

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

BENDI HADJI Sarra Manel et BENSALAH Yasmine

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie Fondamentale

Caractérisation des Fromages Traditionnels

Soutenu le juin 2021 devant le jury composé de :

Présidente	Dr MESLI Asma	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr M'HAMMEDI Imene	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr BENDIMERAD Nahida	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021

REMERCIEMENT

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Nous tenons dans un premier temps à exprimer nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Dr Nahida BENDIMERAD**, pour nous avoir encadré et orienté avec une efficacité et une disponibilité permanente et qu'elle ne nous a rien refusé malgré ses nombreuses responsabilités. On la remercie également pour sa gentillesse, sa patience, sa confiance, ses encouragements et ses précieux conseils.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Dr Asma MESLI** pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements sont adressés à **Dr Imene M'HAMMEDI** pour avoir bien voulu juger et examiner ce travail.*

Et sans oublier de remercier nos enseignants, nos collègues qui ont contribué à créer une ambiance de travail agréable et propice à la coopération et au partage d'expériences.

Enfin, nous remercions nos parents qui nous ont soutenus, encouragé et surtout subventionné tout au long de ce travail .sans eux tout aurait été beaucoup plus difficile.



Dédicace

Au nom d'ALLAH clément et miséricordieux

Je dédie ce modeste travail ;

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon cher père « Ghouti ».

A ma chère maman « Samira » pour son amour, et qu'elle m'a toujours accordé en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse.

A mes sœurs « Ahlem », « Fella », et « Yousra » pour l'amour qu'elles me réservent, je leurs souhaite une vie pleine du bonheur, santé et de succès.

A mon grand père et ma grand-mère, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les membres de ma famille.

A mes adorables nièces « Rihem » et « Israe » et mon neveu « Mouad » que dieu les protège.

A mes chers amies qu'elles trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères.

Sans oublier mon binôme « Sarra » pour sa patience, sa compréhension et son soutien.

« YASMINE »



Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience et la volonté de m'avoir fourni sa bénédiction.

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail ;

A mon très cher père qui a toujours répondu présent dans les moments les plus difficiles, son soutien, son encouragement m'ont toujours donné la force de poursuivre mes études ;

A ma très chère maman, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse .Tu es toujours pour moi un exemple de courage et de sacrifice continu ;

Aucune dédicace ne pourra compenser les sacrifices de mes parents ;

A ma très chère sœur « Meriem » et mon cher frère « Abdelhadi », qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur ;

A mon adorable nièce « Yosra », que dieu la garde pour nous ;

Un grand merci à mon cher oncle « Imad » et ma meilleure tante « Naziha » qui m'ont aidé à traverser ces moments difficiles, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie ; et à toute personne qui porte le nom Bendi Hadji et Charif ;

A ceux que j'aime beaucoup qui m'ont toujours soutenus et étaient toujours à mes côtés ;

Sans oublier mon binôme, ma copine Yasmine pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

« SARRA MANEL »



TABLE DES MATIERES

Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	01
Partie I : Synthèse bibliographique	
<i>Chapitre I : Produits Laitiers Traditionnels Algériens</i>	
I.1. Principaux produits laitiers traditionnels en Algérie.....	03
I.1.1. Boissons.....	03
I.1.1.1. Lben.....	03
I.1.1.2. Rayeb.....	03
I.1.2. Dérivés laitiers gras.....	04
I.1.2.1. Zebda ou Dhan.....	04
I.1.2.2. Smen.....	04
I.1.3. Fromages.....	04
I.1.3.1. Définition.....	04
I.1.3.2. Fromages traditionnels algériens.....	05
I.1.3.2.1. Fromage frais.....	05
I.1.3.2.1.1. Jben.....	05

I.1.3.2.2. Fromage extra-dur.....	07
I.1.3.2.2.1. Klila.....	07
I.1.3.2.3. Fromage affiné.....	07
I.1.3.2.3.1. Bouhezza.....	07
I.1.4. Autres produits traditionnels	08
I.1.4.1. Méchouna.....	08
I.1.4.2. Takammart.....	08
I.1.4.3. Kémaria.....	09
I.1.4.4. Ighounan.....	10
I.1.4.5. Madghissa.....	10
I.1.4.6. Aoules.....	10
I.1.4.7. Ibakhbakhane.....	10
I.1.4.8. Adhghass.....	10
I.1.4.9. Aghoughlou.....	10

Chapitre II : Coagulants des fromages

II.1. Les coagulants d'origine animale : la présure.....	12
II.1.1. Historique.....	12
II.1.2. Définition.....	12
II.1.3. Les composants de la présure.....	13
II.1.3.1. La chymosine.....	13

II.1.3.2. La pepsine.....	13
II.1.4. Hakka.....	15
II.1.4.1. Définition	15
II.1.4.2. Origine.....	15
II.2. Coagulants d'origine végétale.....	15
II.3. Coagulants d'origine microbienne.....	17

Chapitre III : Les bactéries lactiques

III.1. Définition.....	19
III.2. Habitat.....	19
III.3. Principaux genres des bactéries lactiques.....	19
III.3.1. Lactococcus.....	19
III.3.2. Lactobacillus.....	20
III.3.3. Streptococcus.....	21
III.3.4. Leuconostocs.....	22
III.3.5 Entéroccoccus.....	22
III.4. Intérêt des bactéries lactiques.....	23
III.4.1. Dans l'industrie alimentaire.....	23
III.4.2. Dans le domaine thérapeutique.....	23

Partie II : Analyse d'articles

Matériels et méthodes

Article 1 : Biodiversité des bactéries lactiques dans le fromage blanc marocain (Jben)...	24
1. Isolement du LAB et conditions de culture.....	24
2. Souches de référence.....	25
3. Identification biochimique et phénotypique du LAB.....	25
4. Empreinte génomique rep-PCR.....	25
Article 2 : Caractérisation et identification des bactéries lactiques isolées du fromage traditionnel (Klila) préparé à partir de lait de vache.....	27
1. Collecte des échantillons.....	27
2. Analyse microbiologique.....	27
3. Étude des microflores lactiques.....	29
3.1. Isolement et purification des bactéries lactiques.....	29
3.2. Identification des isolats de bactéries lactiques.....	30
3.3. Cinétique de la production d'acide lactique en fonction du pH et de l'acidité.....	31
3.4. Dépistage de l'activité antagoniste.....	31
Article 3 : Fabrication et caractéristiques du fromage bouhezza traditionnel algérien affiné.....	33
1. Matière première.....	33
2. Schéma de fabrication du fromage.....	34
3. Echantillonnage.....	36
4. Analyses physico-chimiques.....	36
5. Analyses microbiologiques.....	36

6. Analyses sensorielles.....	37
7. Analyse statistique.....	38
<i>Résultats et discussions</i>	
Article 1.....	39
Article 2.....	44
Article 3.....	52
Conclusion générale.....	59
Références bibliographiques.....	60
Annexe.....	74

Résumé

Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Ces produits sont issus de la transformation du lait dans le but de prolonger sa durée de conservation.

Dans ce contexte l'objectif de notre travail était de faire une étude qui mettra en valeurs les produits du terroir, plus particulièrement les fromages fabriqués traditionnellement et de pouvoir imposer des normes pour les rendre industriels dans l'avenir, afin d'éviter leurs disparition.

Malheureusement, vu l'état sanitaire actuel que connaît notre pays et le monde entier, nous n'avons pas pu faire de pratique, mais ceci ne nous a pas empêché de faire une recherche sur ses produits traditionnels en analysant trois articles dont chacun a fait l'étude d'un fromage traditionnels, qui sont : Jben, Klila et Bouhezza.

L'étude des trois articles consiste à faire des analyses microbiologique, physico-chimique, statistique et sensorielle des trois types de fromages traditionnels.

Les résultats des articles ont montré que dans le fromage appelé « Jben », les agents pathogènes telles que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* ont été détectés et les bactéries lactiques aussi sont très nombreuses. Alors que dans le fromage « Klila » *Salmonella* et *Staphylocoques* n'ont pas été trouvés. Les bactéries lactiques sont présentes à des taux faibles mais ceci n'a pas empêché leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de *S.aureus* suite à la production de bactériocine.

Dans le fromage appelé « Bouhezza », la microflore dominante est constituée de bactéries lactiques. Les levures et moisissures existent aussi mais à des taux très faibles ; L'étude sensorielle a révélé que Bouhezza est caractérisé par deux principaux facteurs qui le caractérisent : l'arôme et l'odeur.

Un produit laitier fabriqué traditionnellement ne peut en aucun cas être de très bonne qualité hygiénique qui diffère d'un lieu à un autre, du protocole et des conditions de fabrication. Cette qualité peut devenir meilleure dans l'avenir une fois que le produit deviendra industriel.

Mots clés : Fromage, analyses, caractéristiques, bactérie lactique, agent pathogènes.

Abstract

Our country has a well-established tradition of dairy products, passed down from one generation to another through the centuries. These products are derived from the processing of milk in order to extend its shelf life.

In this context, the objective of our work was to make a study that will put in value the products of the soil, more particularly the cheeses manufactured traditionally and to be able to impose norms to make them industrial in the future, to avoid their disappearance.

Unfortunately, given the current sanitary state that our country and the world knows, we have not been able to do any practice, but this has not prevented us from doing a research on its traditional products by analyzing three articles each of which has made the study of a traditional cheese, which are : Jben, Klila and Bouhezza.

The study of the three articles consists of microbiological, physicochemical, statistical and sensory analyses of the three types of traditional cheeses.

The results of the articles showed that in the cheese called "Jben", pathogens such as *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. were detected and lactic acid bacteria were very numerous. While in the cheese "Klila" *Salmonella* and *Staphylococcus* were not found. Lactic acid bacteria were present at low levels but this did not prevent their inhibitory power against *S.aureus* due to the production of bacteriocin.

In the cheese called " Bouhezza ", the dominant microflora is constituted by lactic bacteria. Yeasts and moulds also exist but at very low levels; the sensory study revealed that Bouhezza is characterized by two main factors: the aroma and the smell.

A traditionally manufactured dairy product can never be of very good hygienic quality, which differs from place to place, from protocol and from manufacturing conditions. This quality may become better in the future once the product becomes industrial.

Key words: Cheese, analysis, characteristics, lactic bacteria, pathogen.

ملخص

تتمتع بلادنا بتقاليد متناقلة عبر الاجيال في مجال منتجات الالبان. هذه المنتجات ناتجة عن معالجة الحليب لإطالة مدة صلاحيته. في هذا السياق، كان الهدف من عملنا إجراء دراسة تسلط الضوء على المنتجات المحلية، خاصة الأجبان المنتجة تقليدياً، مع فرض معايير تجعلها صناعية في المستقبل، من أجل تجنب اندثارها. مع الأسف، نظرا للجائحة التي تمر بها بلادنا والعالم بأسره. لم نتمكن من القيام بممارسة تطبيقية لكن هذا لم يمنعا من اجراء بحث على هذه المنتجات التقليدية من خلال تحليل ثلاثة مقالات التي تضمنت دراسة الاجبان التقليدية وهي: "جبين" "كليلة"، "بوهزة".

تعتمد دراسة المقالات الثلاثة على اجراء تحليلات ميكروبيولوجية، فيزيائية، كيميائية، احصائية وحسية للأنواع الثلاثة للأجبان التقليدية.

أظهرت نتائج المقالات انه في الجبن المسمى " جبين " تم رصد مسببات الامراض مثل *listeria monocytogenes* *Salmonella spp* بالإضافة الى وجود بكتيريا حمض اللاكتيك بكثرة. بينما لم يتم العثور على *Staphylocoque* و *Salmonella* في جبن "كليلة"، اما بكتيريا حمض اللاكتيك فوجدت بمعدلات منخفضة لكن هذا لم يمنع قوتها المثبطة ضد *S.aureus* بعد انتاج البكتيريوسين.

في الجبن "بوهزة" البكتيريا المهيمنة هي بكتيريا حمض اللاكتيك، كما توجد أيضا الخمائر والعفن الفطري بمعدلات منخفضة جدا. كشفت الدراسة الحسية ان "بوهزة" يميزه عاملين أساسيين يتمثلان في النكهة والرائحة. لا يمكن أن تكون الألبان المنتجة تقليدياً بجودة صحية جيدة في اي حال من الأحوال، والتي تختلف من مكان إلى آخر، من حيث البروتوكول وشروط التصنيع. قد تتحسن هذه الجودة في المستقبل بمجرد أن يصبح المنتج صناعياً.

كلمات مفتاحية: الجبن، تحليل، خصائص، بكتيريا حمض اللاكتيك، مسببات الامراض.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition de Jben.....	05
Tableau 02 : La différence entre Fromages traditionnels Algériens.....	11
Tableau 03 : Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait.....	18
Tableau 04 : Biodiversité des LAB dans le fromage blanc Marocain.....	40
Tableau 05 : Divergences entre les résultats de l'identification par SDS-PAGE/(GTG)5-PCR et API 50CHL.....	41
Tableau 06 : Résultats des caractéristiques physico-chimiques du fromage traditionnel (Klila).....	45
Tableau 07 : Résultats de l'analyse microbiologique (cfu/ml) des fromages traditionnels (Klila).....	48
Tableau 08 : Caractéristiques morphologiques, culturelles et physiologiques des isolats.	48
Tableau 09 : Antagonisme de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38 par des isolats de <i>Lactobacillus</i> en utilisant la méthode de diffusion en gélose d'agar.....	50
Tableau 10 : Action des enzymes protéolytiques, du pH et du traitement thermique sur l'activité antimicrobienne des extraits bruts contre la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38.....	51
Tableau 11 : Évolution des principaux groupes de micro-organismes dans le fromage Bouhezza pendant la fabrication et l'affinage (Log cfu g-1).....	55
Tableau 12 : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques (Log cfu g-1) du lait cru de vache et du Lben utilisés dans la fabrication du fromage Bouhezza.....	56
Tableau 13 : Fiche technique du fromage Bouhezza.....	58

Liste des figures

Figure 01 : Schéma globale illustratif des procédés de fabrication des principaux produits laitiers et fromages traditionnels Algériens.....	02
Figure2 : Barattage traditionnel à l'aide d'une baratte classique (la chekoua).....	03
Figure 03 : Jben traditionnel.....	05
Figure 04 : Fabrication des produits laitiers traditionnels Marocain.....	06
Figure 05 : Fromage traditionnel de type Klila.....	07
Figure 06 : Fromage Bouhezza.....	08
Figure 07 :(a) Takammart de chèvre, (b) Takammart de vache.....	09
Figure 08 : kemaria de vache.....	09
Figure 09 : Caillette De Chevreau.....	12
Figure 10 : caillette d'agneau.....	13
Figure 11 : Complexe stomacal du poulet.....	14
Figure 12 : Les espèces végétales utilisées pour la coagulation du lait.....	17
Figure 13 : Le genre Lactococcus.....	20
Figure 14 : Le genre Lactobacillus.....	21
Figure 15 : Le genre Streptococcus.....	21
Figure 16 : Le genre Leuconostoc.....	22
Figure 17 : Genre Enterococcus.....	23
Figure 18 : Schéma adopté pour la fabrication traditionnelle du fromage de bouhezza dans un sac en peau de chèvre perméable "chekoua".....	35
Figure 19 : Cinétique du degré d'acidité dornique des différents isolats en milieu lacté.....	50

