié et représentés par *Streptococcus bovis* (10), *Streptococcus mutans* (6), *Lactococcus lactis subsp lactis biovar diacetylactis* (2), *Streptococcus thermophilus* (1), *Enterococcus faecalis* (1).

Les isolats retenus au nombre de vingt sont répartis en deux genres *Streptococcus*, et *Enterococcus*. Ces résultats sont illustrés dans le **Tableau 15**.

Tableau 15 : Identification des souches lactiques isolés à partir du lait de vache

Code de souches	Genre et espèce
A1	<i>Streptococcus bovis</i>
A2	<i>Streptococcus bovis</i>
A3	<i>Streptococcus mutans</i>
A4	<i>Enterococcus faecalis</i>
A5	<i>Streptococcus mutans</i>
B1	<i>L.lactis.subsp lactis biovar diacetylactis</i>
B2	<i>Streptococcus bovis</i>
B3	<i>Streptococcus bovis</i>
B4	<i>Streptococcus bovis</i>
B5	<i>Streptococcus bovis</i>
B6	<i>L.lactis.subsp lactis biovar diacetylactis</i>
C1	<i>Streptococcus thermophilus</i>
C2	<i>Streptococcus mutans</i>
C3	<i>Streptococcus mutans</i>
C4	<i>Streptococcus mutans</i>
C5	<i>Streptococcus bovis</i>
C6	<i>Streptococcus bovis</i>
C7	<i>Streptococcus mutans</i>
C8	<i>Streptococcus bovis</i>
C9	<i>Streptococcus bovis</i>

(Les codifications **A,B,C** : correspond au isolats issus des laits du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stades de lactation respectivement)

À partir de cette figure (32), nous pouvons noter que les *Streptococcus* sont les plus dominant des avec un pourcentage de 85%, suivi en deuxième lieu des *Lactococcus* avec un pourcentage de 10% et le dernier pourcentage est celui de *Enterococcus* qui est de 5%.

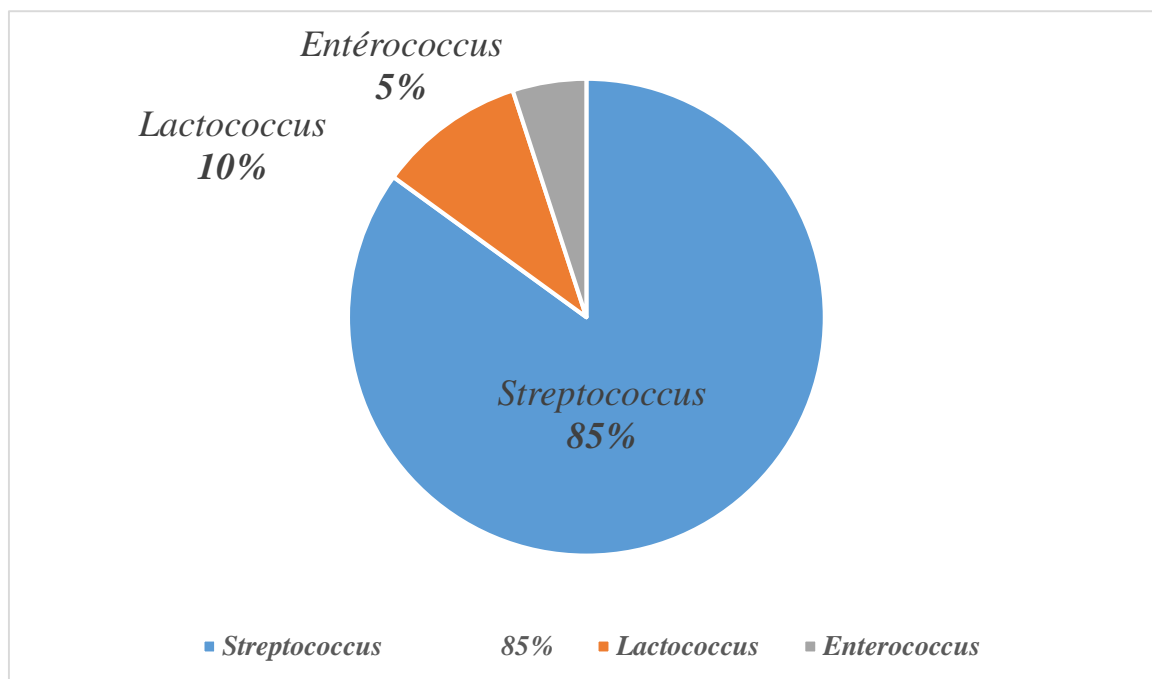


Figure 32 : Secteurs de répartition des genres des bactéries lactiques

III-2- Discussion générale

Les analyses morphologiques, physiologiques et biochimiques ont mis en exergue toute la diversité de la flore lactique en genres et en espèces isolées à partir des laits de vache crus en trois stades de lactations.

Les résultats obtenus ont montré la dominance du genre *Streptococcus* dans les trois échantillons de laits prélevés selon le stade de lactation. Cependant, une seule souche à un grand intérêt technologique et nutritionnel a été isolée dans le lait du troisième stade de lactation ; il s'agit de *Streptococcus thermophilus*. D'après **Stiles et Holzapfel (1997)** cette espèce s'avère être la seule à utiliser en technologie alimentaire. Elle est connue par son caractère non pathogène, son habitat (lait et produits laitiers) et sa résistance à la haute température. Le nombre réduit des hydrates de carbone sert à différencier les *streptococcus thermophilus* de la majorité des autres streptocoques (**Pilet et al., 2005**).

Par ailleurs, 10 souches de *Streptococcus bovis* ont été identifiées dans les différents échantillons de laits étudiés. Cette espèce est considérée comme bactéries pathogènes opportunistes pour l'homme et l'animal. À la lumière des études menées par **Wilson et al., (1981)** et **Gupta et al., (2010)** l'espèce *Streptococcus bovis* a un impact important sur la santé humaine. En effet, 25 à 80% des patients atteints de bactériémie à *Streptococcus bovis* ont des tumeurs colorectales, l'incidence de l'association de la néoplasie colique à l'endocardite à *Streptococcus bovis* s'est avérée être de 18 à 62% . Selon **Murray et al., (2007)**, 94% des bactériémies à *Streptococcus bovis* associées au cancer colorectal étaient du biotype I de *Streptococcus bovis* contre seulement 18% du biotype II. Une nouvelle espèce qui ressemble à *Streptococcus bovis* a été détectée, nommée *Streptococcus gallolyticus* (**Osawa et al., 1995**).

De plus, 06 souche de *Streptococcus mutans* ont été identifiés dans les laits du premier et du troisième stade de lactation. Selon **Mitchell (2003)**; **Banas (2004)** et **Kuramitsu (2006)**, Cette espèce retrouvée en grand nombre sur les dents joue un rôle prédominant dans la formation des caries dentaires et est associée aux endocardites et autres infections du cœur.

Il importe de signaler que la présence des *Lactococcus* (*Lactococcus lactis subsp lactis biovar diacetylactis*) n'a été remarquée que dans le lait du deuxième stade de lactation. Selon (**Novel, 1993**) les lactocoques sont fréquemment présents dans le lait et les produits laitiers. L'espèce *Lactococcus lactis* est une bactérie qui favorise le développement de la qualité organoleptique ainsi que la conservation des produits laitiers fermentés notamment les fromages. De plus, elle est capable d'acidifier le milieu grâce à son caractère homofermentaire ce qui permet la formation du caillé et de la matrice fromagère. Ainsi, *Lactococcus lactis* sert à préserver les aliments, par son pouvoir d'acidification du milieu d'une part et par la sécrétion de composés antimicrobiens tels que les bactériocines (**Breukink, et al. 1999**). Ces deux caractères lui permettent d'inhiber la croissance de micro-organismes indésirables (**Kuipers, et al. 2000**) comme *Listeria monocytogenes* (**Garcia-Almendárez, et al. 2008**). Par ailleurs, **Nehal (2007)** a isolé l'espèce *Lactococcus lactis subsp lactis* à partir de lait de vache durant trois saisons (hiver, printemps et été). Ce genre de bactéries lactiques provient principalement des produits végétaux. De plus, la présence de fourrage dans les litières semble être une source d'ensemencement en bactéries lactiques (**Bouton et al., 2005**), ainsi, le contact continu des vaches avec les litières sert à favoriser l'ensemencement des laits en bactéries lactiques notamment en *Lactococcus lactis*.

En outre, le genre *Enterococcus* n'a été identifié que dans le lait du premier stade de lactation. (Soit une seule souche parmi les 20 isolats). Nos résultats sont inférieurs à ceux

rapportés par **Bakhouche et al., (2005)** qui ont pu isolé seulement deux souches. D'après **Tormo (2010)**, les entérocoques s'implantent dans les élevages suite à une faible température de nettoyage de la machine à traire. Plus la température de nettoyage des machines est inférieure à 40°C, plus la présence des entérocoques est importante dans les laits obtenus. Par ailleurs, les espèces d'*Enterococcus faecalis* et d'*Enterococcus faecium* sont retrouvés dans le cas où le trayeur ne lave pas ces mains convenablement. Il importe de noter que les entérocoques sont des hôtes normaux des animaux à sang chaud, insectes et plantes (**Facklam et al., 2002**).

Une absence totale de *Leuconostoc* et de *Pediococcus* a été noté, ces résultats sont en accord avec ceux de (**Hichener et al, 1982**) qui ont indiqué que ces deux genres sont rarement retrouvées dominant dans la flore lactique. Selon (**Devoyod et Poullain, 1988**) les *Leuconostocs* se multiplient suite à la libération de nutriments à partir des tissus végétaux abîmés ou en pourriture.

Enfin, d'après **Saidi et al (2002)**, les espèces de bactéries lactiques retrouvés dans le lait cru dépendent principalement de sa nature en point de vue nutritionnelles en rapport avec les exigences des bactéries lactiques.

Chapitre 3

Effet du stade de lactation sur les
qualités physico-chimiques,
microbiologiques et nutritionnelles des
camemberts fabriqués à partir du lait du
départ

I- Objectif

Cette dernière partie de thèse consiste à fabriquer des fromages expérimentaux à pâte molle de type camembert, issus des laits de vache obtenus des différents stades de lactation, tout en effectuant des évaluations sur le plan nutritionnel, en particulier sur les profils d'acides gras, ainsi que des évaluations d'ordre microbiologique (sanitaire).

II-Matériels et méthodes

II-1-Echantillonnage

Cette partie été abordée dans le chapitre 1 de la partie expérimentale.

II-2- Fabrication artisanale des Camemberts expérimentaux

Les camemberts expérimentaux ont été fabriqués à l'échelle de laboratoire. Pour chacun des stades de lactation, 15 litres de lait ont été utilisés pour la fabrication de 10 Camemberts. Les différents laits ont subi un chauffage à 38 °C (10min) accompagné de l'inoculation d'un ferment lactique thermophile pur constitué de *Streptococcus thermophilus* (Danisco-Danemark) et mésophiles mixtes composés de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc* (Chr. Hansen GmbH), *Penicillium candidum* (Sacco, Italie). Simultanément, 5 ml/100kg de lait d'une solution de CaCl₂. Les laits inoculés ont subi une maturation pendant 1heure à 34°C par l'ajout de la présure diluée (SACCO, Italy). Cette étape d'acidification-coagulation permet l'obtention d'un caillé ou gel. Ce dernier subi un soutirage de lactosérum à raison de 50-70 % suivi d'un moulage et un égouttage pendant 24 h à 18 °C dans des moules en plastique cylindriques perforés (90 x 120 x 30 mm). Au cours du moulage, les différents caillés obtenus ont subi un double retournement, suivi de démoulage, puis de salage manuel à sec (1.5g de NaCl par 100g de Camembert). Enfin, les pré-fromages ont été maturés à 16°C (humidité relative de 85%) pendant 7 jours constituant l'étape d'affinage, puis stockés au réfrigérateur à 4°C.

II-3- Analyses physico-chimique du Camembert

II-3-1- Mesure de pH et son évaluation au cours de l'affinage

Le pH a été mesuré selon la méthode mentionnée par **Quasem et al., (2009)**. Un échantillon de 2 grammes de fromage (surface + cœur du produit) est dilué dans 10 ml d'eau distillée. Le pH est déterminé par l'immersion de l'électrode du pH-mètre dans le mélange.

Un suivi de pH a été assurée durant les 14 jours d'affinage, à raison de 3 prise de pH par semaine (Jour 1, Jour 3, Jour 7, Jour 9, Jour 11, Jour 14).



II-3-2- Détermination de l'extrait sec total et l'extrait sec dégraissé (EST et ESD) : (AFNOR, 1986)

L'extrait sec total a été déterminé à l'aide d'un dessiccateur. Le principe consiste à sécher 3 grammes d'échantillon de Camembert à 103°C pendant 3 heures. Le pourcentage d'humidité ou de solide est calculé par la différence entre le poids humide initial et le poids sec final. L'extrait sec dégraissé (ESD) est déterminé suite à la différence entre l'extrait sec total (EST) et la matière grasse (MG).

II-3-3- Détermination de la teneur en protéines

La détermination de la teneur en protéines contenues dans les différents échantillons de Camemberts a fait appel à la méthode de **Kjeldhal, (1883) (Figure 36)**. Elle s'effectue en trois étapes :



Figure 36 : Minéralisateur Kjeldhal (DKL series VELP Scientifica)

Étape 1 : Digestion ou minéralisation de l'échantillon (1 g dans notre cas)

Pendant l'étape de la digestion, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique H_2SO_4 concentré à haute température, en présence d'un catalyseur (Sélénium), sachant que l'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et de transformer l'azote protéique en ammoniac NH_3 . Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d'ammonium NH_3SO_4 , par action de la base avec l'acide, alors que l'addition du Sélénium a pour but d'élever le point d'ébullition de la solution pour accélérer la réaction de minéralisation de la matière organique.