Figure 20 : Inhibition de S.aureus ATCC 65 38 par les surnageants acellulaires.....	51
Figure 21 : Evolution de la composition chimique de la matière sèche du fromage Bouhezza au cours de la fabrication du fromage et de l'affinage (*) Matière grasse/matière sèche (g/100 g), () Protéine totale/matière sèche (g/100 g), () Azote soluble à pH 4,6 en pourcentage de l'azote total (SN/TN), (+) Matière sèche (g/100 g de fromage), () Sel/matière sèche, () Lactate/matière sèche (g/100 g).....	53
Figure 22 : Profils sensoriels du fromage de vache Bouhezza épicé traditionnel à 10 semaines d'affinage (moyenne \pm SD).....	57

Liste des abréviations

FIL : Fédération internationale du lait

LAB : Bactérie lactique

MRS : Man-Rogosa-Sharpe

FAMT : Flore mésophile aérobie totale

PCA : Plate count agar

MS : Matière sèche

MG : Matière grasse

AT : Azote total

AS : Azote soluble

HFD : L'humidité du fromage dégraissé

MGMS : La matière grasse en MS

°D : Degré dornique



Introduction générale

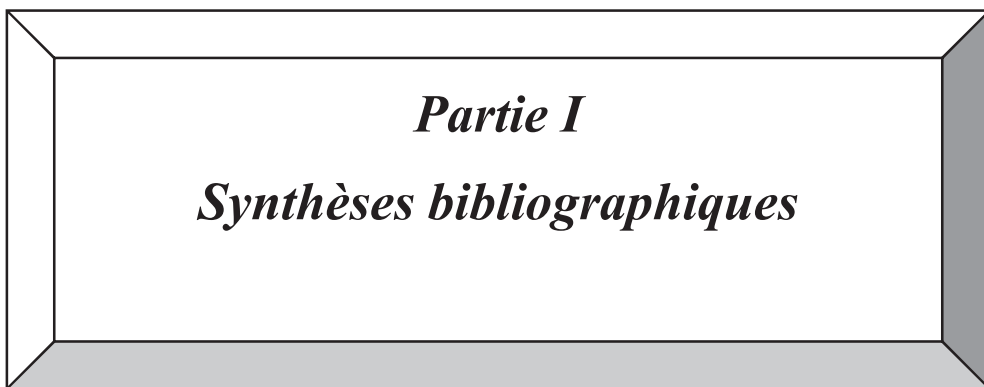
Les produits traditionnels font partie du patrimoine national de chaque pays. Parmi ces aliments il y a les fromages traditionnels pour lesquels chaque variété apparaît comme le reflet fidèle de la région dont ils sont originaires, avec leurs ressources naturelles et leurs traditions. La grande tradition de la qualité fermière tend malheureusement à disparaître peu à peu. **(Fox et al., 2000) ; (Hayaloglu et al., 2002) ; (Irlinger et Mounier, 2009).**

En Algérie, les fromages traditionnels sont nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés. Environ dix types de fromages sont connus dans les différentes régions du pays **(Aissaoui Zitoun et al., 2011).**

La plupart de ces fromages, tel que Bouhezza, Medghissa et Mechouna, dans la région des Chaouia, Takemmèrite et Aoules dans le Sud, Igounanes dans la région de la Kabylie et aussi Jben et Klila, sont en voie de disparition pour différentes raisons dont l'indisponibilité fourragère, l'exode rurale et le changement des habitudes alimentaires . Ainsi le nombre restreint de personnes intéressées par la fabrication traditionnelle ainsi que la perte du savoir-faire traditionnel entraîne une irrégularité du goût et pose par la suite des difficultés dans la satisfaction des besoins des consommateurs. Pour cela, il conviendrait d'encourager leur fabrication en vue de les faire connaître et maintenir leur existence.

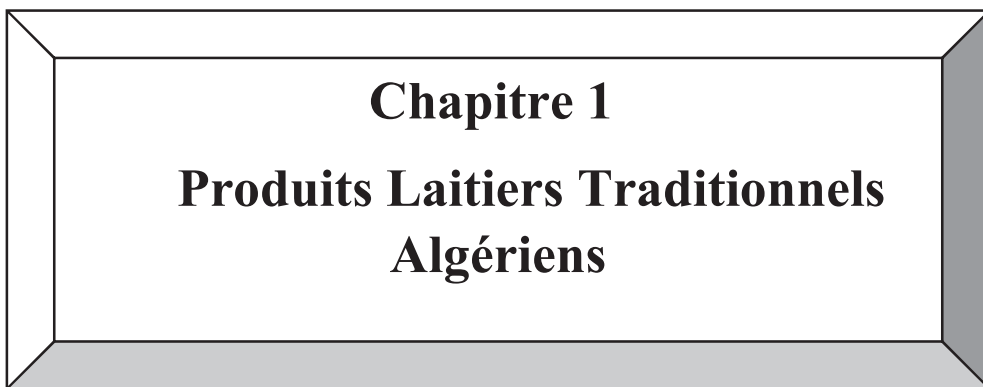
Ces fromages sont produits selon un protocole traditionnel à partir du lait cru de vache, de chèvre ou de brebis. Le lait subit une coagulation par l'action d'une enzyme de nature végétal comme la fleur du chardon ou le latex du figuier, ou de nature animal comme la présure et Hakka.

L'objectif de notre travail était de faire une recherche et une étude qui mettra en valeur les produits du terroir, plus particulièrement les fromages fabriqués traditionnellement et pouvoir imposer des normes pour les rendre industriels dans l'avenir afin d'éviter leur disparition. Vu la situation sanitaire qu'a connu notre pays et le monde entier ces derniers temps, nous n'avons pas pu faire de pratique, mais ceci ne nous a pas empêché de faire une étude sur ces produits traditionnels en analysant des articles sur les trois fromages les plus connus Jben, Klila et Bouhezza. L'étude consistait à décrire le protocole de fabrication et les analyses physico-chimique, microbiologique et sensorielles des trois types de fromages traditionnels étudiés.



Partie I

Synthèses bibliographiques



Chapitre 1
Produits Laitiers Traditionnels
Algériens

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de sa conservation sous la forme fraîche, a conduit au développement des technologies de productions traditionnelles (Dharam et Narender, 2007 in Lahsaoui, 2009).

Ces produits sont partie intégrante d'héritage algérien et ont une grande importance culturelle médicinale, et économique (Lahsaoui, 2009).

L'Algérie à une tradition des produits laitiers bien établis, transmise de génération en génération donnant un aspect important de la culture Algérienne .Le lait abondant durant certains moments de l'année est difficile de le conserver et il est facilement périssable surtout dans les zones à climat très chaud. La transformation de ce lait a permis l'apparition d'une gamme de produits laitiers dont les boissons, les dérivés laitiers gras et les fromages (Claps et Marone, 2011).

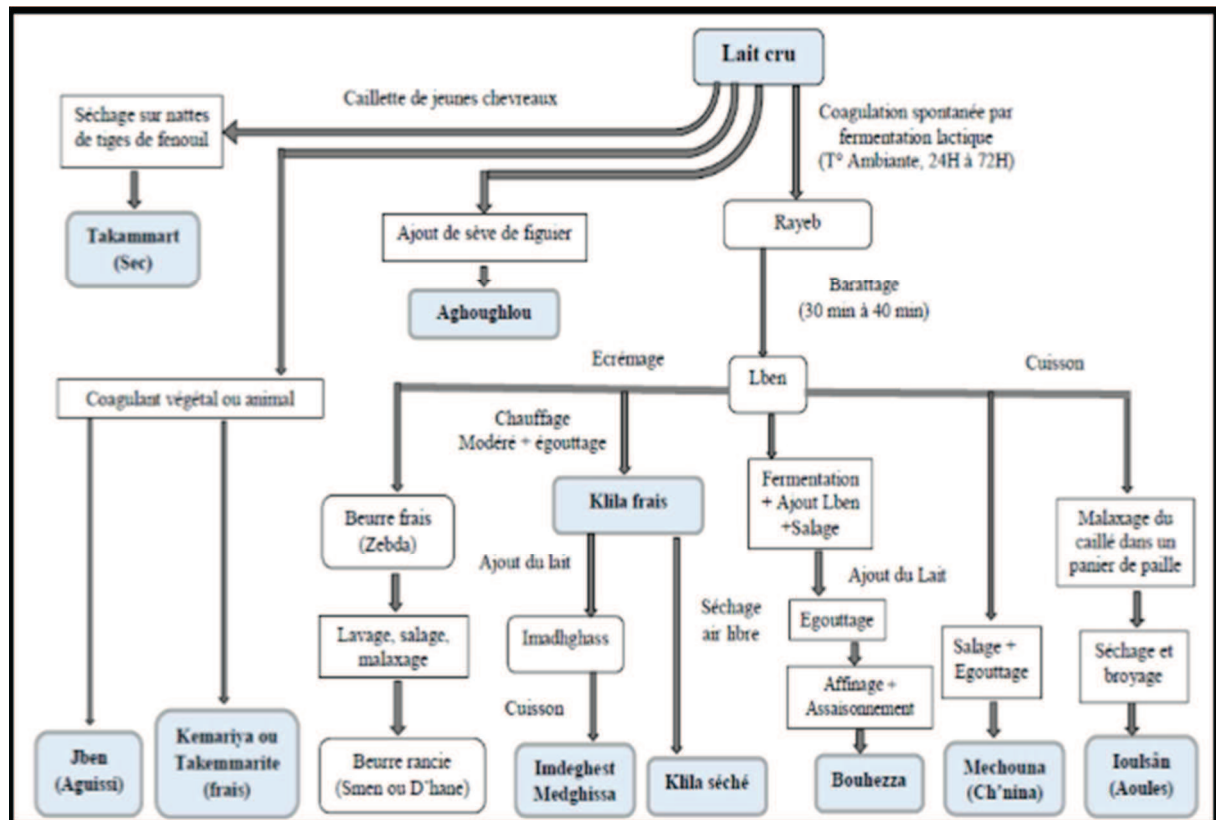


Figure 01 : Schéma globale illustratif des procédés de fabrication des principaux produits laitiers et fromages traditionnels algériens (Choubaila, 2018).

I.1.Principaux produits laitiers traditionnels en Algérie

I.1.1.Boissons

I.1.1.1. Lben

Le Lben est un produit lacté classé dans la catégorie lait fermenté très répandu en Algérie ou il consommé aussi bien à la campagne qu'en ville (**Touati, 1990**). Il est fabriqué à partir du lait de vache, de brebis ou de chèvre. Le lait subit une acidification spontanée par sa flore originale jusqu'à coagulation. Le caillé obtenu est introduit dans la Chekoua où il subit une forte agitation ou barattage qui permet de séparer le babeurre appelé « Lben » de la matière grasse qui forme le beurre traditionnel (**Hallal, 2001**).



Figure 02 : Barattage traditionnel à l'aide d'une baratte classique (la Chekoua) (**Samet-Bali et al., 2009**).

I.1.1.2. Rayeb

Le Rayeb est le lait cru fermenter et coagulé spontanément pendant un temps variant de 24h à 42h selon la saison. Il peut subir ou non un brassage non poussé.

Le Rayab est consommé tel quel ou transformé. Ce type de produit garde sa totalité de matière grasse et possède un aspect onctueux (**Mechai et al., 2014 ; Bendimerad, 2013**).

I.1.2. Dérivés laitiers gras

I.1.2.1. Zebda ou Dhan

En Algérie les fermiers fabriquent du beurre connus sous le nom de Zebdaou Dhan selon les régions en utilisant une méthode traditionnelle.

Le Raib est baraté pour obtenir le Lben. Après barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait) chaude ou froide suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des graines de beurre. On agite un peu pour la formation de mousse ou s'accumulent les globules. L'agitation permet ensuite la libération de la graisse liquide, la mousse tombe brusquement avec formation de graines de beurre baignant dans le Lben qui grossissent sous l'action de l'agitation. On procède ensuite au « ramassage » des graines en présence d'une petite quantité d'eau jusqu'à obtention des morceaux de beurre. Enfin on effectue le malaxage qui a pour but de ressembler les morceaux de beurre pour obtenir la « Zebda » ou « Dhan » (**Abdelmalek, 1978**).

I.1.2.2. Smen

C'est du Dhan lavé, salé et malaxé, puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante. (**Sakili et Issoual, 2003 ; Luquet et Corrieu, 2006**).

I.1.3. Fromages

I.1.3.1. Définition

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

I.1.3.2. Fromages traditionnels algériens

I.1.3.2.1. Fromage frais

I.1.3.2.1.1. Jben

C'est le fromage frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du «Jben», utilisant du lait pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «Jben», et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées au Maroc et en Algérie sous la dénomination populaire commune de "Jben" (**Benkerroum et Tamime, 2004**). Dans d'autres pays arabes ce fromage est nommé Jibneh Beida (**Bendimerad, 2013**).



Figure 03 : Jben traditionnel (Khater et Ghefar, 2017).

Sa composition est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Composition de Jben (Abdelaziz et Ait Kaci, 1992).

Composition du Jben	Eau	Matière grasse	Protéine	Calcium
Les valeurs	65.27	18.72	13.73	0.14

Traditionnellement, le Jben est fabriqué avec du lait cru de vache, de chèvre ou de brebis. Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette ovine appelé « Hakka » est enveloppé dans un tissu propre puis mis à macération dans le lait. Après coagulation du lait, le caillé est collecté et enroulé dans un tissu propre puis pressé pour égouttage. Un fois égoutté, il peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques, puis le caillé est découpé en petits morceaux. **(Lahsaoui, 2009).**

D'autre type de Jben sont obtenu par coagulation enzymatique en utilisant des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynaracardunculus L*), des fleurs d'une plante épineuse sauvage (*Cynarahumilis*), des fleurs d'artichaut (*Cynarascolumus*), du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille. Ces derniers sont utilisés pour accélérer la coagulation et pour donner un certain goût au fromage. **(Nouani et al., 2009).**
(BenkerroumetTamine, 2004)

Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles **(Figure 4)** : l'acidification, la coagulation et l'égouttage. Le lait cru est coagulé après acidification spontanée, puis le caillé est égoutté quelques heures pour obtenir la consistance désirée. Des additifs peuvent être ajoutés après égouttage et salage (ail, persil, poivre,.....).

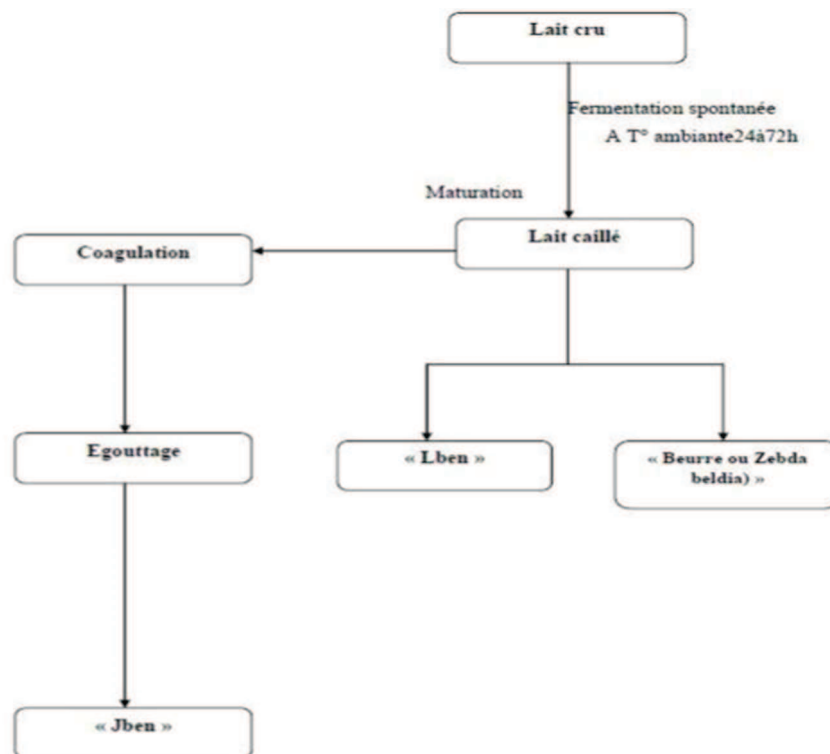


Figure 04 : Fabrication des produits laitiers traditionnels **(Benkerroum et Tamime, 2004).**

I.1.3.2.2. Fromage extra-dur

I.1.3.2.2.1.Klila

C'est un fromage fermenté à pâte dure produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie. Il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de brebis non pasteurisé. Ce fromage est fabriqué ainsi : Après chauffage du "Lben" pendant 15 min à 40-50 °C, le lactosérum est séparé du coagulum par filtration à travers une mousseline "Chache". Le fromage obtenu appelé Klila est séché sous le soleil pour une longue conservation (**Mahamedi et al., 2015 ; Mechai et al., 2014**).



Figure 05 : Fromage traditionnel « Klila » (Leksir et Chemmam, 2015).

I.1.3.2.3. Fromage affiné

I.1.3.2.3 .1.Bouhezza

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, est fabriqué avec le lait de vache, de chèvre, ou de brebis avec la possibilité de faire des mélanges de lait. Il est très répondu dans l'Est Algérien, plus précisément dans les régions d'Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certaines régions de Batna (**Mekentichi, 2003**).

La fabrication du fromage nécessite la confection de la peau d'animaux sous forme de « Chekoua ». La chekoua de Bouhezza se présente comme un sac souple et humide, ayant la couleur de la peau de l'animale et se caractérise par une certaine perméabilité (**Belbeldi, 2013**).



Figure 06 : Fromage Bouhezza (Aissaoui et Zidoune, 2006).

I.1.4. Autres produits traditionnels

I.1.4.1.Méchouna

C'est un fromage traditionnel Algérien largement consommé dans la région de Tebessa. Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition, ensuite, on ajoute du lait fermenté Lben ou Rayeb et du sel. Après coagulation et à l'aide d'un tissu perforé le mélange est laissé égoutter (**Lemouchi, 2008**). Ce fromage peut être consommé frais seul ou après additionné de plusieurs épices selon le choix des consommateurs. Dans cet état le Méchouna est dénommé Chnina (**Oucherif et Sellema, 2015**).

I.1.4.2.Takammart

C'est un fromage du Hoggar, il est fabriqué par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait (**Hallal, 2001**). Après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte et sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne de l'arôme. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'à durcissement du fromage. Le fromage peut subir un affinage durant un mois (**Abid, 2015**).

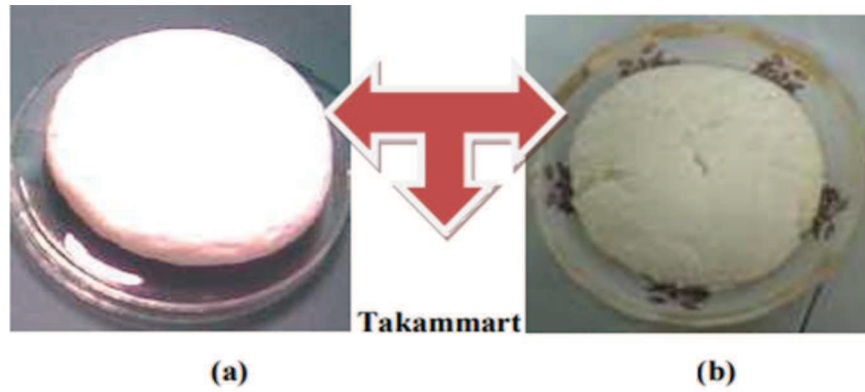


Figure 07 : (a) Takammart de chèvre, (b) Takammart de vache (**Benderouich, 2009**).

I.1.4.3. Kéméria

C'est un type de fromage traditionnel d'une valeur de consommation très remarquable dans la wilaya de Ghardaïa. Il est fabriqué par le lait cru de vache pour une fabrication industrielle et à base du lait de chèvre pour une fabrication domestique.

La Kéméria peut être également obtenu à partir d'un mélange de lait de vache ou de chèvre ou du lait de chamelle en utilisant une présure animal ou une enzyme végétale (fleure d'artichaut) à raison de 20g pour 20 litre sont introduite dans le lait pendant 1/2 heure jusqu'à sa coagulation. Après séparation du caillé et lactosérum, il y a moulage (**Harrouz et Oulad hadj, 2007**).



Figure 08 : Kéméria du lait de vache (**Benderwich, 2009**).

I.1.4.4.Ighounan

C'est un fromage fabriqué en Kabylie à partir du colostrum (premier lait de vache venant de mettre bas). Le lait est chauffé et coagulé, puis égoutté et mis dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée. Le fromage formé est découpé puis consommé tel quel (**Mahamedi, 2015**).

I.1.4.5.Madghissa

Il est connu dans la zone du Chaouia coté Est du pays. Il est préparé avec la klila fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu doux jusqu'à séparation du caillé et lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi obtenu est une pâte jaune salée et élastique (**Aissaoui, 2003**).

I.1.4.6.Aoules

Il est fabriqué à partir du lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, l'égouttage se fait dans une paille, ensuite, il est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil, le fromage obtenu à une pâte dure (matière sèche représente 92%). Il peut être consommé en mélange avec les dattes. (**Djoughri et Madani, 2015**).

I.1.4.7.Ibakhbakhane

Originnaire de la région des Aurès, l'Ibakhbakhane est produit à partir d'une mixture de Frik d'orge (Marmaz) et de Lben soumis à une fermentation à des températures inférieures à 20 °C par immersion dans un puits pendant 2 à 5 jours. (**Mahamedi, 2015**).

I.1.4.8.Adhghass

Il est produit dans la région des Aurès, il est fabriqué à partir d'un mélange de colostrum et d'œufs qui est ensuite cuit. (**Mahamedi, 2015**).

I.1.4.9.Aghoughlou

Il est fabriqué en Kabylie, il est obtenu à partir du lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier. (**Mahamedi, 2015**).

Tableau 02 : La différence entre Fromages traditionnels Algériens.

Fromage	Matière première	Ajout	Conservation	Observation
Bouhezza	Lait et lben	Piment rouge	dure	Salage, Egouttage et l'affinage sont réalisés simultanément (Zaidi, 2002)
Jben	Lait	Présure animale et épices		Peu salé ou additionné d'épices ou de plantes aromatiques (Abdelaziz et Ait Kaci, 1992)
Klila	Lben		frais	Additionnée à certains plats traditionnels (Touati, 1990)
Takammart	Lait	Présure animale		Peut subir un affinage durant un mois (Hallal, 2001)
Kémaria	Lait	Présure animale et végétales	frais	Consommé frais avec le thé
Lebaa	colosterum	Parfois des œufs	frais	Salé puis bouilli (Lemouchi, 2008)
Méchouna	Lait cru	Lben ou Rayeb et sel		consommé frais avec la galette (Lemouchi, 2008)
Medghissa	Lait frais	Klila	frais	pâte jaune salée et élastique (Aissaoui, 2003)



Chapitre II
Coagulants des fromages

II.1. Les coagulants d'origine animale : La présure

II.1.1. Historique

Jusqu'à 1950, l'utilisation en fromagerie de la présure comme agent coagulant du lait était prédominante. Les décennies suivantes ont ensuite connu une pénurie mondiale en présure avec une fluctuation des prix en parallèle avec une production croissante en fromage.

Cette situation a stimulé la recherche de succédans de présure convenables. Ainsi, de nombreuses protéases d'origine végétale, microbienne et animale ont été étudiées.

II.1.2. Définition

Les enzymes coagulantes d'origine animale sont des protéases gastriques, les plus employés sont la présure. La présure de veau est l'agent coagulant industriel utilisé pour la coagulation du lait en vue de la fabrication de la majorité des fromages (**Alais, 1984**).

Selon la fédération internationale du lait (FIL), la dénomination «Présure» est donnée à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants abattus avant sevrage. Elle contient en réalité deux fractions actives, l'une, majeure, constituée par la chymosine, l'autre, mineure, par la pepsine. Au pH du lait (6,2-6,6), la chymosine représente plus de 80 % de l'activité coagulante, la sécrétion de chymosine s'arrête au moment du sevrage lorsque des aliments solides sont présents dans la ration alimentaire, la production de pepsine s'accroît alors très fortement et devient dominante (**Belbeldi, 2013**).



Figure09 : Caillette de Chevreau (**Benderwich, 2009**).



Figure 10 : Caillette d'agneau (**Boufeldja, 2017**).

II.1.3. Les composants de la présure

II.1.3.1. La Chymosine

Elle est sécrétée par la caillette des jeunes ruminants non sevrés. La forme inactive de la chymosine est la prochymosine, elle est transformée en enzyme active par un processus autocatalytique accéléré par les ions H^+ (**Otani et al., 1991**).

La chymosine (EC 3,4,23,4) appartient à la classe des protéase à acides aspartiques et est utilisée pour coaguler le lait dans la production des fromages. Son mécanisme d'action est basé sur la rupture de la liaison Phe 105- Met106 de la caséine k bovine (**Drohse et Foltmann, 1989 ; Roseiro et al., 2003**), elle cause la déstabilisation des micelles de caséine (**Daviau et al., 2000**). Il en résulte la coagulation du lait et la formation d'un coagulum notamment le fromage.

II.1.3.2. La pepsine

La pepsine est le constituant mineur de la présure dont la sécrétion gastrique ne devient prépondérante qu'après sevrage (**Ramet, 1997**). A l'opposé de la chymosine, la pepsine possède une activité protéolytique élevée et une faible activité coagulante. D'après (**Broome et Hickey, 1990**), 20% seulement de l'activité coagulante est assurée par la pepsine dans la fabrication fromagère (Cheddar, Emmental,...).

- ❖ **La pepsine bovine** est un des constituants mineurs normaux de la présure, (**Alais, 1974 ; Fox, 1969 ; cité par Ernstrom, 1983**). Elle est extraite des caillottes de bovidés adultes, et son poids moléculaire est de 33400 Da.

L'activité coagulante de la pepsine bovine n'est pas aussi dépendante du pH que celle de la pepsine porcine, et peut coaguler le lait à des pH supérieurs à 6.9. (**Ramet, 1997**).

- ❖ **La pepsine de poulet** est extraite du pro ventricule ou ventricule succenturié qui est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne, situé au-dessus du gésier, il est revêtu d'un épithélium de cellules cylindriques.

Le pepsinogène du poulet est composé de 387 résidus d'acides aminés avec un poids moléculaire de 43000 Da. La pepsine est composée de 308 résidus d'acides aminés et un poids moléculaire de 35000 Da (**Bohak, 1969**).

Le pH optimum de la pepsine du poulet est de 2.8. L'enzyme reste stable à pH 8, et devient inactive à pH 8,5 (**Bohak, 1969**).

Les travaux de (**Green et al., 1984**), ont montré que le Cheddar préparé par un mélange de pepsine de poulet et de pepsine porcine était similaire à celui préparé par de la présure. (**Gordin et Rosenthal, 1978**) ont utilisé la pepsine de poulet pour la fabrication de l'emmental et un autre fromage traditionnel de type Kashkaval, qui sont des fromages à pâte molle ; ils ont obtenu de meilleurs résultats et des fromages de qualité comparable à celles obtenues par la présure.

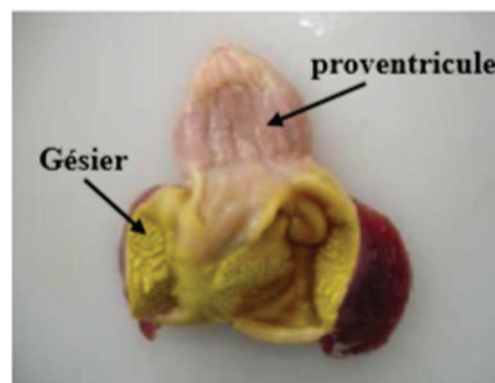


Figure 11 : Complexe stomacal du poulet (Bohak, 1969).

- ❖ **La pepsine porcine**, l'extraction et l'utilisation de la pepsine porcine ont débuté durant la première guerre mondiale pour pallier une pénurie de la présure, mais elle n'a été réellement industrialisée qu'à partir des années 60. Elle est extraite de l'estomac de porcs sous forme inactive, puis activée par acidification à pH 2. Son poids moléculaire est de 34500 Da (**Ernstrom, 1983**). L'emploi de la pepsine porcine présente pour la coagulation du lait des difficultés, à cause d'une activité protéolytique supérieure à celle de la présure, avec présence d'arrière-goût et d'amertume pour certains fromages (**Brulé et Lenoir, 1997**).