Étape 2 : Distillation de l'ammoniac

Avant de distiller l'ammoniac (NH_3) à la vapeur d'eau, on doit libérer l'ammoniac sous la forme d'un sel $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ par l'addition d'une solution concentrée de NaOH en excès. L'ammoniac est ensuite distillé par la vapeur d'eau et piégé dans une solution d'acide borique pour former des sels borates d'ammonium.

Étape 3 : Titration de l'ammoniac :

L'ammoniac sous la forme de borates d'ammonium est titré directement à l'aide d'une solution standardisée d'acide sulfurique (H_2SO_4 : 0,1 N) en présence d'un indicateur coloré (indicateur de Tashiro).

On prépare un blanc en mettant tous les réactifs sauf l'échantillon, pour soustraire l'ammoniac contenu dans les réactifs de l'ammoniac contenu dans l'échantillon.

Calcul du % de protéines dans l'échantillon :

Le % de protéines dans l'échantillon est obtenu en multipliant le % d'azote total par un facteur « F » dépendant du type d'aliment analysé (6,38 dans notre cas, car il s'agit de produits laitiers).

$$\% \text{ N} = 0,0014 \times (V_1 - V_0) \times 100/m$$

$$\% \text{ PB} = \% \text{ N} \times 6,25.$$

V_0 : volume en millilitres de solution d'acide sulfurique utilisé pour l'essai à blanc.

V_1 : volume en millilitres de solution d'acide sulfurique utilisé pour la détermination.

M : masse en grammes de la prise d'essai.

II-3-4- Détermination de la matière grasse :

II-3-4-1- Dosage des lipides totaux (M.G) (Méthode de *Folch et al*, 1957)

À partir de chacun des prélèvements de Camemberts, les lipides totaux ont été extraits par la méthode de **Folch et al.**, (1957) ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant chloroforme / méthanol (2/1 ; v/v). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0,58 % permet la séparation des phases. La phase supérieure constituée de méthanol-eau, contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel, tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure chloroforme-lipide. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant permet de calculer la teneur en lipide exprimée en g par 100 g d'échantillon, en faisant appel à la formule suivante :

$$\text{MG} = (\text{P}_2 - \text{P}_1) / \text{pe} \times 100$$

P2 : poids du ballon contenant les lipides.

P1 : poids du ballon vide.

Pe : prise d'essai.

Dans la perspective de déterminer le profil des acides gras (AG) par CPG, les lipides sont recueillis dans des piluliers et conservés à -18 °C afin d'inhiber l'oxydation des acides gras insaturés (AGI).

II-3-4-2- Composition en acides gras

Les extraits lipidiques sont préalablement saponifiés à l'aide de KOH (0,5 N) puis méthylés par un mélange de méthanol-n-hexane selon la méthode de **Nasopoulou et al., (2012)**.

Les esters méthyliques des acides gras sont ensuite séparés, quantifiés et analysés par chromatographie en phase gazeuse (Chromatographe : Shimadzu CLASS VP (GC-17A. Kyoto, Japan) sur colonne capillaire de 60 cm de longueur et de 0,25 mm de diamètre (Agilent, Santa Clara California, USA). Les conditions opératoires de chromatographie en phase gazeuse sont les suivantes:

- a) Injecteur et détecteur de température (220 °C et 225 °C) respectivement.
- b) La température de four a été programmée pour augmenter de 45 °C à 240 °C (à raison de 20 °C à 35 °C/minute).

Des aliquotes de 1 µl étaient injectées avec de la silicone phénylique de bicyanopropil en tant que phase stationnaire et l'hydrogène a été employé comme gaz vecteur. Les pics des acides gras étaient identifiés par comparaison avec le temps de rétention du méthyle et la quantification des acides gras a été faite par une référence à un étalon interne (C17 :0).

II-4- Analyses microbiologiques du Camembert

II-4-1-Dénombrement des germes totaux

La flore mésophile, (également désignée : germes aérobies totaux) est l'ensemble des germes aptes à se multiplier à l'air libre avec une croissance optimale à 30°C (**Leclerc et Mossel, 1989**). Après incubation pendant 72 heures à cette température, les micro-organismes aérobies et anaérobies facultatifs, se développent sur un milieu nutritif non sélectif (gélose nutritive) et apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes.

II-4-2- Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

➤ Dénombrement des coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB). Nous avons utilisé le milieu VRBG avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 h (**J.O.R.A. N° 35. 1998**).

➤ **Dénombrement des coliformes fécaux**

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBG après 48 h d'incubation à 44°C. Un ensemencement a été effectué sur deux tubes du milieu liquide (BLBVB), chacun par 1ml de chaque dilution. L'incubation des tubes était à 44°C pendant 48 h (test présomptif). Le test positif est traduit par l'apparition des coliformes en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé de 5mm de diamètre et fluorescentes (**J.O.R.A. N° 35. 1998**).

II-4-3- Recherche des *Staphylocoques aureus*

Le dénombrement est effectué sur milieu Chapman par étalement en surface de 0,1 ml de chaque dilution. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h (**J.O.R.A. N° 35. 1998**).

II-4-4-Recherche des Salmonelles

Du fait de leur rareté et de l'endommagement des cellules, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un pré-enrichissement sur eau peptonée tamponée, puis un enrichissement des cellules sur bouillon au sélénite de sodium cystine. Un isolement est effectué par la suite sur milieu SS (**J.O.R.A. N° 35. 1998**). (Voir Annexes)

II-4-5- Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Pour les spores de *Clostridium sulfo-réducteurs*, aucune croissance n'a été observée sur le milieu Viande-foie additionnée d'Alun de fer et de sulfite de sodium, même après leur activation par le traitement thermique à 80°C pendant 10 min. Les tubes contenant une quantité de la dilution mère additionnée du milieu V-F préparé, ne révèlent aucune spore de *Clostridium sulfito-réducteurs* dans les tubes 10^{-1} , 10^{-2} (**J.O.R.A. N° 35. 1998**).

II-5- Traitement statistique

Les résultats obtenus ont fait appel à une analyse de variance ainsi qu'une comparaison des moyennes en adaptant le test de Duncan (**IBM SPSS software® version 20**).

III Résultats et discussion

III-1- Physico-chimie du Camembert

Le **Tableau 16** met en évidence les valeurs de la matière grasse, d'extrait sec dégraissé, d'extrait sec totale, des protéines exprimées en pourcentages

Tableau 16 : Résultats des analyses physico-chimiques des différents Camemberts selon les 3 stades de lactation

Stade de lactation	1 ^{er} SL	2 ^{eme} SL	3 ^{eme} SL	signification
E.S.D (g/100g)	41.13 ± 1,71 a	26 ± 0,013 b	26.93 ± 0,10 b	*
E.S.T (g/100g)	64.13 ± 0.18 a	41.66 ± 0,15 b	41.59 ± 0,92 b	*
Protéine (g/100g)	19.25 ± 0.82 a	20.04 ± 0,44 a	17 ± 0,46 b	*
M.G (g/100g)	23 ± 0.79 a	15.66 ± 0,012 b	14.66 ± 1,24 c	*

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart type (n=3). Les différentes lettres affectées (a, b, c) et le symbole (*) indiquent un effet significatif du site de capture (P<0,05).

III-1-1- Extrait sec total et dégraissé

Le contenu en matière sèche des différents échantillons de camemberts étudiés apparaît dans des proportions variables (P < 0,05) (**Tableau 16**) avec des teneurs allant de 41.59 g.100g⁻¹ à 64.13 g.100g⁻¹, présentant ainsi une différence estimée à 35 % entre le camembert issu du lait du 3^{eme} stade de lactation et celui du premier stade de lactation. Il est établi que plus la quantité de lactosérum exsudée est importante, plus l'EST est élevé (**ECK, 1987**). Toutefois, une étude menée par **Dasen et Grappin (1983)** sur la détermination rapide de l'extrait sec de plusieurs types de fromages à l'aide d'un four à micro-ondes a mis en exergue des teneurs variables en EST allant de 19,9 g.100g⁻¹ dans le fromage frais, 47.8 g.100g⁻¹ dans le fromage à pâte molle, 57,4 g.100g⁻¹ dans la Raclette à 61,7 g.100g⁻¹ dans le comté.

Selon **Alais 1975**, le taux de l'extrait sec varie d'un type de fromage à un autre, dans de larges limites, et dépend d'une part de la composition initiale du lait et d'autre part de la manière dont sont effectués la coagulation et l'égouttage.

L'étude statistique par analyse de variance a révélé un effet significatif du stade de lactation sur le paramètre d'extrait sec dégraissé (P < 0,05). Notons aussi que la teneur en extrait sec dégraissé dans le camembert issu du lait du premier stade de lactation (41,13 g.100g⁻¹) reste

supérieure à celle des camemberts issus du lait du deuxième et troisième stade de lactation avec des différences de l'ordre de 36.5 % et 34.5 % respectivement. Les résultats obtenus s'avèrent inférieurs à ceux rapportés par **Martin et Coulon (1994)** qui ont enregistré des teneurs en extrait sec dégraissé dans les fromages affinés allant de 27,5 g.100g⁻¹ à 43,6 g.100g⁻¹. Selon **Remeuf et al., (1991)**, les gels les plus fermes ont une meilleure aptitude à l'égouttage permettant à avoir un extrait sec dégraissé plus élevé dans les fromages fabriqués.

III-1-2 Protéines

Les contenus protéiques des différents échantillons de camemberts laissent observer que le camembert du 2^{ème} stade de lactation présente le taux le plus élevé en protéines soit 20.04g.100g⁻¹ (P < 0,05), et ce comparativement aux camemberts du premier et du troisième stade de lactation avec des différences de l'ordre de 4 % et 15 % respectivement (**Tableau 16**).

Selon **Mietton, (1995)**, le Camembert renferme 30 à 50 % de matière azotée / matière sèche. Il s'inscrit ainsi parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée. De plus, la haute valeur biologique de ces protéines lui est conférée tant par sa composition équilibrée en acides aminés, que par sa propriété de former une pâte fromagère très appréciée par les consommateurs dans de nombreuses régions du monde.

La teneur en protéine dépend essentiellement du lait du départ. Toutefois, le stade de lactation a un effet significatif (P < 0,05) sur la teneur en protéine du lait (**Beever et al., 2001**). Après le vêlage, le taux protéique du lait est à son maximum, descend ensuite pour atteindre son minimum entre 5 et 6 semaines de lactation, puis va augmenter à nouveau graduellement à la fin de la lactation (**Beever et al., 2001**).

Selon **Murphy et O'Mara, (1993)** et **Kehoe et al., (2007)**, les premières traites après le vêlage, le taux protéique du lait est très élevé, en moyenne 14,9g dans le colostrum, principalement à cause de la présence d'immunoglobulines provenant du sang. Ensuite, la teneur diminue rapidement au cours des cinq premiers jours de lactation, puis plus lentement par la suite jusqu'à l'atteinte d'un minimum entre la cinquième et la dixième semaine après le vêlage (**Murphy et O'Mara, 1993**). Aussi, le Taux protéique du lait est généralement plus faible chez les vaches primipares que chez les multipares (**Brun-Lafleur et al., 2010**).

III-1-3- Matière grasse

III-1-3-1- Dosage des lipides totaux (M.G)

L'analyse de variance a révélé que le stade de lactation présente un effet significatif sur le taux de matière grasse ($p < 0,05$). Il en découle une teneur en MG plus élevée dans le camembert issu du lait du premier stade de lactation par rapport aux camemberts fabriqués à partir des laits du 2^{ème} et du 3^{ème} stade de lactation (23,0 % Vs 15,6 % Vs 14,6 %).

Selon **Mahaut et al., (2000)**, les concentrations en lipides des fromages dépendent essentiellement des teneurs en matières grasses des laits du départ provenant des trois stades de lactation distinctement soient 41.56, 33.13, 28.4 g/l respectivement. Nos résultats rejoignent ceux de **Walker et al, (2004)** qui ont montré que la teneur en matière grasse décline après le vêlage et atteint son minimum lorsque les vaches sont entre 40 et 60 jours post-partum, avec une légère augmentation journalière par la suite. Cette baisse peut être expliquée principalement par un effet de dilution, puisque la teneur en matière grasse évolue de façon inverse à la production de lait (**Coulon et al., 1991 ; Varga et Ishler, 2007**). Par ailleurs, **Aditya et al, (1997)** ont constaté que le lactosérum éliminé lors de la fabrication du cheddar engendre des pertes en gras allant de 6,1 % à 7,4 %. Ces pertes ont tendance à augmenter au fur à mesure que le stade de lactation progresse.

Globalement les résultats obtenus de nos essais corroborent ceux d'**Agatha et al., (2017)** qui ont révélé que la teneur en matière grasse des fromages à pâtes molles commerciaux disponibles sur le marché polonais varient de 13,07% à 33,81% pour les camemberts et de 25,53% à 36,0% pour les bries. Ces teneurs en gras varient beaucoup plus que celle des fromages italiens à maturation durs produits à partir du lait de vache (27,43-31,62 g / 100 g de produit) dosé par **Prandini et al. (2007)**, et encore plus élevées que dans les fromages grecs de type Feta (17,9-20,9 g / 100 g de produit) faits à partir du lait de brebis ou le lait de chèvre (**Zlatanov et al., 2002**). Selon **Agatha et al., (2017)**, les différences étaient toutefois dues à la technologie de production et au type de lait utilisé pour la fabrication du fromage.

III-1-3-2- Composition en acides gras

Le **Tableau 17** met en évidence les proportions de 19 acides gras extraits à partir des camemberts issus de lait de vache (Holstein) récolté selon les trois stades de lactations. Les compositions en acides gras des différents camemberts étudiés varient entre 6,48% et 12,55% pour les acides gras à courtes chaînes (AGCC), 38,1% à 52,93% pour les acides gras à longues chaînes (AGLC), 13,23%-23,59% pour les acides gras monoinsaturés (AGMI), 3,50%-5,02% pour les acides gras polyinsaturés (AGPI) et 0,5%-1,03% pour l'acide linoléique conjugué (CLA).

Tableau 17 : Teneur en matière grasse (MG, %) et profil en acides gras des camemberts fabriqués en selon le stade de lactation (Moyenne ; n=3).

Fats and Fatty acids (%)	Stages of lactation			signification
	SOL1	SOL2	SOL3	
Total lipids	23 a	15.6 b	14.6 b	*
C4:0	2.06 b	1.6 b	3.5 a	*
C6:0	1 b	1.06 b	2.36 a	*
C8:0	0.66 b	0.63 b	1.36 a	*
C10:0	1.2 b	1.43 b	2.6 a	*
C12:0	2.2 b	1.76 c	2.73 a	*
ΣSCSFA	7.12 a	6.48 b	12.55 c	*
C14:0	8.20 b	9.80 a	9.33 a	*
C16:0	24.2 b	23.3 b	27.7 a	*
C18:0	12.6 b	5.0 c	15.9 a	*
ΣLCSFA	45 a	38.1 b	52.93 c	*
<i>cis</i> -9 C14:1	0.53 a	0.30 b	0.63 a	*
<i>cis</i> -7 C 16:1	0.7 a	0.73 a	0.5 b	*
<i>cis</i> -9 C 16:1	0.20 a	0.20 a	0.16 a	NS
<i>cis</i> -9 C18:1	26.1 a	12 c	22.3 b	*
<i>trans</i> -9,12 C18:2	0 b	0.16 a	0 b	*
<i>cis</i> -9,12 C18:2 (LA)	2.53 a	2.26 b	2 b,c	*
<i>cis</i> -9,12,15 C18:3 (ALA)	0.6 a	0.33 b	0.3 b	*
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0.86 a	0.66 a	0.56 a	NS
Total CLA	1.03 a	0.7 b	0.5 b	*
C20:0	0.16 a	0.1 a	0.13 a	NS
C22:0	0.20 a	0.13 a	0.1 a	NS
C24:0	0.13 a	0 b	0 b	*
ΣSFA	52.61 b	51 c	66.0 a	*
ΣMUFA	27.53 b	44 a	30.5 c	*
ΣPUFA	5.02 a	4.8 a	3.5 b	*
Total (ω6)	4.0 a	4.03 a	2.83 b	*
Total (ω3)	0.73 a	0.7 a	0.26 b	*
ω6/ω3	5.03 c	5.66 b	9.26 a	*

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne. Les différentes lettres affectées (a, b, c) et le symbole (*) indiquent un effet significatif du site de capture (P<0,05). NS indique « effet non significatif » du paramètre étudié.

Les acides gras les plus dominants sont représentés par l'acide butyrique et l'acide laurique pour les AGCC (C4 : 0, 1,6-3,5% ; C12 : 0, 1,76-2,73%), l'acide palmitique pour les AGLC (C16: 0, 23,3-27,7%), l'acide oléique pour les AGMI (C18: 1 ω -9 cis, 12-26,1%), l'acide linoléique et l'acide α -linoléique pour les AGPI (C18: 2 Cis 9,12 (-6), 2-2,53%; C18: 3 Cis 9,12,15 (3), 0,3-0,6%) et de l'acide ruménique pour le CLA (C18: 2 cis-9, trans-11, 0,56-0,86%). Il est à noter que les niveaux de ces acides gras changent significativement entre les différents fromages de type camembert expérimentaux ($p < 0,05$).

Les acides gras saturés à courtes et longues chaînes (AGCC, AGLC), représentent 3,13-5,30% pour l'acide butyrique (C4: 0), 3,45 à 4,13% pour l'acide laurique (C12: 0), 42-45,68% pour l'acide palmitique (C16: 0) et 9,8-24,1% pour l'acide stéarique (C18: 0) du total des acides gras saturés (TAGS). De plus, l'acide butyrique (C4: 0) et l'acide palmitique (C16: 0) prédominent les deux groupes d'acides gras à courtes et longues chaînes, en particulier dans le camembert du 3^{ème} stade de lactation, avec des proportions de l'ordre de 3,5% et 27,7% respectivement. Des résultats similaires ont été présentés par **Esposito et al., (2013)** pour le fromage italien Caciocavallo (2,92% pour C4: 0 et 29,43% pour C16: 0). Cependant, le pourcentage d'acide butyrique noté par **Coakley et al., (2006)** dans le fromage Irlandais (1,45%) était inférieur à nos résultats, contrairement à la teneur en acide palmitique qui s'avère plus élevée (32,83%). L'acide butyrique présente un effet bénéfique sur l'appareil digestif de l'homme (**Mills et al., 2011; Canani et al., 2012**) et sur les propriétés anti-cancérigènes (**Emanuele et al., 2004**). L'acide palmitique (C16: 0) était prédominant dans le groupe des AGLC avec une valeur maximale dans le camembert du 3^{ème} stade de lactation (27,7%).

Concernant les acides gras monoinsaturés, l'acide oléique (18: 1 cis ω -9, 12-29.1%) était le plus prépondérant du total des AGMI, en particulier chez les camembert des 1^{er} et 3^{ème} stade de lactation (76,53% et 73,11% du total des AGMI). Cette valeur était conforme à celles déterminées dans le fromage de type camembert polonais (**Agata et al., 2017**) et dans le fromage italien Caciocavallo (**Esposito et al., 2013**).

Pour ce qui est des AGPI totaux, la teneur la plus élevée était pour le Camembert issu du lait du 1^{er} stade de lactation (5,53%). Les résultats de ce paramètre sont supérieurs à ceux trouvés par **Agata et al. (2017)** et **Ots et al. (2007)**, avec des teneurs totales en AGPI de 2,98% et 4,65% pour le camembert polonais et le fromage de type Edam d'Estonie, respectivement.

Concernant les CLA, l'acide linoléique (C18: 2 Cis 9, 12) et l'acide α -linoléique (C18: 3 Cis 9, 12, 15) ont été retrouvés dans des proportions élevées dans tous les camembert fabriqués. Selon **Innis (2004)**, les AGPI sont considérés comme essentiels et fondamentaux pour la

nutrition humaine. Dans l'alimentation humaine, l'acide linoléique (C18: 2 Cis 9, 12) est l'acide gras le plus essentiel de la série $\omega 6$ dont la valeur la plus élevée a été détectée chez le camembert du premier stade de lactation (2,53%). Par rapport à d'autres résultats, des concentrations plus faibles d'acide linoléique ont été trouvées dans différents types de fromage de type camembert polonais (1,56%) (Agata et al., 2017) et dans du fromage fondu égyptien (0,46%) (Tarek et al., 2015). En ce qui concerne les acides gras de la famille $\omega 3$, la teneur la plus élevée en acide α -linoléique (C18: 3 Cis 9, 12, 15) a été attribuée au camembert du 1^{er} stade de lactation (0,6%). Un résultat similaire concernant la concentration en acide α -linoléique a été signalé dans le fromage italien Caciocavallo avec une valeur de 0,67% (Esposito et al., 2013).

À propos des isomères du CLA (C18: 2), l'isomère principal est l'acide ruménique (C18: 2 cis-9, trans-11) avec une participation allant de 75% à 90% du total des formes isomères (Collomb et al., 2006; Mills et al., 2011). Dans cette étude, les concentrations les plus élevées de cet acide gras ont été obtenues pour le camembert des 1^{er} et 2^{ème} stade de lactation (0,86% Vs 0,66%). Selon les travaux de Bisig et al. (2007) et Prandini et al. (2011), les paramètres intervenant dans le processus de fabrication du fromage, tels que la température, les ferments et l'affinage, semblent n'avoir aucun effet sur les valeurs d'ALC du fromage. Les teneurs en acide ruménique obtenues pour le Camembert de 1^{er} SL (0,86%) étaient supérieures à celles obtenues par Pajor et al. (2013) (0,78%), cependant, les concentrations de CLA des 2^{ème} et 3^{ème} SL (0,66% et 0,55%) étaient inférieures à celles du même auteur. Dans un autre contexte et selon la littérature, le contenu de CLA dépend des saisons. Le lait récolté de la saison hivernale reste moins riche en CLA que celui de l'été car les vaches n'ont pas accès à l'herbe riche en acides linoléique et α -linoléique, impliquée dans la synthèse de CLA (Collomb et al., 2008; Rutkowska et al., 2012).

Enfin le rapport $\omega 6 / \omega 3$ a enregistré une variation de 5,03 pour le camembert du 1^{er} stade de lactation à 9,26 pour le camembert du 3^{ème} stade de lactation et montrait des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différents fromages de type camembert de cette étude. Enfin, le rapport $\omega 6 / \omega 3$ variait de 5,03 à 9,26 et montrait des différences significatives ($p < 0,05$) entre tous les camembert fabriqués (1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stade de lactation). Nos résultats s'avèrent supérieures à ceux obtenues par Agata et al. (2017) pour le camembert polonais (0,79-1,88) et le brie (1,03-1,28) et dépasse les valeurs recommandées pour la nutrition humaine.

III-1-4- Évolution du pH

Le **Tableau 18** illustre les valeurs de pH durant la période de l'affinage (14 jour).

Tableau 18 : Évolution du pH durant la période de l’affinage des différents échantillons de camemberts étudiés (14 jours)

	pH (1 ^{er} SL)	pH (2 ^{ème} SL)	pH (3 ^{ème} SL)	Signification
J1	6.22±0,042 a	6,16±0,15 a	6.53±0,31 a	NS
J3	4,33±0,02 a	4,16±0,13 a	4,44±0,08 a	NS
J6	4,54±0,05 a	4,98±0,15 b	4,6±0,26 a	*
J9	4,79±0,005 a	5,05±0,18 b	5,53±0,20 c	*
J11	5,21±0,22 a	5,73±0,15 b	6,23±0,15 c	*
J14	6,82±0,01 a	6,50±0,10 a	6,53±0,05 a	NS

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart type (n=3). Les différentes lettres affectées (a, b, c) et le symbole (*) indiquent un effet significatif du site de capture (P<0,05). NS indique « effet non significatif » du paramètre étudié.

Le pH des différents fromages étudiés a connu des évolutions dès le début de la maturation jusqu’au produit fini avec des chiffres allant de 6,16 à 6,53 pendant la maturation du lait, pour baisser ensuite au début de l’affinage dans le fromage issu du lait du premier, du deuxième et du troisième stade de lactation (4,33 Vs 4,16 Vs 4,44).

Il est à noter que les bactéries lactiques constituent durant l’affinage la flore dominante et tirent leurs origines principales de la cultureensemencée au début de la fabrication. Ces bactéries ont la capacité de faire baisser le pH par la production d’acide lactique aux dépens du lactose et peuvent contribuer également au caractère organoleptique des fromages au cours de la maturation. **(Dortu et Thonart, 2009).**

Une augmentation progressive du pH a été marquée dès le début d’affinage jusqu’au produit fini dans les différents échantillons étudiés. Allant de 4,33 à 6,82 pour le camembert issu du lait du 1^{er} stade de lactation, de 4,16 à 6,5 pour le camembert fabriqué à partir du lait du 2^{ème} stade de lactation et de 4,44 à 6,53 dans le camembert issu du lait du 3^{ème} stade de lactation. Cette augmentation du pH est liée principalement à l’action des *Penicillium Camemberti* sur la désacidification du caillé et cela par l’utilisation de l’acide lactique et les lactates comme sources de carbone. Ce qui induit à la neutralisation des pâtes fromagères **(Jutta Cerning et al., 1987).**

Par ailleurs, le pH du produit fini issu du lait de début de lactation s'avère plus élevé par rapport à ceux enregistrés dans les deux autres produits finis. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **ECK (1987)** avec des valeurs comprises entre 6,5-6,8 (9 à 12 jours après affinage) et **Karoui et al., (2007)** qui ont enregistrés des valeurs comprises entre 6,29 et 7,18 du pH dans le fromage Emmental. Cependant, **Mourgues et al. (1977)** ont noté une valeur de 4,6 pour un fromage à pâte molle affiné pendant 10 jours à 12°C. Selon les mêmes auteurs, ce pH bas est dû à la contamination du produit par des coliformes.

III-2- Microbiologie du camembert

III-2-1- Estimation de la qualité sanitaire des camemberts expérimentaux

Le **Tableau 19** illustre la recherche des bactéries pathogènes et d'altérations dans les différents échantillons de Camemberts étudiés exprimées en UFC /g

Tableau 19 : Recherche des bactéries pathogènes et d'altérations dans les différents échantillons de Camemberts étudiés exprimées en UFC /g

	1 ^{er} SL	2 ^{ème} SL	3 ^{ème} SL	Normes (UFC/g)
Flore aérobie mésophile totale	11. 10 ³	9.10 ³	7.10 ³	<10 ⁶
Coliformes fécaux	0,8.10 ²	10 ²	0,5.10 ²	10 ²
Coliformes totaux	2.10 ²	3.10 ²	1,5.10 ²	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	10 ²
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Abs	Abs	Abs	1
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs

III-2-1-1- Flore aérobies mésophile totale

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale des échantillons du camembert a révélé des valeurs de l'ordre de 11. 10³ UFC/g dans le Camembert du 1^{er} SL, de 9.10³ UFC/g dans le camembert du 2^{ème} SL et de 7.10³ UFC/g dans le Camembert du 3^{ème} SL. Ces résultats sont inférieurs à la norme exigée par le journal officiel Algérien qui est de l'ordre de 10⁶ UFC/g.