II.1.4. Hakka

II.1.4.1. Définition

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

II.1.4.2. Origine

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

II.2. Coagulants d'origine végétale

Les protéases d'origine végétale sont très nombreuses. C'est des préparations coagulantes provenant du règne végétal, elles sont extraites à partir de divers organes de plantes supérieures. Parmi les espèces, on peut citer le gaillet, l'artichaut, le chardon qui ont été et (ou) sont encore utilisés dans des fabrications de fromages fermiers, en particulier dans l'ouest du bassin Méditerranéen (Espagne, Portugal, Algérie, Tunisie, Maroc...).

D'autres extraits coagulants ont été obtenus à partir de plantes tropicales, les plus connus sont la papaine extraite d'une plante équatoriale et tropicale (*Carica papaya*), la broméline extraite de l'ananas (*Ananas comosus*), la ficine issue de la figue (*Ficus glabrata*), la fleur d'artichaux et la fleur du chardon.

Ces diverses préparations végétales ont donné des résultats assez décevants en fromagerie car elles possèdent le plus souvent une activité protéolytique très élevée qui se traduit par l'apparition des inconvénients technologiques majeurs. L'activité coagulante est d'autre part très variable car elle est fortement influencée par l'état de maturité de la plante et par les conditions de collecte et de stockage. De ce fait, l'emploi de ces protéases coagulantes est toujours resté limité aux aires locales de production (**Veisseyre, 1979**).

- **La papaïne** : La papaïne extraite du latex de *Carioca papaya*, est caractérisée par une activité coagulante assez forte, mais également un fort pouvoir protéolytique (**Ernstrom et Wongt, 1983 ; Cuvelier, 1993**).
- **La ficine** : est une sulfhydryl enzyme, extraite du latex de *Ficus genus* ou *Ficus carica*. Comme la papaïne, elle a un pouvoir coagulant important mais son utilisation est limitée par son fort pouvoir protéolytique.
- **La broméline** : est une enzyme extraite de l'ananas (*Ananas comosus*), elle a été considérée comme substituant possible de la chymosine. Les travaux de (**Murachi, 1970**) cité par (**Ernstrom, 1983**), ont prouvé qu'elle a un pouvoir protéolytique défavorable au rendement et à la qualité organoleptique dans l'industrie fromagère.
- **Le chardon** : (*Cynara cardunculus* L) pousse sur les sols argileux dans des endroits pierreux. Il est utilisé pour coaguler principalement le lait de brebis. Son utilisation dans le lait de vache provoque une modification de texture et de goûts (plus acide et amer) des produits laitiers du fait de son activité protéolytique élevée (**Chazarra et al., 2007**); (**Jacob et al., 2011**).
- **L'artichaut** : (*Cynara scolymus* L) possède les mêmes propriétés coagulantes que le chardon dont leur activité coagulante résulte de la présence des protéinases aspartiques à caractère acide qui rompent la liaison phénylalanine¹⁰⁵-méthionine¹⁰⁶ de la caséine-k. Ces protéinases appelées cardosine A et cardosine B possèdent des caractéristiques et des activités similaires à la chymosine et la pepsine (**Silva et al., 2003**).

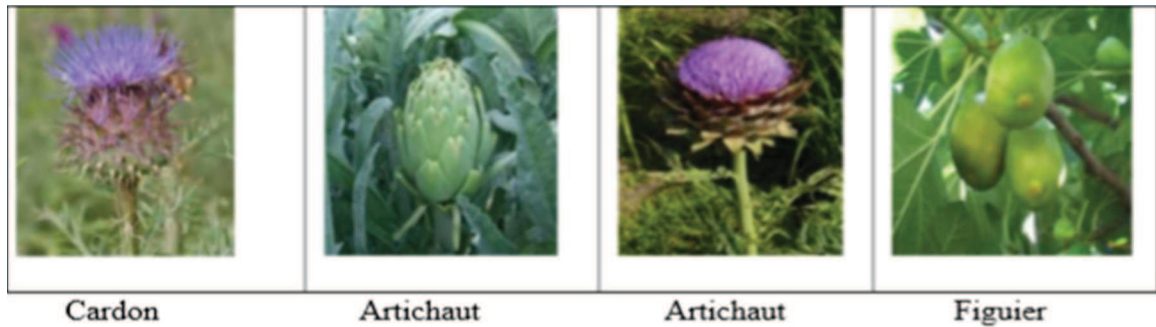


Figure 12 : Les espèces végétales utilisées pour la coagulation du lait (Lahssaoui, 2009).

II.3.Coagulants d'origine microbienne

L'industrie de fermentation s'est intéressée à la production de protéases susceptibles de remplacer efficacement et à moindre coût la présure, à partir de la culture de microorganismes. Dans ce but, de multiples espèces de bactérie et de champignons inférieurs ont été étudiées afin de pallier à la pénurie mondiale en présure (Dalglish, 1997).

On distingue deux catégories de protéases microbiennes : les succédans d'origine bactérienne et les succédans d'origine fongique.

- ❖ **Les enzymes d'origine bactérienne**, ce sont surtout les souches du genre *Bacillus*. Leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale et moins bonne que celle des enzymes produites par les moisissures. Les caillés obtenus manquent de cohésion du fait d'une trop forte activité protéolytique par comparaison à la présure animale (Alais, 1984).

- ❖ **Les enzymes d'origine fongique**, contrairement à celles d'origine bactérienne, elles ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure, les préparations commerciales employées actuellement proviennent de trois genres de moisissures, *Cryphonectria parasitica*, *Rhizomucor pusillus* et *Rhizomucor Miehei* (ROA et al., 1999).

Tableau 03 : Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (Mietton, 1991).

Origine		Enzyme
Animale	Ruminant :	Chymosine +Pepsine
	-Veau	
	-Chevreau	
	-Agneau	Pepsine porcine Pepsine aviare
	-Bovin adulte	
	Porc	
	poulet	
Végétale	Figuier	Ficine
	Chardon+artichaut	Cardosine A et B
	Ananas (tige)	Bromeline
microbienne	Moisissure :	Protéase de Mm, Mp, Cp
	- <i>Mucor mehel</i>	
	- <i>Mucur pusillus</i>	
	- <i>Aspergillus niger</i>	Chymosine « génétique »
	Levures :	Chymosine « génétique »
	- <i>Kiuywromyes</i>	
	<i>lactis</i>	
Bactérie :	Chymosine « génétique »	
- <i>Echerichia .coli</i>		
	- <i>Bacillus subtilis</i>	



Chapitre III
Les bactéries lactiques

III.1. Définition

Les bactéries lactiques (LAB) sont des coques ou des bâtonnets, Gram positif, immobiles, non sporulées, catalase négative et généralement nitrate réductase négative. Elles sont aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles. En présence d'oxygène, elles sont incapables de phosphorylation oxydatives car elles ne peuvent pas synthétiser les cytochromes et les enzymes à noyau hème. Elles sont capables de croître dans un interval de températures allant de 5 °C à 45 °C. Le pH optimal de croissance varie de 5,0 à 9,0 mais elles tolèrent les milieux acides à pH 3,2 et alcalins à pH 9,6 (**Caplice et Fitzgerald, 1999**) ; (**Van de Guchte et al., 2002**). Les LAB ont des besoins complexes en facteurs de croissance, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques, la vitamine B et les acides gras. C'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (**Larpent, 1989** ; **Novel, 1993**).

III.2. Habitat

Les LAB sont très répandues dans la nature, elles peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique. Dans certains écosystèmes comme le lait elles sont dominantes, dans d'autres elles sont minoritaires. Leurs grandes exigences nutritionnelles les associent à des environnements naturels particulièrement riches en nutriments : plantes, animaux, produits laitiers et carnés. Grâce à des phénomènes de synergie ou de coopération, différentes espèces de LAB sont très souvent associées dans un habitat donné (**Marshall, 1987**).

III.3. Principaux genres des bactéries lactiques

III.3.1. Lactococcus

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

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

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

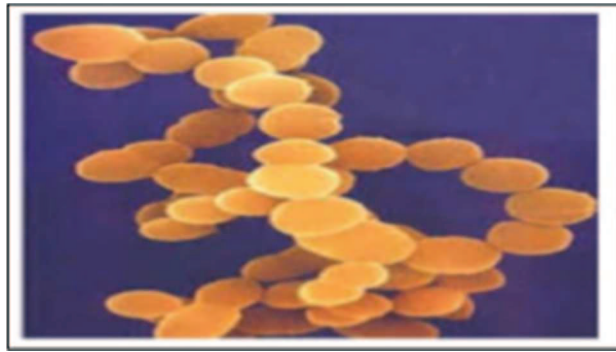


Figure 13 : Lactococcus (Khater et Ghefar, 2017).

III.3.2.Lactobacillus

Ils sont parmi les genres les plus utilisés en agroalimentaire et la nutrition humaine. Ces bactéries ont de formes bacillaires et ont tendance à former des chaînettes. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives ou parfois micro aérophiles. Elles fermentent le sucre donnant de l'acide lactique comme seul produit de fermentation (**Oucherif et Sellama, 2015**).

Les lactobacillus se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire : homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts (**Tormo, 2010**).

- **Les homofermentaires stricts** : produisent exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. Helveticus* (**Bouadjaib, 2013**).
- **Les hétérofermentaires facultatifs** : sont capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitant. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (**Rezgui et Zoghlami, 2014**).
- **Les hétérofermentaires stricts** : ils fermentent les hexoses en acide lactique, en acide acétique ou en éthanol et CO₂. Ils dégradent les pentoses en acide acétique et en acide lactique. Ces bactéries produisant lors de la fermentation du glucose et du gluconate en plus du CO₂. (**Streit, 2008**).

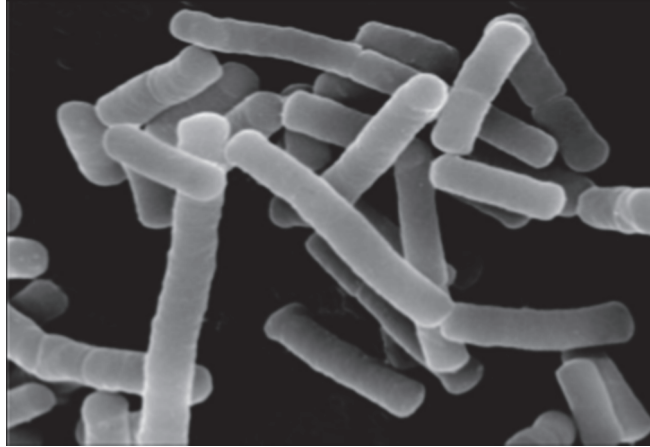


Figure 14 : Lactobacillus (Djoughri et Madani, 2015).

III.3.3. Streptococcus

Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S.pyogenes* et *S.agalactiae* . D'autre sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S.mutans*). Ces espèces étant rarement rencontrées dans les aliments. *Streptococcus thermophilus* est la seule espèce de streptocoque qui soit utilisée en technologie alimentaire, *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat : lait et les produits laitiers et son caractère non pathogène (Hamiroune et al., 2014).



Figure 15 : Streptococcus (Khater et Ghedar, 2017).

III.3.4. Leuconostocs

Ce sont des coques lenticulaires en paires ou en chainettes, mésophiles, qui possèdent un caractère hétéro fermentaire marqué, avec production d'acide lactique, de CO₂ et de l'éthanol.

Elles sont classées en quatre espèces : *Ln mesenteroides*, *Ln paramesenteroides*, *Ln lactis* et *Ln oenos*, (Gonzalez, 2007).

Elles sont responsables de contaminations et d'altérations de divers produits tels que les boissons acides et sucrés. Elles sont utiles dans certains fromages car elles facilitent leur ouverture par la production du CO₂ (Kihel, 1996).

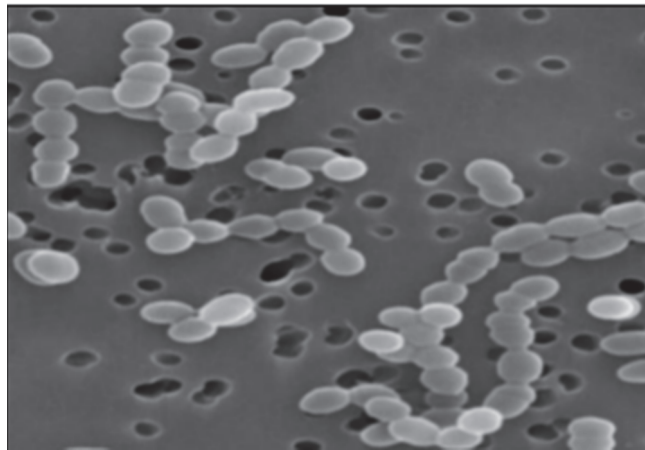


Figure 16 : Leuconostoc (Djoughri et Madani, 2015).

III.3.5 Entérocooccus

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux, qui sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *Entérocooccus faecalis* et les espèces proches. Ils ont un métabolisme homofermentaires (Ziani et Gattout, 2008).

Les entérocoques jouent un rôle dans le développement des caractéristiques sensorielles des fromages. Certaines souches sont d'ailleurs utilisées comme levains lactiques (Tormo, 2010).

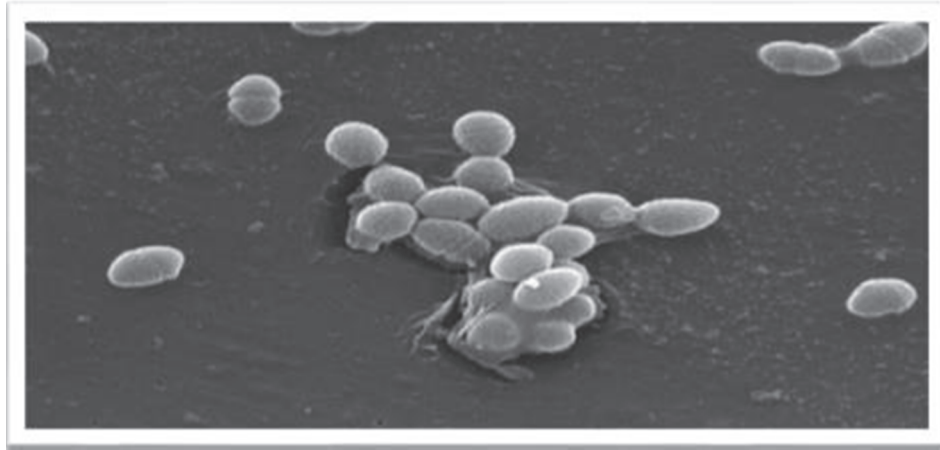


Figure 17 : Enterococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus>).