III-2-1-2- Coliformes totaux

La charge microbienne en coliformes totaux dans les différents échantillons de camemberts fabriqués était de l'ordre de 2.10^2 UFC/g dans le Camembert du 1^{er} SL, de 3.10^2 UFC/g dans le Camembert du 2^{ème} SL, et de $1,5.10^2$ UFC/g dans le camembert du 3^{ème} SL. Ces seuils de contaminations en coliformes totaux dépassent la norme exigée par le journal officiel Algérien qui est à 10^2 UFC/g. Ces valeurs élevées sont expliquées par la contamination du lait du départ (mammites qui provoque la contamination des trayons) (**Magnusson et al., 2007 ; Aggad et al., 2010**). En effet, au cours de l'affinage le pH remonte sous l'action du *Penicellium camemberti*. Cela contribue à la multiplication des coliformes pouvant atteindre des charges microbiennes élevées (**Mourgues et al., 1977; Bourgeois et al., 1991**).

III-2-1-3 Coliformes fécaux

Les résultats enregistrés lors du dénombrement des coliformes fécaux dans les différents échantillons de Camemberts étudiés répondent aux normes recommandées par le journal officiel Algérien. Les valeurs obtenues étaient de l'ordre de $0,8.10^2$ UFC/g dans le Camembert du 1^{er} SL, de 10^2 UFC/g dans le Camembert du 2^{ème} SL et de $0,5.10^2$ UFC/g dans le Camembert du 3^{ème} SL.

Selon **Larpent, (1990)**, une présence des coliformes n'est pas obligatoirement signe d'une contamination fécale directe. En effet, certains coliformes sont présents dans les résidus humides habituellement rencontrés dans les différents équipements de la traite.

II-2-1-4 Staphylococcus aureus

Une absence totale de ces germes dans les tous les échantillons de Camembert a été marquée. Ce résultat est conforme aux normes du journal officiel Algérien.

II-2-1-5 Salmonelles

Le journal officiel Algérien exige une absence totale des salmonelles dans les fromages à pâtes molle de type Camembert. Nos résultats dans les différents échantillons de Camemberts sont conformes aux normes Algériennes.

II-2-1-6 Clostridium sulfito-réductrices à 44°C

Le dénombrement de ce germe dans les différents échantillons de Camemberts étudiés a révélé une absence totale dans tous les fromages étudiés. Les résultats obtenus répondent aux normes algériennes fixée à 1 UFC/ml.

III-2-2- Suivi des bactéries lactique

Le **Tableau 20** met en exergue l'évolution de la croissance des bactéries lactiques dans les différents échantillons de Camembert fabriqués durant les trois semaines d'affinage (sur milieu MRS et M17)

La charge microbienne des bactéries lactiques dans le camembert issu du lait du 3^{ème} SL est plus importante par rapport à celle enregistrée dans les échantillons de Camemberts du 2^{ème} et du 3^{ème} SL. (**Tableau 20**). Cependant, le nombre des bactéries lactiques recherchés dans le milieu M17 est supérieur à celui relevé dans le milieu MRS dans tous les échantillons de Camemberts étudiés. Cela indique une dominance des genres *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Entérocooccus* par rapport aux lactobacilles.

Tableau 20 : Évolution de la croissance des bactéries lactiques dans les camemberts des trois stades de lactation au cours de l'affinage

Temps d'affinage	1 ^{ère} semaine		2 ^{ème} semaine		3 ^{ème} semaine	
	MRS	M17	MRS	M17	MRS	M17
1 ^{er} SOL (UFC/g)	14.10 ⁴	15.10 ⁴	9.10 ⁴	11.10 ⁴	7.10 ⁴	9.10 ⁴
2 ^{ème} SOL (UFC/g)	10.10 ⁶	96.10 ⁵	4.10 ⁶	57.10 ⁵	8.10 ⁵	9.10 ⁵
3 ^{ème} SOL (UFC/g)	20.10 ⁶	42.10 ⁶	17.10 ⁶	31.10 ⁶	14.10 ⁶	17.10 ⁶

Au début de l'affinage, les bactéries lactiquesensemencées dans le lait du début de la fabrication représentent la flore dominante. Ces dernières ont la capacité de faire baisser le pH par la production d'acide lactique à partir du lactose du lait. (**Dortu et Thonart, 2009**)

Par ailleurs, la charge microbienne recherchés dans les milieux MRS et M17 a connu une diminution progressive au cours de l'affinage. Cela peut être expliquée par l'augmentation du pH causé par l'action des *Penicellium Camemberti* sur la désacidification du caillé suite à l'utilisation de l'acide lactique et les lactates comme sources de carbone (**Jutta Cerning et al., 1987**) d'une part et par la baisse de l'activité de l'eau (aw) d'autre part.

Selon **Cogan (2003)**, les bactéries lactiques homofermentaires sont les plus importantes, les espèces lactiques mésophiles tel que *Lactococcus lactis* sont les premières à se développer.

Elles servent principalement à l'acidification du lait, créant ainsi un milieu défavorable au développement des germes indésirables. Toutefois, les lactobacilles participent au développement de l'arôme et à l'hydrolyse des protéines du caillé. Les microorganismes responsables de l'affinage du fromage proviennent des ferments utilisés lors de la fabrication, ou bien ils sont présents naturellement dans le lait de départ.

Il est à noter, que les ferments utilisés pour la fabrication de fromage comprennent principalement les genres de bactéries lactiques *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus* (**Beresford et al. 2001**). Lors de la maturation du lait, la croissance des bactéries du ferment (flore primaire) est principalement responsable de l'acidification du lait en métabolisant le lactose en acide lactique (lactate). Cette flore est ensuite relayée par les bactéries lactiques de la flore secondaire participant activement à l'affinage du fromage. De plus, cette flore est constituée principalement par des lactobacilles hétérofermentaires facultatives, dont *Lactobacillus casei* et Lb. (**Cogan, 2003**).

Références bibliographiques

Références bibliographique

- **Abdoune O, (2003).** Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie Draa ben khedda: nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage . Mémoire de magister en science alimentaire, Constantine, 88 pages.
- **Adamska A., Domenichini A., Falasca M, (2017).** Pancreatic ductal adenocarcinoma : current and evolving therapies. *Int.J.Mol.Sci.* 18(7). 1338.

- **Adda J., Gripon J.C., Vassal L, (1982).** The chemistry of flavor and texture generation in cheese. *Food Chem.* 9:115–129.
- **Adrian J., Regine F., (2003).** La science alimentaire de A à Z. *Tec &Doc lavoisier*, Paris 3ème édition. 579p.
- **Adrian J., Potus J. et Frangne R, (2004).** La science alimentaire de A à Z ,2ème édition, *Tec et Doc, Lavoisier* : 79 (477 p).
- **Afif A., Faid M., Chigr F., Najimi M, (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Rev. Biol. Biotechnol.* 7 : 2-7.
- **AFNOR, Association Française de Normalisation AFNOR. (1986).** Contrôle de la qualité des produits laitiers.3è^{me} édition. Informations Techniques des Services Veterinaires, Paris.
- **Agabriel C., Coulon J B., Bmnschwig G., Sibra C., Nafidi C, (1995).** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. *Inra Prod Anim.* 8 : 251-258.
- **Agabriel G., Coulon J.B., Marty G., Cheneau N, (1990).** Facteurs de variation du taux protéique du lait de vache . Etude dans des exploitations du puy-de-Dôme. *INRA Prod,Anim.* 3(3), 137-150.
- **Agata A., Ewa R., Jaroslawa R., Agata A, (2017).** Fatty acid profile of commercial Camembert- and Brie-type cheeses available on the Polish market. *CyTA – Journal of Food* . 15(4): 639 645.
- **Aggad H., Bridja M., Aek B., Benaouali M., Djebli A, (2010).** Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. *World J. Dairy Food Sci.* 5: 21-24.
- **Aguilar J., Motato Y., Escriba MJ., Ojeda M, Munoz E., Meseguer M, (2014).**The human first cell cycle: impact on implantation. *Reprod Biomed Online.* 28:475 –484.
- **Akhtar M., Ashfaque M., Hussain I., Kashifa K, (2001).** Bacteriological studies on rawmilk supplied to Faisalabad city during summer months. *Pakistan Vet. J.* 21, 2. pp: 77-80.
- **Alais C, (1975).** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Ed.Sepaic, PARIS-F7
- **Alais C, (1984).** Science du lait, Principe des techniques laitiers.Ed SEPAIC paris, 4ème édition, 813p.
- **Alais C., Linden G. (1993).** Biochimie alimentaire. Masson, 2éme édition. Paris.
- **Amatayakul T., Halmos A L., Sherkat F., Shah NP, (2006).** Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal.* Vol. 16, 40-51.
- **Amiot J., Fournier S., Le Beuf Y., Paquin P., Simpson R, (2002),** Science et technologie du lait “transformation du lait”, chapitre I, pp 1-77

- **Ammor S., Tauveron G., Dufour E.,Chevallier I, (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*. vol. 17, 454-461.
- **Audiguie, C.I., J. Fingarella and Zonszain, (1980).** Biochemical analysis engineering. Publishing Doin éditeurs, Paris aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris.1-106.
- **Axelsson L. (2004).** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, 1-67.
- **Badis A., Guetarni D., Moussa B.B., Henni D.E., Kihal M, (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21, 579-588.
- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M., Ouzrout R, (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sciences et technologie.* 23, 30-37.
- **Barber M. C., Clegg R.A., Travers M.T., Vernon R.G, (1997).** Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochi. Biophys. Acta (BBA) – Lipids Lipid Met.* 1347:101-126.
- **Banas, J.A. (2004).** Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front. Biosci.* 9(1–3) : 1267–1277. doi:10.2741/1305. PMID: 14977543.
- **Bassa A., Dadié A., Makita K., Grace D., Dje M., Bonfoh B, (2010).** Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d’Ivoire). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales (RASPA)*. S (8): 35-42.
- **Beever D. E., Sutton J.D., Reynolds C.K, (2001).** Increasing the protein content of cow’s milk. *Aust.J Dairy Technol.* 56:138.-149.
- **Bekhouche Farida, (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d’enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d’état en microbiologie et enzymologie option : génie alimentaire. Université De Mentouri Constantine. Institut De La Nutrition De L’alimentation Et Des Technologies.
- **Bekhouche et Boulahrouf, (2005).** Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d’élevage de Constantine. *Science technologique.* C N° 23, 38-47.
- **Belyagoubi L, (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. 170p.

- **Benzakour A., Berny E.H., Elmoualdi L., Labioui H., Ouhssine M., Yachioui M, (2009).** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm.Bordeaux*, 148. pp : 7-16
- **Beresford T. P., Fitzsimons N. A., Brennan N. L., Cogan T, (2001).** Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J.* 11, 259–274.
- **Bergy's manual, (2009).** Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the firmicutes. Edition springer
- Bertrand F, (1988). Le fromage grand œuvre des microbes. *Revue générale de froid.* 78,519-527.
- **Biavati B., Vescovo M., Torriani S., Bottazzi V, (2000).** Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annales of Microbiology.*, 50, 117-131.
- **Bille P G., Haradoed B R., and Shigwedha N, (2009).** Evaluation of chemical and bacteriological quality of raw milk from neudamm dairy in Namibia. *Afr. J. Food Agric. Dev.*, 9: 1511-1523.
- **Bisig W., Eberhard P., Collomb M., Rehberger B, (2007).** Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products. *Lait.* 87: 1–19.
- **Björkroth J., Holzappel W., (2003).** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: M. Dworkin (Ed.) *The Prokaryotes*, 3rd ed. (electronic version). SpringerVerlag. New York, NY.
- **Boclé J C., Baelde D., Brassart D., Corthier G., Doré J., Heyman M., Marteau P, (2005).** Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte, pp.1-128.
- **Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarme K., Weissenbach J., Ehrlich A, (2001).** The complete genome of lactic acid bacterium *Lactococcus lactis ssp.lactis* ; IL 1403. *Genome Res.*11,731-753.
- **Booth J., Dodd F H, (2000).** Mastitis and milk production. The healthy of dairy cattle. Edition Andrews. London. p: 213-255. *INRA Prod. Anim.*, 4 (5).pp: 361-367.
- **Boujenane I., (2003).** Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA) Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P:6446-Instituts, Rabat, Maroc.
- **Boumehira A.Z., Mami A., Hamedi.J.E., Kihal M, (2011).** Identification and Characterization of Functionnal and Technological *Lactobacillus plantorum* Strains isolated from raw and camel milk collected in Algeria. *J. Pure Appl. Microbiol.*5 (2), 553-565.
- Bourdier J M., Luquet M F, (1991). Dictionnaire laitier. Techniques et documentation,
- **Bourel B., Tournel G., Hedouin V., Deveaux M., Goff M L, (2001).** Morphineextraction in necrophagous insectsremains for determining ante-mortemopiote intoxication. *Journal of Forensic Science.* 120 : 127-131.