III.4. Intérêt des bactéries lactiques

Les LAB jouent un rôle important dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

III.4.1. Dans l'industrie alimentaire

Les LAB sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant qu'agents protecteurs dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences croissantes des consommateurs en produits alimentaires (**Ababsa, 2012**). Elles jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme cultures ajoutées sous des conditions contrôlées (**Mechai, 2009**). Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production des composés aromatiques. Elles fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio conservation des denrées alimentaires (**Tabak et Bensoltan, 2011**). Les LAB sont connues par leur capacité à inhiber dans l'aliment les bactéries pathogènes et de détérioration (**Achemchem et al., 2004**).

III.4.2. Dans le domaine thérapeutique

Les LAB apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire. Elles sont capables de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**Ababsa, 2012**).



Partie II
Analyse d'articles



Matériels et méthodes

Article 1 : Biodiversité des bactéries lactiques dans le fromage blanc marocain (Jben).

(Ouahghiri et al., 2005)

Le fromage blanc marocain est un produit laitier traditionnel connu et très apprécié des consommateurs depuis des siècles. Il est largement fabriqué et consommé au Maroc, notamment pendant le mois du jeûne au « Ramadan ».

De nos jours, le Jben est également préparé à partir du lait pasteurisé. Les caractéristiques finales d'un Jben typique sont variables et affectées par la préparation du fromage. Sa production n'est pas conforme aux normes d'hygiène officielles et autres normes réglementaires et suit des circuits de commercialisation informels.

La microflore du Jben est dominée par les LAB présentes dans une gamme d'au moins 10^8 à 10^9 cfu/g.

L'objectif de ce travail était d'étudier la diversité des LAB dans les fromages à pâte molle marocains traditionnellement produits dans huit régions différentes. Pour l'identification, la galerie API 50CHL, SDS-PAGE de protéines de cellules entières et rep-PCR utilisant l'amorce (GTG)₅, ont été utilisées.

1. Isolement du LAB et conditions de culture

Le fromage blanc à pâte molle traditionnel a été prélevé dans huit régions différentes du Maroc (**tableau 1**).

Les échantillons ont été stockés au réfrigérateur jusqu'à leur arrivée au laboratoire pour les analyser. Des dilutions au dixième ont été étalées sur la gélose Man-Rogosa-Sharpe (MRS) supplémentée en acide sorbique et incubées dans les conditions suivantes : (1) microaérophile à 37 ° C et (2) aérobie à 30 ° C.

Au total, 164 souches des LAB à Gram positif, catalase négative et oxydase négative ont été isolées. Toutes les souches ont été conservées sous forme de stocks congelés à -80 ° C dans un bouillon MRS supplémenté avec 15% de glycérol.

2. Souches de référence

Les souches de référence utilisées pour l'identification des isolats LAB ont été obtenues à partir de la BCCM/LMG Bacteria collection (<http://www.belspo.be/bccm/lmg.htm>): *Enterococcus durans* (LMG 12283, LMG 12903, LMG 10746^T); *Enterococcus faecalis* (LMG 7937^T, LMG 7938); *Enterococcus faecium* (LMG 8147); *Lactobacillus brevis* (LMG 11434); *Lactobacillus plantarum* (LMG 6907^T; LMG 18021); *Lactobacillus rhamnosus* (LMG 6400^T); *Lactobacillus sake* subsp. *carnosus* (LMG 17302^T); *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (LMG 9441; LMG 7930); *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (LMG 6897^T); *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (LMG 6909^T); *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (LMG 6908^T).

3. Identification biochimique et phénotypique des LAB

Tous les isolats de LAB ont été identifiés par SDS-PAGE de protéines des cellules entières. Des conditions de culture et des procédures d'extraction standardisées ont été utilisées.

La préparation d'extrait de cellules entières a été réalisée selon la méthode décrite pour les bactéries Gram positives (**Pot et Janssens, 1993**). La séparation des extraits protéiques par SDS-PAGE a été réalisée comme décrit précédemment (**Temmerman et al., 2003**).

Les modèles de protéines numériques ont été normalisés à l'aide du progiciel GelCompar II. Les isolats ont été identifiés par comparaison de leurs profils avec ceux de la base de données interne disponible à BCCM / LMG Bacteria Collection.

Trente-quatre isolats de LAB ont en outre été identifiés par des bandelettes API 50 CH avec du milieu API 50 CHL. Les tests ont été entrepris en suivant les instructions du fabricant et les résultats ont été lus après deux jours d'incubation à 30 ° C. L'identification employait le progiciel API LAB fourni par le fabricant.

4. Empreinte génomique rep-PCR

La rep-PCR a été appliquée aux 164 souches. L'ADN total a été extrait (**Versalovic et al., 1994**), l'amorce utilisée était la (GTG)₅, (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') (**Gevers, 2001**). Les amplifications par PCR ont été effectuées avec un thermocycleur à ADN Gene Amp^R PCR System 2700.

Les produits de PCR ont été séparés dans un gel d'agarose à 1,5% (15 cm sur 20 cm) pendant 16 h à une tension constante de 2 V cm^{-1} dans 1X Tris Acétate EDTA (TAE) à 4° C .

Les profils de rep-PCR ont été visualisés après coloration au bromure d'éthidium sous lumière ultraviolette, suivi d'une capture d'image numérique à l'aide d'une caméra CCD 570 LTV.

Les empreintes digitales résultantes ont été analysées par le progiciel GelCompar II.

Article 2 : Caractérisation et identification des bactéries lactiques isolées du fromage traditionnel (Klila) préparé à partir du lait de vache.

(Guetouache et Guessas, 2015)

Différents types de produits laitiers fermentés existent dans le monde. Leur nature dépend du type de lait utilisé, du prétraitement, des conditions de fermentation et du traitement ultérieur. La fermentation du lait fait principalement intervenir des LAB.

Parmi ceux-ci, le Klila est un fromage de variété à pâte dure fabriqué en utilisant les procédures traditionnelles à la maison, sans utiliser de culture starter.

Pendant de nombreux siècles, les LAB ont servi à fournir une forme efficace de conservation naturelle. En outre, elles déterminent fortement la saveur, la texture et, souvent, la valeur nutritionnelle des produits alimentaires et des aliments pour animaux.

L'objectif de ce travail avait pour but d'isoler et de déterminer la taxonomie d'un grand nombre de LAB provenant d'un produit laitier traditionnel Klila préparé à partir du lait de vache et la caractérisation de différents groupes de microbiote, et de bactéries productrices de substances antimicrobiens en utilisant des méthodes classiques.

1. Collecte des échantillons

Les divers échantillons de fromage traditionnel Klila étudiés ont été collectés dans la zone rurale de la province de Djelfa. Ils ont été transportés au laboratoire sous réfrigération à 4°C et analysés immédiatement. La préparation de l'échantillon a été réalisée en dissolvant 5 g de Klila dans 25 ml d'eau distillée à pH neutre. La mesure du pH des échantillons a été effectuée par un pH-mètre avec une électrode combinée de type Orion Research et préalablement étalonnée avec des solutions tampons à pH 4 et 7.

10 ml d'échantillon ont été transférés dans un petit bécher et 5 gouttes de phénolphtaléine à 1% ont été ajoutées à l'indicateur. L'échantillon a été titré avec 0,1 N de NaOH. L'échantillon doit être à peine rose (**Rhiat et al., 2013**).

2. Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique a été réalisée pour la recherche dans le fromage Klila de :

- la flore mésophile aérobie totale (FAMT) dénombrée sur gélose PCA (plate count agar), incubée pendant 24 h à 30°C.
- Les coliformes totaux sur gélose au citrate de désoxycolate (DCL) incubée pendant 24 h à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.
- Les streptocoques fécaux ont été dénombrés sur azide de sodium après incubation pendant 48 h à 37°C.
- Les staphylocoques ont été dénombrés sur milieu de Chapman contenant une forte concentration de NaCl (75%) tolérée uniquement par les staphylocoques avec une incubation à 37°C pendant 24 à 48 h (**Labioui et al., 2009**) ; (**Bouzaid et al., 2012**),
- Pour les Salmonella, un pré-enrichissement sur milieu sélénite-cystéine a été prévu pendant 12 h à 37°C, suivi d'un enrichissement sur bouillon de tétrathionate pendant 24 h à 37°C, puis le dénombrement et l'isolement ont été effectués sur milieu SS (Salmonella-Shigella) après 24 h d'incubation à 37°C.
- Les sulfito-réducteurs-clostridies ont été comptés dans le milieu de culture renforcé Clostridium agar en tubes pour favoriser les conditions anaérobies, avec traitement thermique pendant 10 min à 80°C pour activer les spores de clostridies : elles peuvent persister sous une forme latente dans le lait, germer dès que les conditions sont favorables et sécréter des substances toxiques. Les tubes sont incubés pendant 48 h à 37°C, Seules les colonies noires sont comptées.

L'analyse microbiologique est réalisée en trois étapes :

- a- Préparation des dilutions.
- b- Ensemencement dans le milieu de culture.
- c- Dénombrement des microorganismes.

Le dénombrement des LAB qui sont responsables de la fermentation et de l'acidification du lait a été effectué sur gélose MRS (**De Man et al., 1960**) et incubé pendant 48 h à 30°C.

Le dénombrement des levures et des moisissures a été effectué sur gélose dextrose de pomme de terre (PDA), acidifiée avec de l'acide tartrique à 10% jusqu'à pH 3,5 et incubée à 30°C pendant 3 à 5 jours.

3. Étude des microflore lactiques

3.1. Isolement et purification des bactéries lactiques

Chaque échantillon de 25 g a été pesé de manière aseptique et homogénéisé en ajoutant 225 ml de solution saline physiologique pour la première dilution (10^{-1}). Les dilutions suivantes (10^{-2} à 10^{-7}) ont été effectuées dans une solution saline stérile à 0,85%.

Pour l'isolement des LAB, 1 ml des dilutions appropriées a été étalé sur un milieu agar MRS et M17. Les plaques ont été incubées à 30 et 45°C pendant 72 heures dans des conditions aérobies et anaérobies. D'autres dilutions décimales ont été préparées à partir de ce mélange homogénéisé (Kivanç et al., 2011) ; (Terzic et al., 2014).

Les 0,1 ml de chaque dilution ont ensuite été mis en sous-culture, en double, dans les géloses M17 et MRS utilisées pour isoler les LAB. Afin d'empêcher la croissance des levures, les milieux ont ensuite été supplémentés avec 100 mg/l de cycloheximide avant d'être incubés aux températures appropriées pendant 2 à 3 jours.

Les géloses MRS ont été incubées en anaérobiose à 42, 35 et 30°C pendant trois jours, afin d'obtenir une température optimale pour la croissance des lactobacilles thermophiles, des lactobacilles mésophiles et des Leuconostoc.

Les plaques de gélose M17 ont également été incubées en aérobiose à 30°C pendant 2 jours, afin d'établir une température optimale pour la croissance des lactocoques.

Pour effectuer le comptage des germes totaux, les dilutions les plus élevées ont été utilisées (Azhari, 2011). Les colonies ont été sélectionnées au hasard et l'étalement en stries a ensuite été utilisé pour purifier les isolats qui ont ensuite été conservés dans deux conditions différentes, notamment à 4°C pour les plaques MRS et M17 et à -20°C pour les bouillons M17 et MRS complétés par 20% de glycérol pour une utilisation ultérieure (Mathara et al., 2004).

Tous les isolats ont été examinés pour la réaction de Gram, la production de catalase et l'activité d'oxydase. Les isolats Gram-positifs et catalase et oxydase-négatifs ont été conservés pour des analyses ultérieures. La purification des isolats a été effectuée par la technique de l'étalement répété en utilisant le même milieu gélosé jusqu'à l'obtention de cultures pures. Ces cultures ont été transférées et maintenues sur des plaques de gélose de MRS. Des tubes en double des isolats ont été préparés, un tube a été stocké au réfrigérateur comme culture mère, et l'autre tube a été utilisé pour les études d'identification (Neti et Erlinda, 2011).

3.2. Identification des isolats de bactéries lactiques

Les isolats ont été identifiés à l'aide des tests suivants : production d'ammoniac à partir d'arginine, production de CO₂ à partir de glucose, et croissance à différentes températures (10, 15, 30, 37 et 45°C), croissance à différentes valeurs de pH, et croissance à différentes concentrations de NaCl (**Schillinger et Lucke, 1989**).

Chaque souche examinée a été mise en culture deux fois pendant toute une nuit dans un bouillon MRS. Toutes les souches ont été initialement testées pour la réaction de Gram, la production de catalase et la formation de spores (**Harrigan et McCance, 1976**).

La morphologie cellulaire et les caractéristiques des colonies sur gélose MRS ont également été examinées, et une séparation en groupes phénotypiques a été faite :

- Seuls les isolats Gram-positifs et catalase-négatifs ont été identifiés.
- La croissance à différentes températures a été observée dans le bouillon MRS après incubation pendant 5 jours à 15, 37 et 45°C.
- L'hydrolyse de l'arginine a été testée dans M16BPC (**Thomas, 1973**).
- Une croissance en présence de 4 et 6,5% de NaCl a été réalisée dans le bouillon MRS pendant 5 jours.
- L'utilisation du citrate a été réalisée dans le milieu de Kempler et Mc Kay (1980).
- La production d'acétone à partir du glucose a été déterminée par le test de Voges-Proskauer (**Samelis et al., 1994**).

Pour réaliser les tests biochimiques, un milieu de bouillon MRS-BCP (BCP 0,17 g/l) a été utilisé. La source de carbone a été ajoutée au milieu de base stérile sous forme de solution stérilisée par filtration à une concentration finale de 1%. L'utilisation des hydrates de carbone a été évaluée à la 24ème et à la 48ème heure.

Toutes les souches ont été testées pour la fermentation des 15 sucres suivants : L-Arabinose, ribose, D-xylose, mannitol, sorbitol, cellobiose, maltose, lactose, mélibiose, tréhalose, mannose, rhamnose, esculine, saccharose et D-raffinose. Pour assurer des conditions anaérobies, deux gouttes de paraffine liquide stérile ont été placées dans chaque tube après inoculation.

3.3. Cinétique de la production d'acide lactique en fonction du pH et de l'acidité

Les souches ont été initialement cultivées sur bouillon MRS puis dans du lait écrémé reconstitué stérile complété par de l'extrait de levure (0,3%) et du glucose (0,2%) pour deux sous-cultures successives.

Du lait écrémé reconstitué stérile (100 ml) a été inoculé avec 1% d'une préculture de 18 heures (**Durlu et al., 2001**). Après une agitation douce, la culture a été divisée en tubes (10 ml/tube) et incubée à 30°C.

A un intervalle régulier, des échantillons ont été prélevés aseptiquement toutes les 2 h. Un volume de 1 ml d'échantillons de culture a été utilisé pour faire des dilutions en série appropriées jusqu'à 10^{-8} en incorporant 1 ml dans 9 ml d'eau saline stérile dans des tubes stériles.

Le dénombrement des LAB a été déterminé en utilisant un milieu sélectif, la gélose MRS. Les plaques ont été incubées à 30°C pendant 48 h. Après incubation, les colonies ont été dénombrées et enregistrées en unités formatrices de colonies (cfu/ml). Seules les plaques contenant entre 30 et 300 colonies ont été retenues (**Khedid et al., 2009**). Le temps de génération et le taux de croissance ont été calculés dans la phase de croissance exponentielle. La cinétique des changements de pH et d'acidité a également été suivie en mesurant le pH et l'acidité Dornic.

Pour mesurer l'acidité Dornic, 5 gouttes ont été ajoutées de solution alcoolique de phénolphthaléine à 1% comme indicateur coloré à 10 ml d'échantillons de culture. L'hydroxyde de sodium N/9 (NaOH) a été titré jusqu'à ce que l'échantillon change de couleur du blanc au rose clair. Le volume de NaOH coulé a été enregistré. L'acidité a été exprimée en degrés Dornic (°D) ($1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ g d'acide lactique/litre}$ et $\text{acidité} = \text{volume de NaOH} \times 10$) (**Va'zquez et al., 2013**). L'acidité titrable de l'acide lactique a été calculée selon la (**FAO, 1986**).

3.4. Dépistage de l'activité antagoniste

Les multiples méthodes qui ont été décrites pour la détection d'isolats d'acide lactique producteurs de bactériocine reposent sur le principe que ces substances protéiques peuvent diffuser dans un milieu de culture solide ou semi-solide qui a été préalablement inoculé avec une souche cible (*Staphylococcus aureus* ATCC 65 38). L'inhibition par production de bactériocine est détectée par la capacité du filtrat à ralentir ou arrêter la croissance de la souche cible.

Les isolats de LAB après culture sur milieu MRS à pH 6,8 et incubation à 30°C ont été testés pour leur activité antibactérienne suivant la méthode de diffusion agar TSA (Tryptic Soy Agar) (**Barefoot et Klaenhammer, 1983**). Le surnageant contenant l'extrait brut est récupéré par centrifugation ajustée à un pH neutre de 6,5 à 7 avec du NaOH 1N neutralisant l'extrait bactériocinique qui élimine l'effet des acides organiques. L'extrait a ensuite été filtré sur des filtres millipore stériles de 0,22 μ de diamètre. L'activité antimicrobienne a été établie pour chaque isolat de *Lactobacillus* sélectionné.

Des boîtes de Pétri ont été recouvertes de 15 ml d'agar fondu (1%),ensemencées avec 30 μ l d'une culture d'une nuit comme indicatrice dans lesquelles des puits ont été formés. Les puits, d'un diamètre de 2 mm et d'une capacité de 30 μ l, ont été obtenus en creusant la gélose à l'aide d'un foret à bouchon. Ensuite, 30 μ l d'une culture d'une nuit de la souche inhibitrice ont été déposés dans chaque puits. Les plaques ont ensuite été incubées en aérobiose pendant 24 heures à une température favorable à la croissance du microorganisme indicateur et ont ensuite été examinées pour détecter les zones d'inhibitions.

L'inhibition a été enregistrée comme négative si aucune zone n'a été observée autour du puits de gélose. Chaque activité antagoniste a été rapportée à 2 mm de la zone d'inhibition observée (**Mathur et Singh, 2005**).

Article 3 : Fabrication et caractéristiques du fromage Bouhezza traditionnel algérien affiné.

(Aissaoui Zitoun et al., 2011)

Plusieurs fromages traditionnels existent dans les pays méditerranéens depuis la plus haute antiquité. Beaucoup d'entre eux ne sont produits que dans des zones géographiques restreintes et sont consommés localement.

Environ 10 types de fromages traditionnels sont produits dans différentes régions d'Algérie, mais les plus connus sont le Klila et le Jben 1. Parmi les moins connus, on trouve le Bouhezza, la Mechouna et la Madeghissa dans l'est de l'Algérie (région de Chaouia), le Takammèrite et les Aoules dans le sud ou les Igounanes dans le moyen nord (région de Kabylie).

Le Bouhezza semble être le seul fromage traditionnel affiné. Les villageois produisent le fromage Bouhezza à partir de lait cru. Selon le cheptel des familles, on peut utiliser du lait de chèvre, de brebis et/ou de vache.

La particularité de son procédé est la réalisation simultanée des opérations de coagulation spontanée, de salage, d'égouttage et d'affinage dans un sac en peau d'animal naturel et perméable.

L'objectif de ce travail était de décrire sa fabrication fromagère particulière et de montrer les caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles qui en résultent.

L'étude du diagramme et les différentes analyses permettront d'établir la fiche technique du fromage Bouhezza telle que proposée par la FAO pour plusieurs fromages dans les pays en voie de développement (FAO, 1990)

1. Matière première :

Le lait cru de vache a été fournis par une ferme ayant un même troupeau de vache pendant toute la période de fabrication. Le Lben traditionnel a été obtenu par barattage et écrémage partiel du lait spontanément fermenté.

Pour la préparation de la "Chekoua" et le salage du caillé, du sel iodé a été utilisé (ENASEL, Algérie). Du piment rouge en poudre a été ajouté pour épicer le fromage.

2. Schéma de fabrication du fromage

Le schéma traditionnel de fabrication du fromage Bouhezza est illustré dans la figure 18. Les sacs de peau utilisés pour la fabrication ont été obtenus selon un schéma traditionnel. Trois peaux de chèvre ont été récupérées et laissées jusqu'à putréfaction pour enlever la toison. Elles ont ensuite été lavées et raclées pour éliminer les résidus de viande ou de graisse et enrobés de sel et de poudre de baies du Genévrier (8 jours à température ambiante). Les sacs de contention ont été obtenus après avoir fait la face externe à l'intérieur et cousu les extrémités postérieures. Après lavage et avant de recevoir la matière caillée pour le début de la fabrication du fromage, chaque Chekoua d'une capacité d'environ 10 l a été laissée pendant une nuit en contact de 2 l de Lben. Ce Lben était jeté et la fabrication du fromage pouvait commencer.

Trois expériences de fabrication ont été réalisées dans le laboratoire selon le schéma traditionnel et pendant une durée de dix semaines.

Pendant les six premières semaines, les trois Chekouates ont reçu tous les trois jours une quantité de 1,5 l de Lben salé (25g de sel /l). Selon (**Aissaoui et Zidoune, 2006**) ce temps permet principalement de couvrir et d'assurer les mécanismes de maturation. A la fin de fabrication (pendant environ 1 semaine ou un peu plus) et pour ajuster les caractéristiques organoleptiques des pâtes Bouhezza (sel et acidité), des ajouts de lait cru entier ont été effectués. Dans cette étude, les ajouts de lait entier frais ont été poursuivis jusqu'à la dixième semaine afin d'observer les évolutions.

Pendant la fabrication, les Chekouates étaient suspendu dans une pièce aérée et quotidiennement lavé et raclé sur la face externe.

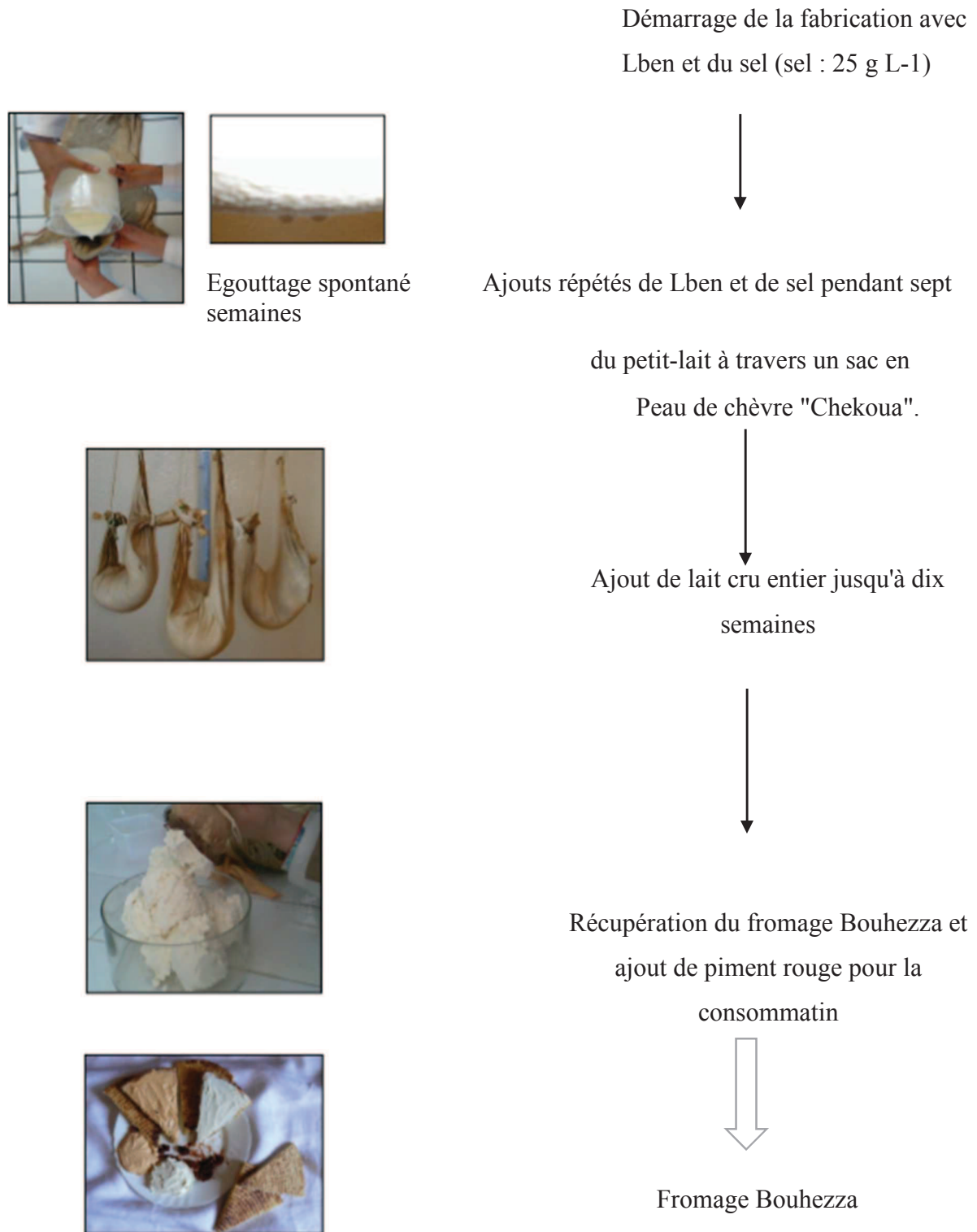


Figure 18 : Schéma adopté pour la fabrication traditionnelle du fromage Bouhezza dans un sac en peau de chèvre perméable "Chekoua".

3. Echantillonnage

Les analyses ont été effectuées sur :

Du Lben (n = 5), du lait de vache cru (n = 3) et des fromages Bouhezza expérimentaux (n = 3) à différents âges d'affinage (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 et 10 semaines d'âge).

Enfin, une fraction du fromage Bouhezza récupéré après dix semaines a été épicée en la mélangeant avec de la poudre de piment rouge fort, comme dans la consommation traditionnelle, pour une description sensorielle plus poussée.

4. Analyses physico-chimiques

- La matière sèche (MS) a été déterminée par une méthode de séchage au four à air forcé à 100°C pendant 24 h (**Afnor, 1985**).
- La graisse de fromage par la méthode Van Gulik (**Afnor, 1972**).
- Le lait et la matière grasse (MG) Lben par la méthode Gerber (**Afnor, 1990**).
- L'azote total (AT) et l'azote soluble (AS) à pH 4,6 par la méthode Kjeldahl (**FAO, 1997**) ;(**Roseiro et al., 2003**).
- Pour la teneur en protéines, un facteur de conversion de 6,38 a été utilisé.
- Le sel a été mesuré par la méthode de Volhard (**FAO, 1997**).
- La protéolyse dans le caillé a été suivie par le pourcentage de AS dans la teneur en AT (**Schlessner, et al., 1992**) ; (**Gorostiza, 2004**).
- L'acide lactique a été mesuré après titrage avec du NaOH (N/9).
- Le pH a été déterminé par électrométrie à l'aide d'un pH-mètre.

Toutes ces analyses ont été effectuées en double, à l'exception des analyses de la MS, du AT et de l'AS qui ont été effectuées en triple.

Pour le Bouhezza final et selon la classification des fromages du Codex alimentarius (**FAO, 2007**). L'humidité du fromage dégraissé (HFD g/100 g) et la matière grasse en MS (MGMS) g/100 g) ont été calculées.

5. Analyses microbiologiques

Dix grammes de fromage, préalablement chauffé à 45°C, ont été prélevés aseptiquement dans l'entaille de la Chekoua et mélangés dans 90 ml de tampon stérile de citrate trisodique à 2%, pH 7,5. Le fromage a été mélangé avec un Ultra-Turrax (1 min 9000 r min⁻¹) (**Guiraud,**

1998) des dilutions décimales de cette solution ont été faites en utilisant comme diluant une solution de Ringers stérile, qui a également été utilisée pour les analyses du Lben.

Les dilutions ont été utilisées pour le dénombrement des bactéries par des méthodes microbiologiques conventionnelles. Le dénombrement des bactéries a été effectué en double à toutes les périodes de maturation.

- La flore aérobie mésophile a été comptée sur PCA (DIFCO) [72 h/30°C],
- les lactocoques ont été dénombrés sur la gélose M17 (DIFCO) après incubation à 30°C pendant 3 jours.
- Les lactobacilles ont été dénombrés sur la gélose de MRS (DIFCO), après ensemencement en double couche et incubation à 30°C pendant 3 jours.
- Les levures et les moisissures ont été dénombrées sur la gélose Oxytetracycline Glucose (DIFCO) après incubation à 25°C pendant 5 jours.
- Les bactéries lipolytiques ont été dénombrées sur milieu Blue Victoria à 30°C pendant 72 h.
- la flore protéolytique sur agar au lait écrémé à 30°C pendant 70 h.

L'activité lipolytique se traduit par l'apparition d'un précipité bleu dû aux sels d'acide gras autour des colonies (**Atlas, 2004**).

L'hydrolyse protéolytique se traduit par une clarification autour des colonies, alors que le reste du milieu reste opaque, Les colonies de ce type sont comptées.

- Les entérobactéries ont été dénombrées sur une gélose au glucose et à la bile rouge-violet pendant 24 h à 37°C.