- **Bourgeois C.M., Leveau J.Y, (1991).** Technical Analysis and Control in the Food Industry. In: Plusquellec, A., Ed., *Plants Products*, Lavoisier—Technical and Documentation Apria, Paris, 379.
- **Y, Tessier L, Guyot P, Beuvier E, (2005).** Relations entre les pratiques des producteurs et les niveaux de populations microbiennes des laits a Comte. In 12emes Rencontres Recherches Ruminants, *Institut de l'Elevage, INRA*, Paris, 403.
- **Breukink, E., Wiedmen, I., van kraaij, c., kuipers, O.P., Sahi, H. and de Kruijff, B, (1999).** Use of the cell wall precursor lipid II by aspoore forming peptide abtibiotic. *Sciences.*,256:159-164.
- **Brillet A., Pilet M.F., Prevost H., Cardinal M., Leroi, F, (2005).** Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological, and sensory quality of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 104, 309-324.
- **Broadbent J.R. (2001).** Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.). 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New.
- **Brun-Lafleur L., Delaby L., Husson F., Faverdin P, (2010).** Predicting energy x protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 4128-4143.
- **Bylund, (1995).** Bylund G. Collection and reception of milk. *Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak Processing Systems, France, pp.
- **Canani R.B., Di Costanzo M., Leone L, (2012).** The epigenetic effects of butyrate: potential therapeutic implications for clinical practice. *Clinical Epigenetics*, 4, 1–7. doi:10.1186/1868-7083-4-4
- **Caridi A., Micari P., Caparra P., Cufari A., Sarullo V, (2003).** Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes'cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal.* 13, 191-200.
- **Caridi A., Micari P., Fothi F., et al (2005).** Ripening and seasonal changes in microbiological and chemical parameters of the artisanal cheese carpino d'Aspromonte produced from raw or thermized goat's milk. *Food Microbiol.* 2, 201-209.
- **Carr, F. J., Chill, D. Et Maida, N, (2002).** The lactic acid bacteria: A literature survey Critical. *Rev. Microbiol.* 28: 281-370.
- **Casalta E. (2003).** Bases scientifiques de la qualité du Venaco, fromage traditionnel au lait cru. Mise au point de ferments sélectionnées spécifiques. Thèse de l'université de Bourgogne, Dijon
- **Casalta E., Vassal Y., Desmazeaud M.J., Casabianca F, (1995).** Comparison of the acidifying activity of *Lactococcus lactis* isolated from Corsican goat milk and cheese. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology.* 28, 291-299.
- **Chilliard Y., Rouel J., Leroux C, (2006).** Goat's alpha-s1 casein genotype influences its milk fatty acid composition and delta-9 desaturation ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131,474–487

- **Chilliard Y.; Ferlay A.; Faulconnier Y., et al (2000).** Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*. v.59, n.1, p.127-134.
- **Choisy C., Desmazeaud M., Gueguen M., Lenoir J., Schmidt J.L., Ettourneur C, (1997).** Lesphénomènes microbiens. In : Le fromage. Ed. Eck A,Gillis JC. *Lavoisier Tec & Doc*, Paris,France. Pp. 377-446.
- **Christiansen P.S., Edelsten D., Kristiansen J.R., Nielsen E.W, (1996).** Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, **51: 502-504.**
- **Coakley M., Barrett E., Murphy J.J., Ross R.P., Devery R., Stanton C, (2006).** Cheese manufacture with Milk with Elevated Conjugated Linoleic Acid Levels Caused by Dietary manipulation. *Journal of Dairy Sciences*. 90:2919–2927.
- Codou, (1997). Codou Latyr Fall. Etude Des Fraude De Lait Cru : Mouillage Et Ecremage sénégal. Université cheikh ANTA diop dakar. école d’inter-etats des sciences et medecine veterinaires.
- **Cogan T.M, (2003).** Microbiology of cheese. In: Encyclopedia of Dairy Sciences. Roginski, H.,Fuquay, J.W., Fox, P.F. Éditions Academic Press. p.306-314.
- **Colin O., Laurent F., Vignon B. (1992).** Variations du rendement fromager en pâte molle. Relations avec la composition du lait et les paramètres de la coagulation. *Lait*.72, 307-319.
- **Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J., Wallbanks S. (1993).** Taxonomic studies of some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc* paramesenteroides group of species. *J. Appl. Bacteriol.* (75): 595-603.
- **Collomb M., Bisig W., Bütikofer U., Sieber R., Bregy M., Etter L. (2008).** Fatty acid composition of mountains milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. *International Dairy Journal*. 18:976–982.
- **Collomb M., Schmid A., Sieber R., Wechsler D., Ryhänen E.L. (2006).** Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal*. 16 :1347–1361.
- **Corbier C., Krier F., Mulliert G., Vitoux B. And Revol-Junelles A.M., (2001).** Biological activities and structural properties of the atypical bacteriocins mesenterocin 52b and leucocin b-ta33a. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 4, 1418-22.
- **Corroler D. (1999).** Biodiversité des lactocoques sauvages au sein de la zone d’appellation d’origine « Camembert de Normandie » implication au cours de la transformations fromagère, thèse de doctorat de l’université de Caen. Basse-Normandie.
- **Corroler D., Mangin I., Desmasures N. And Gueguen M., (1998).** An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the camembert cheese registered designation of origin area. *Appl Environ Microbiol* 64, 4729-4735.

- **Coubronne C. (1980).** variation de quelques paramètres biochimiques du lait en relation avec l'alimentation des vaches laitières étude dans deux élevages. école vet alfort, paris.
- **Coulon J B., Garel J P., Hoden A. (1986).** Evolution de la production et de la composition du lait à la mise à herbe. *Bull. Tech. CRVZ. Theix. INRA.* 66, 23-29.
- **Coulon J. B., Chilliard Y., Rémond B. (1991).** Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRA Prod. Anim.* 4:219-228.
- **Coulon J.B., (1994).** Facteurs de variation du taux protéique du lait de vache en exploitation. INRA Prod. Anim.,pougheons., Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole nationale Vétérinaire Toulouse, France: 59 (102 pages).
- **Coulon J.B., Roybin D., Congy E., Garret A., (1988).** Composition chimique et temps de coagulation du lait de vache : facteurs de variations dans les exploitations du Pays de Thônes. *INRA Prod. Anim.*, 1, p. 253-263.
- **Craplet C., Thibier M., (1973).** In La vache laitière. 2eme édition :Vigot frères,720p
- **CTINILS (2010).** Comité Technique Des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins. Instruction DGOS/PF2/2010/466 du 27 décembre 2010 relative au dispositif de prise en charge des IOA complexes.
- **Cuq J. L, (2007)** Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes / aliments / consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p 2 - 17.
- **Dalmasso M., Prestoz S., Rigobello V. And Demarigny Y, (2008).** Behavior of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar. *diacetylactis* in a Four Lactococcus Strain Starter during Successive Milk Cultures. *Food Science and Technology International.* 14, 469-477.
- **Dahou (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 de Mostaganem.
- **Dasen A., Grappin R. (1983).** Détermination rapide de l'extrait sec des fromages à l'aide d'un four à micro-ondes. *Le Lait*, INRA Editions, 63 (623_624), pp.75-84.
- **De Man J.D., Rogosa M., Sharpe M.E. (1960).** A Medium for the cultivation of Lactobacilli. *J. Appl. Bact.* 23: 130-135.
- **Debry G., (2001).** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages)
- **Delarras C, (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris : Lavoisier.

- **Dellaglio H., de Roissart H., Torriani S., Curk M.C., Janssens D, (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.), Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. *Lorica, Uriage*, pp. 25-116.
- **Desmasures N, (1995).** Etude de laits de haute qualité : caractéristiques et aptitude microbiologique à la transformation en camembert au lait cru. Thèse. Université de Caen.
- **Desmazeaud M, (1998).** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières INRA. 1-3.
- **Devoyod, J J. et Poullain F, (1988).** Les *Leuconostoc* Propriétés: Leur rôle en technologie laitière, *Le Lait*, 68 (3):249-280
- **Devriese L A., Pot B., Collins M D, (1993).** Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups- A review. *J. Appl. Bacteriol.* 75,399-408.
- **Dillion J C., Berthier A m, (1997).** Le fromage dans l'alimentation. In : Le fromage de la science à l'assurance qualité, 3ème édition, Paris, PP. 713-724.
- **Dong Y H., Xu J L., Li X Z., Zhang L H, (2000).** an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 97:3526–3531. doi:10.1073/pnas.060023897.
- **Donkor O N., Henriksson A., Vasiljevic T., Shaha N P, (2007).** Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. INRA, EDP Sciences.86: 21-38.
- **Dortu C., Thonart P, (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 13(1) : 143-154.
- **Dosogne H., Arendt J., Gabriel A., Burvenich C., (2000).** Aspect physiologique de la sécrétion laitière par la mamelle bovine, *Ann. Med. Vet.* 144, (6), 357-382.
- **Drici H., Gilbert C., Kihal M., Atlan D. (2009).** Atypical citrate-fermenting *Lactococcus Lactis* strains isolated from dairy's milk. *J of App Microb.* ISSN 1364-5072.
- **Drouault S., Corthier G, (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés. *Vet. Res.* 32 :101–117.
- **Dulphy J.P., Rouel J, (1988).** Note sur la capacité d'ingestion des vaches laitières en fin de lactation *INRA Prod. Anim.*, 1 (2), 93-96
- **Durlu-Özkaya F., Aslim B. And Taha Ozkaya M, (2007).** Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT -Food Science and Technology.* Vol. 40, 564-568.

- **Loubiere P., Gruss A, (2001).** Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival. *J Bacteriol* .Vol.183. p 4509-4516.
- **ECK A, (1987).** Le fromage. Lavoisier, 2eme édition, Paris. P. 529.
- **ECK A, (1990).** Le fromage 3eme Edition, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris. P.539
- **ECK A., Gillis J C, (1997).** Le Fromage, De la science à l'assurance-qualité ; 3e éd-Paris, 891p.
- **Edima H C, (2007).** *Carnobacterium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère.* Thèse de doctorat. INPL et PhD. Université de Ngaoundéré.165p.
- **Emanuele S., D'Anneo A., Bellavia G., Vassallo B., Lauricella M., De Blasio A., Tesorier G, (2004).** Sodium butyrate induces apoptosis in human hepatoma cells by a mitochondria/caspase pathway, associated with degradation of β -catenin, pRb and Bcl-XL. *European Journal of Cancer*. 40: 1441–1452.
- **Esposito G., Masucci F., Napolitano F., Braghieri A., Romano R., Manzo N., Di Francia A, (2013).** Fatty acid and sensory profiles of Caciocavallo cheese as affected by management system. *Journal of Dairy Sciences*. 97: 1–11.
- **Facklam, R., Carvalho, M.G., Teixeira, L, (2002).** History, taxonomy, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility testing of enterococci. In *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance Gilmore, M (ed), Washington, DC: ASM Press, 1-54.*
- **Falkenberg, U., Reinhold, U., Hildebrandt, P., Heuwieser, G, (2006).** Seasonal influence on the development of microbiological colonization on surfaces of liners and flushing adapters in a newly installed parlor. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 113, 3-6.
- **Fall papa-Abdoulaye (2011) :** Etudes des interactions entre les bactéries bioprotectrice *Lactococcus piscium* et *Brochothrix thermosphacta* et *Listeria Monoecytogenes* dans la crevette tropicale. Thèse de Doctorat. Microbiologie alimentaire. Ecole doctorale VENAM, Université de Nantes
- **FAO, (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Collection FAO: Alimentation et nutrition, n° 28, ISBN 92-5-20534-6.
- **FAO, (1995).** Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Collection FAO: Alimentation et nutrition, n° 28, ISBN 92-5-20534-6.
- **Farkye N.Y., Madkor S.A., Atkins H.G, (1995).** Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. *Int Dairy J* .5: 715-725.

- **Fatine H., Abdelmoula E., Doha B., Hinde H., Abdelmajid S. and Samia S, (2012).** Bacterial quality of informally marketed raw milk in Kenitra city, Morocco. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2012, 11 (8), 760-767.
- **Faverdin P., Hoden A., Coulon J B , (1987).** Recommandations alimentaires pour les vaches laitières. Bull. Tech. C.R.Z.V. *Theix, INRA*, 70: 133-152.
- **Faye., Loiseau G. (2002).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemple de démarches qualité. Edition : CIRAD-FAO, Montpellier, France, pp : 1-5
- Feuillat M., Le Guennec S., Olsson A, (1976). Contribution à l'étude de la protéolyse des laits réfrigérés et incidences sur le rendement d'une fabrication de fromages à pâte molle. *Le Lait*. 558, 521-536.
- **Fitzsimmons N.A., Cogan T.M., Coudon S., Beresford T, (1999).** Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3418-3426
- **Folch J., Lees M., Stanley G.H.S, (1957).** A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226, 497-509.
- **Fredot E. (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, *Tec et Doc, Lavoisier* 25, 397p.
- **Froc J., Gilibert J., Daliphar T., Durand P, (1988).** Composition et qualité technologique des laits de vaches Normandes et Pie-Noires. *INRA Prod ,Anim.*, 1(3),171-177.
- **Garcia-Almendarez, I.K.O. Cann, S.E. Martin, I. Guerrero Legarreta, C. Regalado (2008).** Effect of *Lactococcus lactis* UQ2 and its bacteriocin on *Listeria monocytogenes* biofilms *Food Control*, 19 (2008), pp. 670-680.
- **Gevers D, (2002).** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doctorat Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.
- **Ghazi K., Niar A, (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 2011, 29, 193-196.
- **Gledel J, (1987).** Aspect microbiologique : matière première de l'industrie laitière. Ed Tec et Doc. Paris .pp : 213-223.
- **Gomes A.M.P., Xavier Malcata F, (1998).** Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. *J.Dairy Sci.*, 81: 1992-1507.
- **Gonzalez L., Sandoval H., Sarcristan N., Castro J M., Resno J M F., Tornadijo M E. (2007).** Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese. *Food Control*.18, 176-722.