6. Analyses sensorielles

L'évaluation sensorielle a été réalisée pour décrire avec un test de notation les caractéristiques du fromage obtenu par la dégustation et les observations visuelles selon (**Bérodier et al., 1997**). Un panel de trente personnes non formées a évalué la texture du fromage, son odeur, son arôme, sa saveur et la persistance du goût en bouche.

Dix grammes de fromage ont été placés dans des verres de Pétri couverts et réchauffés à température ambiante pendant une heure, puis présentés aux examinateurs.

Toutes les caractéristiques sensorielles ont été évaluées de 1 à 7 points sur une échelle de points.

7. Analyses statistique

Dans ce travail, les données ont été exprimées sous forme de moyenne \pm écart-type. Les analyses statistiques ont été établies grâce à StatView 5ème version et XLSTAT 7ème version, test ANOVA pour la comparaison des moyennes, test de Tukey pour la comparaison des moyennes des groupes individuels et test de corrélation de Pearson. Le niveau de signification a été réglé à 0,05.



Résultats et Discussions

Article 1 : Biodiversité des bactéries lactiques dans le fromage blanc marocain (Jben).

(Ouahghiri et al., 2005)

Dans tous les échantillons de fromage analysés, les LAB étaient présents à des totaux entre 10^8 et 10^9 ufc /g. Cette observation est conforme aux résultats rapportés par d'autres auteurs **(Hamama, 1997) ; (Beresford et Williams, 2004)**.

Tous les isolats ont été identifiés par SDS-PAGE et l'identité a été confirmée par (GTG)₅-PCR. Pour les 34 isolats identifiés par l'API 50 CHL, seuls 22 isolats (64,70%) étaient en accord avec ceux du tableau 4.

À Casablanca et Rabat, un échantillonnage plus étendu a été réalisé, donnant respectivement 36 et 44 isolats de LAB, d'où un spectre d'espèces plus large que dans d'autres régions. Dans le cas où un seul échantillon de fromage a été analysé ils ont pu isoler au moins quatre espèces de LAB différentes.

Le regroupement basé sur (GTG)₅-PCR, qui a fourni la valeur la plus élevée, n'a révélé aucune corrélation avec l'origine géographique des échantillons.

Tous les résultats d'identification de la présente étude sont résumés dans le **(tableau 04)**.

Tableau 04 : Biodiversité des LAB dans le fromage blanc marocain

Localisation	Agadir	Casablanca	Fès	Marrakech	Rabat	Safi	Sefrou	Tetouan	Nombre d'isolats	Identification	
										Espèces ^a	Genres (nombre d'isolats) (%)
Nombre d'échantillons	1	3	1	2	6	1	2	1			
Nombre d'isolats	17	36	10	18	44	15	12	12			
ufc/g ^b	2×10 ⁹	5×10 ⁸	10 ⁹	7.5×10 ⁸		2×10 ⁸	7×10 ⁸	8.3×10 ⁸	3×10 ⁹		
	2	6		12	6	2	4	4	36	Lactobacillus plantarum (a)	Lactobacillus (56) (34%)
		8							8	Lactobacillus rhamnosus (b)	
	2	2		1	1				6	Lactobacillus paracasei (c)	
				2	1			2	5	Lactobacillus brevis (d)	
		1							1	Lactobacillus buchneri (e)	
	11	7			16	7	1		42	Lactococcus lactis (f)	Lactococcus (44) (27%)
					1				1	Lactococcus garvieae (g)	
					1				1	Lactococcus raffinolactis (h)	
	2	5	3	2	2	2	5	1	22	Leuconostoc pseudomesenteroides (i)	Leuconostoc (44) (27%)
		3	4		6	1	2	1	17	Leuconostoc mesenteroides (j)	
		1	3		1				5	Leuconostoc citreum (k)	
		2		1	2			4	9	Enterococcus durans (l)	Entérocoque (16) (10%)
		1			2	1			4	Enterococcus faecalis (m)	
					1				1	Enterococcus faecium (n)	
						2			2	Enterococcus saccharominimus (o)	
					2				2	Streptococcus sp. (p)	Streptocoque (2) (1%)
					2				2	Non identifié (q)	Non identifié (2) (1%)

Toutes les souches ont été déposées dans les Collections Coordonnées Marocaines de Micro-organismes (CCMM) et dans (BCCM/LMG).

Dans la collection de bactéries du CCMM, les numéros suivants ont été attribués :

(a) B222 → B257 ; (b) B258 → B265 ; (c) B216 → B221 ; (d) B210 → B214 ; (e) B215 ; (f) B267 → B308 ; (g) B266 ; (h) B309 ; (i) B350 → B371 ; (j) B333 → B349 ; (k) B328 → B332 ; (l) B310 → B318 ; (m) B319 → B322 ; (n) B323 ; (o) B208 → B209 ; (p) B324 → B325 ; (q) B326 → B327.

Les ufc/g correspondent à un nombre moyen.

Tableau 05 : Divergences entre les résultats de l'identification par SDS-PAGE/(GTG)₅-PCR et API 50CHL

Résultat de l'identification par SDS-PAGE/(GTG) ₅ -PCR	Nombre d'isolats	Résultat d'identification API 50CHL
<i>Enterococcus durans</i>	2	<i>Lactococcus lactis</i> (très bonne identification)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	<i>Lactococcus lactis</i> (faible discrimination)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	<i>Leuconostoc lactis</i> (excellente identification)
<i>Enterococcus faecium</i>	1	<i>Lactococcus lactis</i> (bonne identification)
<i>Lactococcus garvieae</i>	1	<i>Lactococcus lactis</i> (très bonne identification)
<i>Lactococcus lactis</i>	3	<i>Lactobacillus paracasei</i> (profil inacceptable)
<i>Leuconostoc pseudomesenteroide</i>	1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (bonne identification)
<i>Streptococcus spp.</i>	2	<i>Leuconostoc lactis</i> (bonne identification)

Les genres dominants isolés de Jben étaient :

- *Lactobacillus* (34% des isolats),
- *Lactococcus* (27%),
- *Leuconostoc* (27%),
- *Enterococcus* (10%). À l'exception du genre *Enterococcus*, des résultats similaires ont été rapportés par (Perez et al., 2000).

Au niveau de l'espèce, seuls *Leuconostoc pseudomesenteroides* était présent dans tous les échantillons examinés.

L'espèce *Lactobacillus plantarum* est présente de manière dominante dans tous les échantillons sauf un, et contribue au développement de la saveur (Albenzio et al., 2001) ; (Amarita et al., 2001) et à la production d'un agent antimicrobien protecteur du fromage (Somers et al., 2001) ; (Yiu, 1985)

Ces deux dernières espèces : *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* constituent la grande majorité des isolats (71%).

Dans une étude précédente, il a été rapporté que la microflore dominante du Jben comprend les espèces *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Lactobacillus casei* (**Hamama, 1997**). Une partie de cette différence peut s'expliquer par le fait que dans cette étude, on a utilisé principalement des tests biochimiques et physiologiques classiques qui se sont souvent avérés insatisfaisants pour l'identification des LAB (**Perez et al., 2000**), (**tableau 05**).

- Les espèces moins dominantes étaient *Lactobacillus paracasei* et *Lactobacillus brevis*, chacun étant isolé dans aux moins trois échantillons.
- Les espèces *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus buchneri* étaient encore moins largement réparties. La présence de *Lactobacillus rhamnosus* soulève des problèmes de santé car, dans certains rapports, il a été associé à des syndromes cliniques, tels que l'endocardite (**Harty et al., 1993**).
- Les espèces *Lactococcus garvieae* et *Lactococcus raffinolactis* n'ont été trouvées qu'une seule fois.
- Il s'agit également de la présence de l'espèce nouvellement trouvé *Enterococcus sacharominimus* dans le Jben marocain (**Vancanneyt et al., 2004**).

Les conditions non standardisées dans le traitement du Jben aboutissent à un produit de qualité hygiénique variable, qui peut être un véhicule pour les agents pathogènes responsables de maladies graves d'origine alimentaire telles que *Listeria monocytogenes* (**Benkerroum et al., 2000**).

L'acidification due à la présence de LAB dans le fromage blanc à pâte molle n'empêchera pas le développement et la propagation de *Listeria monocytogenes* (**Benkerroum et al., 2000**).

Selon les résultats déjà décrits par (**Hamama, 1997**), les agents pathogènes présentant un problème de santé majeur, notamment *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica* et *Listeria monocytogenes* ont été détectés dans le Jben traditionnel à des fréquences de 10%, 4,1% et 18,1%. A notre connaissance, la listériose n'a pas été associée au Jben du Maroc. Néanmoins, l'absence d'études épidémiologiques concernant la maladie dans le pays pourrait expliquer le manque de rapports sur les cas de listériose (**Benkerroum et al., 2000**).

La présence globale de *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* et *Leuconostoc mesenteroides* dans le fromage blanc à pâte molle offre la possibilité d'une utilisation standardisée de cet ensemble d'organismes comme inoculum.

A l'avenir, la composition microbienne des matrices alimentaires traditionnelles telles que Jben, Smen ou Lben sera d'avantage clarifiée en utilisant des techniques moléculaires telles que l'analyse par électrophorèse sur gel dénaturant en gradient indépendant de la culture (DGGE) (**Ercolini, 2001**) ; (**Randazzo et al., 2002**) . Néanmoins, l'application de méthodes dépendant de la culture reste intéressante car elle permet l'isolement des cultures qui peuvent être utilisées comme démarreurs pour améliorer les propriétés technologiques pour la préparation du Jben.

Article 2 : Caractérisation et identification des bactéries lactiques isolées du fromage traditionnel Klila préparé à partir du lait de vache.

(Guetouache et Guessas, 2015)

1. Analyse physico-chimique

La valeur du pH des fromages traditionnels Klila était comprise entre 3,8 et 4,8, avec une moyenne de 4,2.

L'acidité titrable des échantillons de Klila varie d'une valeur basse 68°D à des valeurs élevées 91°D ; La valeur moyenne de l'acidité titrable était de 79,4°D.

Ces valeurs sont presque similaires à celles rapportées par **(Rhiat et al., 2013) (Tableau 06)**.

2. Analyse microbiologique

- Les coliformes et les micro-organismes pathogènes, *S. aureus* et *Salmonella* n'ont pas été détectés.

- les LAB sont de loin le groupe microbien le plus important dans les produits fromagers traditionnels (Klila).

- L'analyse microbiologique a présenté une moyenne de FAMT d'environ $2,1 \times 10^3$, $1,5 \times 10^3$, $2,6 \times 10^3$, $2,1 \times 10^3$ et $2,8 \times 10^3$ cfu/ml, dans les échantillons E2, E3, E4 et E5. En outre, les Staphylocoques n'ont pas été détectés. Ces valeurs sont presque similaires à celles trouvées par **(Mennane et al., 2008)**.

- Les coliformes totaux et fécaux ont été observés dans les échantillons E3 et E5, les niveaux de coliformes (totaux et fécaux) trouvés dans deux échantillons sont inférieurs à ceux indiqués par **(Hamama et El Mouktafi, 1990)**.

- Il a été remarqué également l'absence de flore pathogène surtout pour les produits contrôlés, mais la charge en levures est de $1,2 \times 10^2$ à $1,2 \times 10^2$ cfu/ml qui est conforme aux normes **(Tableau 07)**.

- Les LAB ont été dénombrées dans les fromages traditionnels Klila en utilisant la méthode classique. Les taux de LAB présumées variaient de $0,3 \times 10^4$ à $4,2 \times 10^4$ cfu/ml avec une moyenne de $2,2 \times 10^3$.

Tableau 06 : Résultats des caractéristiques physico-chimiques du fromage traditionnel (Klila).

Caractéristiques physico-chimiques	Echantillon				
	E1	E2	E3	E4	E5
PH	3.8	3.9	4.2	4.3	4.8
°D (Acidité dornique)	68	71	79	88	91

Les valeurs de LAB trouvées dans les fromages traditionnels (Klila) étaient faibles par rapport aux niveaux de LAB déjà mentionnés dans d'autres types de produits laitiers traditionnels comme le Jben et le lait de vache (**Khedid et al., 2009 ; Labioui et al., 2009**) (**Tableau 07**).

3. Étude du microbiote lactique

Un ensemble de 132 isolats provenant du fromage traditionnel (Klila) étaient Gram-positifs, catalase-négatifs, non sporulés et en forme de bâtonnets courts ou de cocobacilli. Ces isolats ont été sélectionnés pour l'identification et l'analyse d'antagonisme.

Les résultats de l'identification par des tests physiologiques et biochimiques standard (**Tableau 08**) ont identifié les isolats comme :

- 18,94% d'isolats de *Lactobacillus plantarum*,
- 18,18% d'isolats de *Lactobacillus casei*,
- 21. 97% d'isolats de *Lactobacillus fermentum*,
- 12,88% d'isolats de *Lactobacillus acidophilus*,
- 14,39% d'isolats de *Lactobacillus brevis*,
- 03,03% d'isolats de *Lactobacillus alimentarius*,
- 06,06% d'isolats de *Lactobacillus intestinalis*,
- 04,56% d'isolats de *Lactobacillus helveticus*.

Le groupe des Lactobacilli a été reparti en trois sous-groupes selon **(Orla-Jensen, 1919)** et **(Moreik, 2011)** comme suit : *L. plantarum*, *L. alimentarius* et *L. casei subsp. casei* sont des hétérofermentaires facultatifs mésophiles.

Lactobacillus helveticus, *L. acidophilus*, *L. intestinalis* et *L. fermentum* qui sont des homo-fermentaires obligatoires thermophiles.

L. brevis qui est un hétérofermentaire obligatoire mésophile **(Azadnia et Khan, 2009)**.

La caractérisation morphologique, biochimique et physiologique des isolats a démontré que tous les isolats qui ont produit le plus d'acide lactique parmi chaque groupe sont *L. acidophilus*, *L. fermentum* et *L. plantarium*.

Tous les isolats ont fermenté les mêmes hydrates de carbone, **(Olarte et al., 2000)**. D'autres travaux ont montré que la présence de *L. plantarum* dans le fromage (Cameros) à partir du lait de chèvre a diminué le nombre d'entérobactéries et de coliformes fécaux dans le produit fini **(Tableau 08)**.

4. Cinétique d'acidification et évolution de la croissance

- La variation de l'acidification a été suivie pour tous les isolats **(Figure 19)**.

- La diminution du pH du lait est due à la production d'acides lactiques à partir de la fermentation du lactose **(Thomson et al., 1994)**.

- La quantité d'acide lactique est variable selon la capacité et la vitesse de dégradation du lactose par les isolats Ainsi les souches ont été classées comme suit :

a- Isolats fortement acidifiants (dont GM91 et GM14) qui coagulent le lait avant 18 h d'incubation,

b- Isolats faiblement acidifiants (souches GM33 et GM88) qui coagulent le lait après 18 h d'incubation,

b- Les isolats restants qui coagulent le lait après 18 à 24 h d'incubation.