- Gripon J. C., Desmazeaud M. J., Lebars D., Bergère J L, (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la présure commerciale. *Le Lait*. 55, 502-516
- **Gueguen L., Journet M., anglois M , (1961).** Les variations de la composition minérale du lait de vache. *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique*. 1 (3), pp.305-310. (hal-00896154).
- **Guiraud J., Galzy P, (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.
- **Guiraud J.P. et Rosec J P, (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. 237-251.
- **Guiraud J.P, (1998).** Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agro-alimentaire, Eds. Dunod Paris, 652p.
- **Guiraud J.P, (1998).** Microbiologie alimentaire. 1e Ed., Dunod. Paris. 136-144.
- **Guiraud J.P, (2003).** Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292
- **Gupta A, Madani R, Mukhtar H., (2010).** Streptococcus bovis endocarditis; a silent sign for colonic tumour. *Colorectal Dis*. 12(3):164–71. doi: 10.1111/j.1463-1318.2009.01814.x.
- **Hadadji M., Benaama R., Saidi N., Henni D. E., Kihal M. (2005).** Identification of cultivable bifidobacterium species isolated from breast-fed infants feces in west-Algeria. *African journal of biotechnology*. vol. (5): 422-430.
- **Hanzen C. H., (1999).** Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière: Aspects individuels et d'élevage. 4ème Edition Université de Liège.
- **Hassaine O. (2013).** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de Doctorat. Université d'Oran Es-Senia.
- **Hassan A.N., Frank J.F, (2001).** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.
- **Heller K.J, (2001).** Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starterorganisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 374S-379S.
- **Henri-Dubernet S., Desmasures N., Guéguen M, (2004).** Culture-dependent and culture-independent methods for molecular analysis of the diversity of lactobacilli in « Camembert de Normandie » cheese. *Lait*. 84, 179-189.
- **Hitchener, B. J., Egan, A. F. & Rogers, P. J. (1982)** Characteristics of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged beef, *Journal of Applied Bacteriology*, 52, 31±37.

- **Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. And Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. **134-142.**
- **Hoden A., Coulon J.B. (1991).** Maîtrise de la composition du lait. – Influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (5), p.p. 361 – 367.
- **Hoden A., Marquis B., Delaby L., (1988).** Association de betteraves fourragères à une ration mixte d’ensilage de maïs et de trèfle violet pour vaches laitières. *INRA Prod. Anim.* 1 (3), 165-169.
- **Holzappel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 suppl 4: 365–733.
- **Holzappel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in’t Veld J.H.J. (1998).** Overview of gut flora and probiotics. *Intl. J. Food Microbiol.* (8), 135-152.
- **Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., Karam N.E. (2009).** Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* 60, 177-183.
- **Innis S.M. (2004).** Polyunsaturated fatty acids in human milk: An essential role in infant development. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 554: 27–43.
- **Institut de l’élevage (2009)** – 149 rue de Bercy – 75595 Paris cedex 12
- **Institut de l’élevage (2018).** Résultats de Contrôle Laitier. 149, rue de Bercy - 75595 Paris cedex 12
- **JORA, 1998.** (Journal officiel de la république algérienne). Arrêté interministériel du 27 mai 1998 relatif aux spécifications microbiologique de certaines denrées. Ministère du commerce N°35.
- **J.O.R.A. N° 35. (1998).** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers
- **Jean C., et Dijon C., (1993).** Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
- **Jeanson S., (2000).** La maturation du lait dans la fabrication de fromages à pâte pressée cuite : le rôle des lactocoques. Thèse de doctorat. Université de Dijon, France. 243p
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brulé G, (2007).** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456pages).
- **Jeantet R. Croguennec T. Mahant M. Schuck P. Brulé G , (2008).** Les produits laitiers, 2eme Edition: Tec et Doc, Lavoisier. Paris. PP: 1-9.
- **Joffin C. et Joffin J N, (1999).** Microbiologie alimentaire. 5ème Edition Centre régional de documentation pédagogique d’aquitaine, Paris : 210p.

- **Jozala A F., de Lencastre Novaes L C., Cholewa O., Moraes D., Penna T C V, (2005).** Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media ; *Afr.J.Biotechnol.* 4:3, 262-265
- **Julien F, (2008).** Valeur informative d'indicateurs *Ante et post mortem* pour la détection des dangers biologiques pour le consommateur de viande porcine. Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1.
- **Jutta Cerning J.C. Gripon G. Lamberet J, (1987).** Lenoir. Les activités biochimiques des *Penicillium* utilisés en fromagerie. *Le Lait*, INRA Editions, 1987, 67 (1), pp.3-39. fihal-00929082f
- **Kandler O., Weiss N, (1986).** Regular, Non-Sporing Gram-Positive Rods. In: Sneath, H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G., Eds., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1208-1234.
- **Karoui, R., Mouazen, M. Duflor, E. Pillonel, L. Picque, D. Bosset, J. De Baerrdemaeker, J. (2007).** Mid-infrared spectrometry: A tool for the determination of chemical parameters in Emmental cheeses produced during winter. *Lait.* 86 :83-97.
- **Kerrache H, (2008).** Isolement, identification et caractérisation technologique de certaines souches *Leuconostoc* isolées à partir du lait de vache. Thèse d'ingénieur en biologie. Université Hassiba Ben Bouali Chlef pp 49.
- **Kefford B., Christian M P., Sutherland B J., Mayes J J., Grainger C, (1995).** Seasonal influences on cheddar cheese manufacture: Influence of quality and stage of lactation. *J. Dairy Res.* 62:592-537.
- **Kehoe A., Barnes-Holmes Y., Barnes-Holmes D., Cochrane A., Stewart I, (2007).** Breaking the pain barrier: Understanding and treating human suffering. *The Irish Psychologist*, 33(11), 288-297.
- **Kelly (1998).** Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology.* 10 : 215-224.
- **Khalid N M. and Marth E H, (1990).** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy Sci.* 73: 158-167.
- **Khan S.H., Ansari F.A, (2007).** Probiotics-The friendly bacteria with market potential in global market. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 20(1): 76-82.
- **Kilian M. (2002).** Streptococcus and Enterococcus. in D Greenwood, RCB Slack & JF Peutherer (eds), *Medical Microbiology*. 16th edn, Churchill Livingstone, pp. 174-188.
- **Kjeldahl J, (1883).** A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22, 366-382. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01338151>.

- **Klaenhammer T. R., Barrangou R., Buck B. L., Azcarate-Peril M. A., Altermann E, (2005).** Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiol Rev.* 29, 393–409.
- **Klaenhammer T.R., Azcarate-Peril M.A., Altermann E., Barrangou R, (2007).** The influence of dairy environment on gene expression and substrate utilization in lactic acid bacteria. *The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics*, 137: 748S-750S.
- **Kotelnikova E A., Gelfand, M S, (2002).** Bacteriocin Production by Gram-Positive Bacteria and thr Mechanisms of Transcriptional Regukation. *Russian J. Genetics*, 38: 6, 628-641.
- **Kuramitsu, H K, (2006).** The virulence of Streptococcus mutans. Dans Gram positif pathogens. Sous la direction de V.A. Fischetti, R.P. Novick, J.J. Ferretti, D.A. Portnoy et J.I. Rood. *American Society for Microbiology Press*, Wash., USA. p. 240– 246.
- **Kuipers O P., G. Buist J. Kok, (2000).** Current strategies for improving food bacteria. *Res. Microbiol.* 151, 815-822.
- **Lafarge V., Ogier J.C., Girard V., Maladen V., Leveau J.Y., Gruss A. Anddelacroix-Buchet A., (2004).** Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Applied and Environmental Microbiology.* 70, 5644-5650.
- **Lane C N., Fox P F, (1996).** Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal.* 6, 7, 715-728.
- **Larpent (1990).** Influence de l'alimentation et de la saison sur la composition du lait, In la vache laitière. 231- 246, ed INRA publications, route de St- cyr, 78000, versailles.
- **Larpent J P,(1997).** Microbiologie alimentaire techniques de laboratoires. P 128, 200, 338. Ed. *Tec. Et Doc.* Lavoisier.
- **Laurent (1998).** Manuel de bactériologies alimentaire, polytechnica. Paris : 308p Lavoisier, 2éme édition, Paris.
- **Law J., Haandrikman A, (1997).** Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 7: 1-11.
- **Le Minor C., Richard C, (1993).** Méthodes de laboratoire pour identification des entérobactéries. Institut Pasteur, France. 217p
- **Leclerc H., Gaillard F.L. et Simonet M, (1994).** Les grands groupes de bactéries. In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris. 445
- **Leclerc H., Mossel, D.A. A. (1989).** Microbiologie: le tube digestif, l'eau et les aliments. Doin ed, paris.
- **Lee S.J., Ahn Y.H., Kim K.S., Lee C.H. (2006).** ShinEcological Characteristics and Flora of Native Viola kusanoana Habitats in Ulleung-do Island. *Korean Journal of Plant and Environment*, 2 (1), pp. 13-18

- Lemieux L., Simard R.D. (1994). Bitter flavour in Dairy Products. *Lait*, 72, 335- 382.
- Lenoir J., Lambert G., Schmioldt J L, (1983). L'élaboration d'un fromage. L'exemple du Camembert. *Pour la Science*, 69, 30-42.
- **Leveau J Y et Bouix M, (1993)**. Les levures. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Eds.Tech. et Doc. Lavoisier. Paris, pp : 2-39.
- **Leyral G., Vierling É., (2007)**. Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et Sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. 87p.
- **Lindmark-Mansson H., Fonden R., Pettersson H E, (2003)**. Composition of Swedish dairy milk. *Int. Dairy J.*, 13: 409-425.
- **Lucey J A., Kindstedt P S., Fox P F , (1992)**. Seasonality: its impact on the production of good quality Mozzarella cheese. In: 3rd Cheese Symposium, *National Dairy Products Research Centre*, Moorepark, 28-29 Octobre 1992. 41- 49.
- **Luquet F M , (1985)**, lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. 3 volumes, Paris, Technique et documentation, Lavoisier.
- **Luquet F M., Beerens H, (1987)**. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. *Tec. Et Doc.*, Lavoisier, Paris.269p.
- **Luquet M F., Bourdier J M, (1991)**. Dictionnaire laitier. Techniques et documentation, Lavoisier, 2ème édition, Paris.
- **Lynch C.M., Mc Sweeney P.L.H., Fox P.F., Cogan T.M., Drinan F.D., (1997)**. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77, 441-459.
- **Magnusson M., Christiansson., Svensson B. (2007)**. Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. *Journal of dairy science*. n°90. Pp 2745-2754.
- **Mahaut (2003)**. *initiation à la technologie fromagère, édition Tec & Doc lavoisier paris, 194p.*
- **Mahaut M., Jeantet R., Brule G. (2000)**. Initiation à la technologie fromagère. Techniques et Documentation – Lavoisier, Paris, 194 p.
- **Majdi A. (2009)**. Les fromages AOP et IGP. In Séminaire sur les fromages AOP et IGP .INT-Ingénieur agronomie. ,88pages.
- **Makhloufi K.M., (2011)**. **Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique** Leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Biochimie. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6. France. 200p.
- **Mallay A.M.N. (2012)**. Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais, à partir du lait de vache coagulé par la papaïne naturelle. Mémoire de diplôme de master en qualité des aliments de l'homme ; Université CHEIKEN ANTA de Dakar, 31 pages.

- **Mannul L., comunian R., Scintu M.F. (2000).** Mesophilic lactobacilli in Fiore Sardo cheese: PCR identification and evolution during cheese ripening. *Int Dairy J.* 10,383-389.
- **Mansour LM. (2015).** Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation. Thèse de doctorat : Production Animale. Sétif : Université de Ferhat Abbas,2015, 190 p.
- **Martin, B et Coulon, J., (1994).** Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. Influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de troupeaux. Le Lait, INRA Editions, pp. 61-80.
- **Martinet J., Houdebine L.M., (1993).** Biologie de la lactation, 587p.
- **Matamoros S. (2008).** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université de Nantes. 189p.
- **Mathieu J., (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait. Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220p.
- **Mäyrä-Mäkinen A., Bigret M., (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria.** In: **Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.).** 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. **New York. 73-102.**
- **Mendia C., Ibanez F C., Torre P., Barcina Y. (2000).** Influence of the season on proteolysis and sensory characteristics of Idiazabal cheese. *J. Dairy Sci.*, 83: 1899-1904.
- **Meschy F., Gueguen L., (1992).** Alimentation des vaches laitières: Comparaison des recommandations d'apports en minéraux. *INRA, Production Animale.* 5 (4). 283 -288
- **Mietton B. (1995).** Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage. *Revue des ENIL*, 189 pages.
- **Mills S., Ross R.P., Hill C., Fitzgerald G., Stanton C. (2011).** Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *International Dairy Journal.* 21: 377–401.
- **Miranda G., Gripon J C, (1986).** Origine, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. Le Lait, INRA Editions, 1986, 66 (1), pp.1-18.
- **Mitchell, T J, (2003).** The pathogenesis of streptococcal infections: from tooth decay to meningitis. *Nat. Rev. Microbiol.* 1(3) : 219–230. doi:10.1038/nrmicro771. PMID:15035026.
- **Miyoshi Y., Andoa A., Oooka M., Shibab E., Taguchi T., Tamaki Y, (2003).** Association of CYP17 genetic polymorphism with intra-tumoral estradiol concentrations but not with CYP17 messenger RNA levels in breast cancer tissue. *Cancer Lett.* 195:81–86.
- **Mkrtychyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zloh M., Limaki H.K.,(2010).** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced

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

- **Mocquot G., Guittonneau G. (1939).** Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôle de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. *Le lait*. N°182, pp. 114-139.
- **Monnet V., Latrille E., Beal C. Et Corrieu G., (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 512-592.
- **Mourgues, R. Vassal, L. Auclair, J.Mocquot,G. Vandeweghe, J.Deschamps,N. Vachot, J.C. Nicolas.M. (1977).** Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. *Lait*.57, 131-149.
- **Murphy J. J., O'Mara F. (1993).** Nutritional manipulation of milk protein concentration and its impact on the dairy industry. *Livestock Production Science*. 35: 117-134.
- **Murray P R., Baron E J., Jorgensen J H., Landry M L., Pfaller M A, (2007).** Manual of Clinical Microbiology. 9th Edition, American Society for Microbiology, Washington, DC.
- **Nasopoulou C., Demopoulos C A., Zabetakis I, (2012).** Effect of freezing on quality of sea bass and gilthead sea bream. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114:733–740.
- **Nayra S., Sharaf O M., Ibrahim G A., Tawfik N F, (2002).** Incorporation and viability of some` probiotic bacteria in functional dairy food: I. Soft cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science*, **30**: 217-229.
- **Neelakanten J., Shahani K M., Arnold R G, (1971).** Lipases and flavor development in some italian cheese varieties. *Food Production Development*. 5,52-58.
- **Nehal F. (2007).** Isolement et caractérisation de souches de lactococcus lactis à partir de différents laits dans le périmètre du moyen Cheliff. Thèse de magister. Sciences alimentaires. Chlef: *Université Hassiba Ben Bouali Chlef*, 134 p.
- **Ninane V., Mukandayambaje R. Et Berben G, (2009).** Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation règlementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. *Biotechnol Agron Soc Environ*, **13(3)** : 459–466.
- **Novel G, (1993).** ‘Les bactéries lactiques’ dans ‘Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel’. *Leveau J.Y, Bouix M., A.p r i a. Paris . pp 170 3310.*
- **Ogier J C., Casalta E., Farrokh C., Saïhi A, (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: The Leuconostoc genus. *Int. J. Food Microbiol.* **126**: 286-290.
- **Oliveira M N., Sodini I., Remeuf F., Corrieu G, (2001).** Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *International*

- **Ordotiez J A., Ortiz De Apodaca M J, (1977). Lipolytic activity of micrococci isolated from cheese.** *Milchwissenschaft.* 32, 531-3
- **Orla-Jensen S , (1919).** The Lactic bacteria Hosledsoncopen : 74: pp 131-142.
- **Ortiz De Apodaca M J., Selgas M D., Ordoñez J A , (1993). Lipolytic and proteolytic activities of micrococci isolated from cheese.** *Food Research International.* **26**: 319-325.
- **Osawa R, Fujisawa T, LI S , (1995). Streptococcus gallolyticus sp. nov.: gallate degrading organisms formerly assigned to Streptococcus bovis.** *Syst Appl Microbiol.* **18**:74–78.
- **Ots M., Kärt O., Henno M., Jõudu I., Mihhejev K., Kuusik S., Elias P, (2007).** Effect of dietary fat sources on milk and cheese fatty acid composition: Proceedings of the 13th Baltic animal breeding conference. pp. 54–58.
- **Ouinine K., Rhoutaisse A., EL Halou N E, (2004).** Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. *Al Awamia.*, **109-110**, 187-204
- **Pajor F., Gallo O., Poti P. (2013).** Milk and cheese fatty acid profiles in Alpine goat fed green maize forage. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 22:213–218.
- **Petransxiene D., Lapied L. (1981).** Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests, Ir Ed., Paris, *Tee. & Doc.* 228 p.
- **Piard J.C., Desmazeaud M.J., (1992).** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. bacteriocins and other antimicrobial substances. *Le Lait.* 72, 113-142.
- **Pilet M.F., Magras C., Federigh M.(2005).** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.
- **Pot B.(2008). The taxonomy of lactic acid bacteria.** In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1-106.
- **Pot B., Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. And Kersters K. (1996).** Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol.* 19: 213-222.
- **Pougheon S., Goursaud J., (2001).** Le lait caractéristiques physicochimiques *in debryg, Lait*, nutrition et santé, *Tec et Doc,Paris* : 6(566 pages)
- **Prandini A. ; Sigolo S. ; Morlacchini M. ; Cerioli C. ; Masoero, F., (2011).** Pea (*Pisum sativum*) and faba bean (*Vicia faba* L.) seeds as protein sources in growing-finishing heavy pig diets: effect on growth performance, carcass characteristics and on fresh and seasoned Parma ham quality. *Italian J. Anim. Sci.* 10 (4): e45

- **Prandini A., Sigolo S.T., Ansini G., Brogna N., Piv A.G. (2007).** Dif- taux élevé d'acide linoléique conjugué (CLA) dans les produits laitiers d'Italie. *J Compos de nourriture Anal.* 20: 472–479.
- **Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. (2003).** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp: 1164.
- **Quasem, J.M., A.S. Mazahreh and K. Abu-Alruz. (2009).** Development of vegetable based milk from decorticated sesame (*Sesamum Indicum*). *Am. J. Applied Sci.*, 6: 888-896. DOI: 10.3844/ajassp.2009.888.896 .
- **Reiter B.T., Fryer T.F., Pickering A., Champan H.R., Lawrence R.C., Sharpe M.E., (1967).** The effect of the microbial flora on the flavor and free fatty acid composition of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 34, 251772.
- **Remeuf F., Cossin V., Dervin C., Lenoir J., Tomassone R. (1991).** Relations entre les caractéristiques physicochimiques des laits et leur aptitude fromagère. *Lait.* 71,397-421
- **Remond B, (1987a).** Influence de l'alimentation sur la composition du lait de vache. 2-Taux protéique : facteurs généraux. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 62, p.p. 53 – 68.
- **Rémond B , (1987b).** Influence du stade de lactation et de l'âge sur la composition chimique du lait. in « Le lait, matière première de l'industrie laitière ». INRA publications, route de St-Cyr, 78000 Versailles. p 151-159.
- **Richard J. (1983).** Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués. *Le lait.* n°63.pp: 148-170.
- **Richard J. (1984).** Evolution de la flore microbienne a la surface des Camemberts fabriqués avec du lait cru. *Le lait.* 64, 496-520.
- **Robinson W. I., Pritchard C. J. R. (1973).** The effect of whole dates as a feed supplement on the performance of weaned Jersey bulls and calves. Univ. Coll. N. Wales and Min. of Agric. and Water, *Saudi Arabia Joint Agric. Res. and Development Proj.* Publ. No. 27
- **Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H., Karam N.E., (2009).** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud-Ouest Algérien. *European. J.Sci. Res.* 34 (2): 218-227.
- **Rouissat L. and Bensoltane A., (2006).** Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algerian tow breeds (Ouled Djellal and El Hamra). Egypt. *J. App. Sci.* 21: (2b), 567-582.
- **Rozier J, Carlier V, Bolnot F. (1985).** Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris, éd SEPAIC, 1985, 230p
- **Ruas-Madiedo P., Alting A.C., Zoon P., (2005).** Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International Dairy Journal.* Vol. 15, 155-164.

- **Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P., (2002).** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*. Vol. 12, 163-171.
- **Rutkowska J., Adamska A., Bialek M., (2012).** Fatty acid profile of the milk of cows reared in the mountain region of Poland. *J Dairy Res.* 79, 469-476.
- **Saïdi N., (1998).** Bactéries lactiques des laits d'Algérie : isolement, identification, caractéristiques technologiques. Mise en évidence de bactériocines et d'ADN plasmique. Thèse de magister université d'Oran.
- **Saidi, N., Guessas, B., Bensalah F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D. E., Prevost, H. et Kihal, M. (2002).** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Aleg. Reg. Arides.* 1: 1-11.
- **Salminen S., Wright A. V., Ouwehand A. (2004a).** Lactic acid bacteria. Microbiological and Functional Aspects, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, 1-67.
- **Salminen, M.K. H. Rautelin, S. Tynkkynen, T. Poussa, M. Saxelin, V. Valtonen, A. Järvinen. (2004b).** *Lactobacillus* bacteremia, clinical significance and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG. *Clin. Infect. Dis.* 38, 62-69.
- **Samelis J., Maurogenakis F., Metaxopoulos J. (1994).** Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology.* 23, 179±196.
- **Sassi E., Attou S., Homrani A., Nemiche S.(2018).** Effect of the season on the microbiological quality of raw cow's milk on the farm in western Algeria. *Adv. Biores. Adv. Biores.* Vol 9 [3] 108-122.
- **Schleifer K.H., Kloos W.E., (1975).** A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *J. Clin. Microbiol.* 1, 337-8.
- **Schlienger J L., Paillard F., Lecerf J M., col, (2014).** Effect on blood lipids of two daily servings of Camembert cheese. An intervention trial in mildly hypercholesterolemic subjects; *Int J Food Sci Nutr*, Early Online:1-6 © Informa UK Ltd.DOI:10.3109/09637486.2014.945156
- **Schultz M.M., Hansen B., Steuernagel R., Kucka L, (1990).** variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73,484- 493
- **Sérieys F, (1997).** Le tarissement des vaches laitières. Paris : Edition France Agricole, 224p.
- **Serna L., Rodríguez A, (2006).** Lactic acid production by a strain of *Lactococcus lactis subs lactis* isolated from sugar cane plants. *Electronic Journal of Biotechnology.* 9: 40-45.
- **Soomro A.H., Masud T.,Anwaar K, (2002).** Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.

- **Stadhouders J., Mulder H, (1958).** Fat hydrolysis and cheese flavor. II. Microorganisms involved in the hydrolysis of fat in the interior of the cheese. *Neth. Milk Dairy J.*, 12, 23741.
- **Steijns J M, (2001).** Proteins, peptides and amino acids. *In J. Young (Ed.), Guide to functional food ingredients* (pp. 235–275).
- **Steijns J N, (2008).** Dairy products and health : Focus on their constituents or on the matrix. *Int.Dairy J.* **18**, 425-435.
- **Stiles M E., Holzappel W H, (1997).** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 1-29.subsp.
- **Tadelind S., Westberg F., Kjerrulf M., Vida A, (2007).** Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20, 2826–2832.
- **Tamime A Y., (1990).** Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), *Dairy Microbiology*, vol. 2. *Elsevier*. pp. 131- 201.
- **Tamime A Y., (2002).** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3rd Ed., John Wiley and Sons, Inc.261-366.
- **Tapernoux A., Magat A., Gonnet M, (1957).** Essai Sur Les Relations Entre La Teneur En Matière Grasse Des Fromages Et Celle Du Lait Utilisé Pour Leur Préparation. *Le Lait*, Inra Editions. 37 (363_364), Pp.129-138.
- **Tarek A M., Ashraf G M., Abeer F Z., Ahmed F S, (2015).** Physicochemical and Sensory characteristics of Processed Cheese Manufactured from the Milk of Goats Supplemented with Sunflower Seed or Sunflower Oil. *International Journal of Dairy Science.* 10(4):198–205.
- **Teixeira L.M., Carvalho M.G.S., Facklam R.R., (1999).** Vagococcus. In Encyclopedia of Food Microbiology. Robinson R.K. Oxford, Elsevier. 2215-2220.
- **Tetzgahi B., Sandine W.E. (1975).** Appl. Microbial. 29,807-813.
the raw cow milk in the Tadla area of Morocco. *International Journal of Dairy Technology.* 61,340-346.
- **Thapon J.L., (2005).** Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).
- **Thompson J.D. et al. (1994).** CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22, 4673–4680.
- **Tormo H. (2010).** Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de variabilité. Thèse de doctorat de l'université de toulouse. 46, 256p.
- **Tormo H., Agabriel C., Lopez C., Ali Haimoud Lekhal, D., Roques C, (2010).** Relation ship between the production conditions of goat's milk and the microbial profiles". *International Journal of Dairy Science.* 6 (1),13.

- **Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D., Sonomoto K , (2005).** Reconstitution and function of Tetragenococcus halophile chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99: 30-37.
- **Tredez M L H, (2008).** Méta-analyse des effets protecteurs des probiotiques sur lacancérogenèse colorectale chez les rongeurs l'Université Paul-Sabatier de Toulouse-these doctorat vétérinaire.
- **Turpin W, (2011).** Vers une évaluation des potentialités probiotique et nutritionnelle des bactéries lactiques constitutives du microbiote d'un aliment fermenté à base de mil par une approche moléculaires. Thèse de doctorat, université de Montpellier 2 Sciences et Techniques du Languedoc, 169.
- **Valeria M, (2009).** Novel Technological Approaches To Enhance Stress Tolerance Of Bifidobacterium Longum Ncc2705 Cells Using Continuous Cultures. Diss. Eth No. 18419
- **Van de Guchte M., Penaud S., Grimaldi C., Barbe V., Bryson K., Nicolas P., Robert C., Oztas S. et al, (2006).** The complete genome sequence of Lactobacillus bulgaricus reveals extensive and ongoing reductive evolution. *Proc Natl Acad Sci. USA* 103, 9274–9279.
- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K., Swings J, (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev.* 60, 407-438.
- **Vandenbergh P A , (1993).** Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews.* 12, 1-3, 221-237.
- **Varga G A., Ishler V.A. (2007).** Managing nutrition for optimal milk components. Pages 1-14 in *Proc. Western Dairy Manag. Conf.* Reno, NV.
- **Varnam A H., Jane P, (2001).** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry. - Book Depository Mar 31, 2001.
- **Veisseyre R, (1975).** Technologie du lait-Constitution, récolte, traitement et transformation du lait. La maison rustique. Paris pp.2-328.
- **Vierling E, (2008).** Aliment et boisson : Filière et produits. 3éd. Le Corosa, Doin, 277p
- **Vignola C L, (2002).** Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales polytechnique, Québec; 608p.
- **Vlaeminck B., Fievez V., Demeyer D., Dewhurst R J, (2006).** Effect of forage:concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *J. Dairy Sci.* 89, 2668–2678.
- **Walker G P., Dunshea F R., Doyle P T,(2004).** Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein . *J. Agric. Res.* 55:1009-1028.
- **Walter S., (2001).** Optimiser la préparation de la vache à sa nouvelle lactation. Station fédérale de recherches en production animale.

- **Welman A D., Maddox I S, (2003).** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. **Vol. 21, 269-274.**
- **Wilson W.R , Thompson R.L, Wilkowske C.J, Washington J.A, Giuliani E.R, Geraci J.E. JAMA., (1984).** 2. Vol. 245. 1981. Short-term therapy for streptococcal infective endocarditis. Combined intramuscular administration of penicillin and streptomycin. 2. Vol. 245.pp. 360–363.
- **Wolter R., (1994).** Alimentation de la vache laitière, 2éme éd. 255 p.
- **Wolter R., (1997).** Alimentation de la vache laitière. Edition France Agricole, p. 111
- **Zambunelli C., Chiavari C. et al., (2002).** Effect of lactic acid Bacteria autolysis on sensorial characteristics of fermented food. *Food Techno-Biotechnology*. 40, 347-351.
- **Zelter Z, (1953).** *Le rôle nutritionnel, chez la vache en lactation, des acides acétique et butyrique formés au cours de l'ensilage.* *Ann. Zootechni.* (43),104-147.
- **Zhang H., Cai Y , (2014).** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg. New York London. 536p.
- **Zlatanov S., Laskaridis K., Feist C., Sagredos A, (2002).** CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food chem.* 78,471-477.

Annexes

Annexes

Les milieux de cultures :

➤ **Milieu MRS (pH 6,5)**

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, 7 H ₂ O	0,2 g
Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O	0,5 g
Agar	15 g
Eau distillée qsp	1000 mL

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min.

➤ **Milieu M17 (pH 7,2)**

Peptone papainique de soja	5 g
Peptone pepsique de viande	2,5 g

Peptone tryptique de caséine	2,5 g
Extrait de viande	5 g
Extrait de levure	2,5 g
β-Glycérophosphate de sodium	19 g
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0,25 g
Acide ascorbique	0,50 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée qsq	950 mL

➤ **Bouillon MRS**

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Tween 80	1 mL
Phosphate dipotassique	2 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate triammonique	0,2 g
Sulfate de magnésium	0,05 g
Saccharose	5 g
Eau distillée qsp	1000 mL

➤ **Bouillon M17 (pH 7,1 ± 0,2)**

Tryptone	2,5 g
Peptone pepsique de viande	2,5 g
Peptone papainique de soja	5 g
Extrait autolytique de levure	2,5 g
Extrait de viande	5 g
Lactose	5 g
Glycérophosphate de sodium	19 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	0,5 g
Eau distillée qsp	1000 mL

➤ **Milieu Plate Count Agar(PCA) :**

Bio trypase	5g
Extrait de levure.....	2.5g
Glucose	1g
Aga.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclave 15min a 115°C.....0.025g
pH final.....7.4

➤ **Gélose viande foie (VF)**

Extrait de viande foie 30g
Glucose.....2g
Amidon.....2g
Gélose.....12g

pH 7,6. Répartir en tubes à essais (20 ml).

Autoclaver 20 min à 115°C.

Ajouter avant emploi par tube de milieu en surfusion, 0,5 ml de sulfite de sodium à 5 % et 4

gouttes de citrate de fer ammoniacal à 5 % stérilisés par filtration ou 10 min d'ébullition.

➤ **Gélose Salmonella-Shigella (SS)**

Peptone 10g
Extrait de viande..... 5g
Lactose 10g
Sels biliaires 6g
Citrate de sodium 10g
Riosulfate de sodium..... 8,5g
Citrate de fer ammoniacal 1g
Rouge Neutre..... 0,025g
Vert brillant 0,00033g
Gélose..... 13g

pH= 7. Stériliser par 1 à 2 min d'ébullition.

➤ **Gélose oxytétracycline-glucose (OGA)**

- Extrait de levures5g
- Glucose.....20g
- Gélose16g

pH, autoclaver 20minutes à 115 °C. Ajouter avant emploi au milieu en surfusion, 100mL d'oxytétracycline (téramycine) à 1mg/mL et répartir en boîte de pétri

➤ **Rothe (bouillon)**

Peptone 20g
Glucose 5g
Chlorure dipotassique..... 5g
Phosphate dipotassique 2,7g
Phosphate monopotassique 2,7g
Azide de sodium..... 0,2g
Eau distillée 1000 mL

pH= 7. Répartir en tube à essais (9-10 mL).

Autoclaver 20 min à 115°C.

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

➤ **Milieu Clark et Lubs (pH 7)**

Peptone	6 g
Glucose	5 g
K ₂ HPO ₄	5 g
Eau distillée qsp	1000 mL

Stérilisation à l'autoclave: 120°C pendant 15 minutes.

➤ **Milieu hypersalé de CHAPMAN :**

- extrait de viande de boeuf-----	1 g
- peptone-----	10 g
- chlorure de sodium-----	75 g
- mannitol-----	10 g
- rouge de phénol-----	0,025 g
- agar-----	15 g
- amphotéricine	
- eau distillée-----	1000 ml

pH=7,4 -+ 0,2

- autoclaver 15 minutes à 120°C

- couler en boîte de Petri.

➤ **Test de Mac Kenzie**

Mode opératoire :

A partir des tubes positifs du test présomptif, on inocule l'ose dans :

 } Un tube d'eau peptonée tamponnée exempte d'indole.

 } Un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant muni d'une cloche de DURHAM.

Les tubes sont placés aussitôt dans une étuve réglée à 44°C pendant 48 heures.

- Lecture :

Si après incubation à 44°C pendant 48h, il y a production de gaz (BLBVB) et d'indole mis en évidence par addition de réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée avec lequel il donne un anneau rouge révélant une réaction positive, on peut soupçonner la présence d' *E. coli*.

Tables de Mac Grady (Cuq, 2007)

Nombre Caractéristique	Nombre de Micro organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4

101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,

➤ Réactif de vogues prosateur (VPI et VPII)

VPI : Solution de soude Na OH à 16% dans l'eau distillée.

VPII : Alpha -naphtol à 6% dans l'alcool à 95%.

Recherche des salmonelles

Pré enrichissement :

Introduire 25ml d'échantillon de lait à analyser dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée, qui sont ensuite mis à incuber à 37°C pendant 18 heures.

Enrichissement :

Après Incubation, le flacon de pré-enrichissement subit une agitation, ensuite 10ml de cette solution sont introduits dans un flacon contenant 25 ml de boillon SFB (sélénite Acide de sodium) suivie d'une agitation et incubation à 37°C pendant 24 heures.

Isolement

Fondue et refroidie à 45± 1°C, le milieu SS (salmonella-Shigella) est coulé dans les boites de pétri et laissé se solidifier. Ensuite, 3 gouttes du milieu d'enrichissement sont déposés et étalées avec un râteau à la surface du milieu SS. Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Interprétation des résultats :

Les salmonelles apparaissent incolores et transparentes de petite taille.

Informations complémentaires concernant les vaches de notre expérimentation

N° de vache	SL	N° de lactation
V 1	1 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V 2	1 ^{er} SL	4 ^{ème} Lactation
V 3	1 ^{er} SL	1 ^{ère} Lactation
V 4	1 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V5	1 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V 6	1 ^{er} SL	2 ^{ème} Lactation
V 7	1 ^{er} SL	2 ^{ème} Lactation
V 8	2 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V 9	2 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V10	2 ^{er} SL	4 ^{ème} Lactation
V11	2 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V12	2 ^{er} SL	2 ^{ème} Lactation
V13	2 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V14	3 ^{er} SL	4 ^{ème} Lactation
V15	3 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V16	3 ^{er} SL	1 ^{ère} Lactation
V17	3 ^{er} SL	2 ^{ème} Lactation
V18	3 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V19	3 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation
V20	3 ^{er} SL	3 ^{ème} Lactation

Abstract

Stage of lactation (SOL) is a major factor affecting several characteristics of milk such as fatty acids content and composition, protein and main minerals content. These variations may have important quantitative and qualitative consequences on the characteristics of cheese. The aim objective of this study was to analyse the effect of lactation stage on the fat and fatty acids composition of the artisanal camembert type-cheese made from cow's milk collected in Mostaganem region (Algeria) and provided from three stages of lactation (early, mid and late). In this study and for each stage of lactation, the fat and fatty acid composition of camembert type-cheese were analysed and evaluated. Results showed that the total lipids were related to the stage of lactation ($p < 0.05$), ranging from 14.6% for the 3rd SOL to 23% for the 1st SOL. The fatty acids composition of Camembert-type cheese showed a high polyunsaturated fatty acids percentage dominated by $\omega 6$ and $\omega 3$ fatty acids represented by linoleic and α -linolenic acids. Indeed, they recorded maximum values of 2.53% and 0.6% respectively, for the Camembert made with the milk of the 1st SOL ($p < 0.05$). Concerning monounsaturated fatty acids class, oleic acid is found to be the most important fatty acid with a maximum percentage (26.1%) in Camembert of the 1st SOL ($p < 0.05$). Finally, this study concluded that the stage of lactation plays a determining role on the biochemical composition of the camembert type-cheese, particularly on lipids and essential fatty acids.

Keywords: Camembert, cow's milk, Fatty acid, lipid, lactation stage

Résumé

Le stade de lactation (SOL) est un facteur majeur affectant plusieurs caractéristiques du lait, telles la teneur et la composition en acides gras, en protéines et en minéraux. Ces variations engendrent aussi des modifications qualitatives et quantitatives sur les caractéristiques des fromages fabriqués. L'objectif de cette étude est de mettre en exergue l'effet du stade de lactation sur la qualité nutritionnelle (acides gras en particulier) d'un fromage artisanal à pâte molle type camembert, fabriqué à partir de lait de vache collecté dans la région de Mostaganem (Algérie) et provenant de différents stades de lactation, à savoir le début, le milieu et fin de lactation. Dans cette étude et pour chaque stade de lactation, la teneur en lipides totaux et la composition en acides gras du camembert de notre expérimentation ont été analysés et évalués. Les résultats ont montré que les lipides totaux étaient liés au stade de lactation ($p < 0,05$), allant de 14,6% pour le 3ème SOL à 23% pour le 1er SOL. La composition en acides gras du fromage de type Camembert présentait un pourcentage élevé d'acides gras polyinsaturés dominé essentiellement par les acides gras $\omega 6$ et 3 représentés par les acides linoléique et α -linoléique. En effet, ils ont enregistré des valeurs maximales respectives de 2,53% et 0,6% pour le camembert fabriqué avec le lait du 1er SOL ($p < 0,05$). En ce qui concerne la classe des acides gras monoinsaturés, l'acide oléique s'avère l'acide gras le plus important avec un pourcentage maximal de l'ordre de 26,1% dans le camembert du 1er SOL ($p < 0,05$). Enfin, cette étude nous a permis de déduire que le stade de lactation joue un rôle déterminant sur la composition biochimique du fromage type camembert, en particulier sur les lipides et les acides gras essentiels.

Mots clés : Camembert, Lait de vache, Acides gras, Lipides, Stade de lactation.

ملخص

تعتبر مرحلة انتاج و افراز الحليب من العوامل الرئيسية التي تؤثر على العديد من خصائص الحليب، مثل محتوى الاحماض الدهنية و تكوينها وكذا كمية البروتينات و المعادن. هذه الاختلافات تؤدي الي تغييرات نوعية و كمية في خصائص الاجبان المنتجة. الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على تأثير مرحلة الرضاعة على الجودة الغذائية (خاصة الاحماض الدهنية) لنوع جبن طري من نوع "كامبيير" مصنوع من حليب البقر الطازج الذي تم جمعه من مدينة مستغانم (الجزائر)، و ذلك حسب مختلف مراحل الرضاعة أي بداية، وسط و نهاية الرضاعة. في هذه الدراسة ولكل مرحلة من مراحل الرضاعة، تم تحليل وتقويم محتوى الدهون الكلي وتكوين الاحماض الدهنية في جبن الكامبيير المصنوع تقليديا في المخبر. أظهرت النتائج الكميات المسجلة للدهون الكلية مرتبطة بمرحلة الرضاعة، والتي تتراوح من 14.6 % للمرحلة الثالثة إلى 23 % للمرحلة الأولى. كانت تركيبة الاحماض الدهنية للجبن من نوع كامبيير تحتوي على نسبة عالية من الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة التي يسيطر عليها بشكل رئيسي الاحماض الدهنية $\omega 3$ و $\omega 6$ المتمثلة في حمض اللينولييك وحمض الفا اللينولينييك فقد سجلت النتائج قيما قصوى قدرها 2.53 بالمئة و 0.6 بالمئة على التوالي للكامبيير المصنوع من حليب المرحلة الأولى من الرضاعة.

بالنسبة لفئة الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة ، فإن حمض الأوليك هو أهم الأحماض الدهنية مع نسبة مئوية بحد أقصى 26.1٪ في جبن الكامببير للمرحلة الأولى من الرضاعة . أخيرًا ، أتاحت لنا هذه الدراسة أن نستنتج أن مرحلة الرضاعة تلعب دورًا حاسمًا في التركيب الكيميائي الحيوي للجن من نوع كامببير ، خاصة على الدهون والأحماض الدهنية الأساسية .
، كامببير الكلمات المفتاحية : حليب البقر ، الأحماض الدهنية ، الدهون ، مرحلة الرضاعة