- Le pH initial du lait écrémé était de 6,2 à 6,4 pour tous les isolats testés. Ensuite, le pH a diminué avec le temps pour atteindre 3 à 3,4 chez les isolats fortement protéolyses.

- A propos de l'acidité, il est à noter qu'après 2 h d'incubation, la quantité d'acide lactique était de 15 à 22°D pour tous nos isolats. L'acidité augmente avec le temps de façon variable pour

atteindre 74°D après 24 h avec l'isolat GM14 et jusqu'à 31°D avec l'isolat GM11. L'acidité produite peut arriver à 63 et 74°D pour les isolats thermophiles et mésophiles.

5. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des LAB isolées des Klila a été détectée en appliquant la méthode du test de diffusion en puits pour l'étude de leur capacité à inhiber la croissance de l'isolat indicateur *S. aureus* ATCC 65 38.

Sur la base des résultats, un total de 5 échantillons de Klila a été testé :

- Neuf bactéries LAB inhibitrices ont été isolées (**tableau 09**).
- Cinq de ces isolats produisant un inhibiteur ont été sélectionnés pour une étude plus approfondie sur la base de leur spectre antimicrobien relativement large (**Figure 20**).

La sensibilité des substances antibactériennes produites par les LAB à l' α -chymotrypsine, la pepsine, la catalase et la lipase a été déterminée dans le **tableau 10**.

Les composés inhibiteurs produits par les souches inhibitrices ont présenté des profils de sensibilité différents. Tous ont été complètement inactivés par l' α -chymotrypsine seule mais résistante à la pepsine (isolat GM11), alors que les composés produits par les isolats GM91 et GM14 ont été inactivés après un traitement avec la lipase, ce qui signifie que ces substances peuvent avoir une partie lipidique inhibitrice dans leur composition chimique.

Les composés inhibiteurs produits par les trois isolats ont montré une grande résistance aux traitements thermiques.

D'une autre manière, la bactériocine s'est avérée stable en maintenant une certaine activité antimicrobienne dans la gamme du pH de 4 à 7. Selon (**Allouche et al., 2010**), la bactériocine découverte est très sensible au pH. Sa stabilité a été détectée dans une gamme de pH de 3,5 à 6,5. Dans cette étude, la bactériocine produite par les isolats GM91 et GM14 avait le même profil et était active à des valeurs de pH de 4 à 6 (**Tableau 10**). Dans une étude similaire, les travaux de (**Zamfir et al., 1999**) ont rapporté que la bactériocine produite par *L. acidophilus* développait une activité positive contre *S. aureus*.

Tableau 07 : Résultats de l'analyse microbiologique (cfu/ml) des fromages traditionnels (Klila).

Analyse microbiologique	Echantillons					
	E1	E2	E3	E4	E5	M
Levure 10 ²	1.2	1.5	2.0	2.2	1.3	1.64
Germes totaux aérobie mésophile 10 ³	2.1	1.5	2.6	2.1	2.8	2.22
Coliformes totaux 10 ³	0.0	0.0	2.0	0.0	2.5	2.25
Coliformes fécaux 10 ³	0.0	0.0	1.2	0.0	2.5	1.85
Staphylocoques 10 ³	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
Microflore lactique 10 ⁴	2.1	3.5	0.8	4.2	0.3	2.18

Tableau 08 : Caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats.

Espèce	GM14	GM91	GM62	GM12	GM33	GM88	GM67	GM11
Gaz provenant du glucose	+	+	+	-	-	-	+	+
Mobilité	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse de :								
HAD	-	+	+	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	-	+	-	-	+	+
Croissance à différentes températures (°C)								
15	-	-	+	+	+	-	+	-
30	+	+	+	+	+	+	+	+
45	+	+	-	-	-	+	+	+

Résultats et discussions

Croissance à différents pH								
6.5	+	-	-	+	+	-	+	-
9.6	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance en présence de NaCl								
4%	+	-	-	+	+	+	+	+
6.5	+	+	+	+	+	+	+	+
9.6	-	-	-	-	+	-	-	-
Fermentation des sucres								
Arabinose	+	+	+	-	-	-	-	-
Cellobiose	+	+	-	+	+	-	+	-
Mannitol	-	-	-	+	-	-	+	+
Mannose	+	+	-	+	+	+	+	-
Melebiose	+	+	+	+	-	-	-	+
Raffinose	+	+	+	+	-	-	-	+
Ribose	-	+	+	+	+	-	+	-
Lactose	+	+	+	+	+	+	-	+
Rhamnose	-	-	-	+	-	-	-	-
Sorbitol	-	+	-	+	+	+	-	+
Xylose	-	-	+	-	-	-	-	-
Tehalose	-	-	-	+	+	+	+	-
Maltose	+	+	+	+	+	-	+	+
Esculine	-	-	+	+	+	+	+	-
Sucrose	+	+	-	+	+	-	-	+

GM12 : Lactobacillus plantarium, **GM33** : Lactobacillus alimentarius, **GM67** : Lactobacillus casei subsp. casei, **GM88** : Lactobacillus helveticus, **GM14** : Lactobacillus acidophilus, **GM11** : Lactobacillus intestinalis, **GM91** : Lactobacillus fermentum, **GM62** : Lactobacillus brevis.

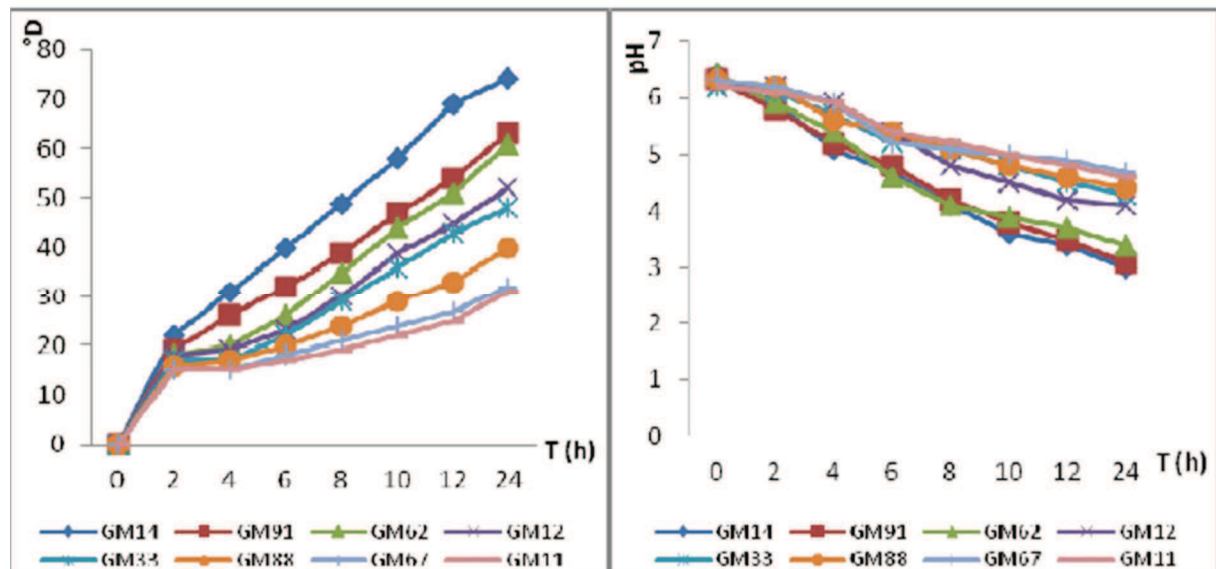


Figure 19 : Cinétique d’acidification en degré Dornic des différents isolats en milieu lait.

Tableau 09 : Antagonisme de *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38 par des isolats de Lactobacillus en utilisant la méthode de diffusion en gélose d'agar.

Analyse statistique	Test des isolats								
	GM14	GM91	GM62	GM11	GM12	GM67	GM60	GM03	GM46
Moyenne	9.950	9.150	9.275	6.800	6.050	3.575	2.575	2.850	2.425
SD	0.9883	0.3109	0.2630	0.2380	0.2380	0.4500	0.4113	0.5066	0.4573
SE	0.9883	0.3109	0.2630	0.2380	0.2380	0.4500	0.4113	0.5066	0.4573

SD : Standard deviation (écart-type)

SE : Standard error (erreur-type)

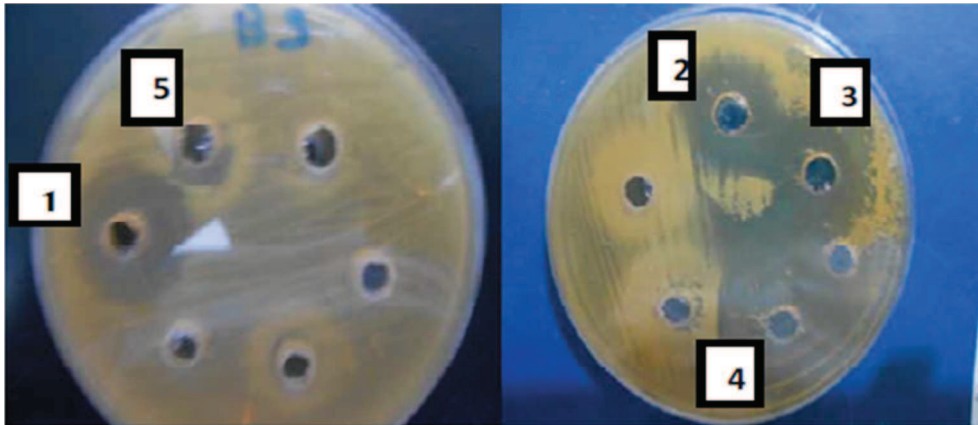


Figure 20 : Inhibition de *S.aureus* ATCC 65 38 par les surnageants des cinq isolats producteurs de bactériocines en utilisant le test de diffusion en puits d'agar : **1** : GM11, **2** : GM62, **3** : GM91, **4** : GM14 et **5** : GM12.

Tableau 10 : Action des enzymes protéolytiques, du pH et du traitement thermique sur l'activité antimicrobienne des extraits bruts contre la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38.

Extraits bruts	Enzymes			pH			Traitement thermique	°C/20 min
	α -Chymotrypsine	lipase	pepsine	3	5	7	100	120
GM14	-	-	-	+	+	+	+	+
GM91	-	-	-	+	+	+	+	+
GM62	-	-	-	-	+	+	+	-
GM11	-	-	+	-	+	+	-	-
GM12	-	+	-	-	-	+	-	-

Article 3 : Fabrication et caractéristiques du fromage Bouhezza traditionnel algérien affiné.

(Aissaoui Zitoun et al., 2011)

1. Composition chimique du Bouhezza pendant la fabrication et l'affinage du fromage :

La figure 21 illustre l'évolution des caractéristiques physicochimiques étudiées au cours de la fabrication et de l'affinage du fromage Bouhezza.

- Les teneurs en MS, matières grasses et protéines ont augmenté dans le fromage durant les dix semaines de fabrication (respectivement $r = 0,92, 0,96$ et $0,89$).
- La teneur en MS a varié de $20,77$ g/100 g à la première semaine à $35,86$ g/100 g à la dixième semaine.

Toutes ces augmentations sont probablement dues aux ajouts réguliers de Lben et de lait cru et à l'écoulement continu du sérum à travers les perforations naturelles de la poche de peau qui permet l'accumulation des composants insolubles et donc une augmentation de la masse du fromage.

Les variations du niveau de la teneur en MG (**Figure 21**) ont débuté à partir de la quatrième semaine et augmentent principalement après la sixième semaine qui correspond aux ajouts de lait cru entier ($p < 0,001$).

La teneur en MS des fromages Tulum et Darfiyeh se situaient, respectivement, entre $55-60$ et $45-50$ g/100 g (**Hayaloglu et al., 2007**) ; (**Serhanet al., 2010**). Pour ces fromages, le caillé a été égoutté dans le sac en peau de chèvre qui n'a été employé que pour l'affinage.

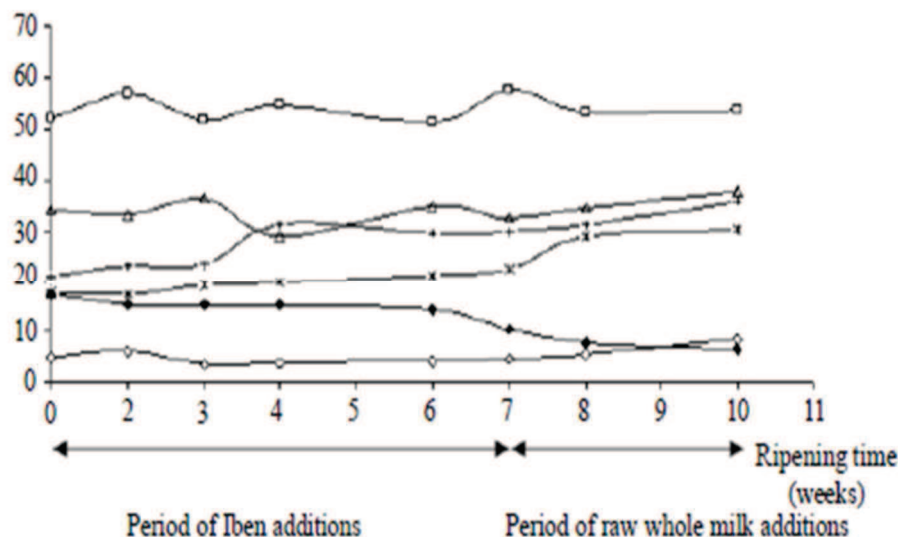


Figure 21 : Évolution de la composition chimique de la matière sèche du fromage Bouhezza au cours de sa fabrication et de l'affinage (*) Matière grasse/matière sèche (g/100 g), (□) Protéine totale/matière sèche (g/100 g), (△) azote soluble à pH 4,6 en pourcentage de l'azote total (AS/AT), (+) Matière sèche (g/100 g de fromage), (◆) Sel/matière sèche, (◇) Lactate/matière sèche (g/100 g).

La teneur en acide lactique a augmenté de façon significative dans le fromage ($r = 0,77$) et a varié de 0,84 g/100 ml dans le Lben (**tableau 11**) à 3,08 g/ 100 g dans le Bouhezza final.

Cette élévation suggère que le fromage ne permet pas le développement de bactéries qui oxydent l'acide lactique et permettent la neutralisation du caillé. De plus, le Lben ajouté a enrichi régulièrement le caillé en LAB acidifiantes. Jusqu'à dix semaines de fabrication, le pH est resté à environ 4. Le pH du Bouhezza était légèrement inférieur à celui des fromages Tulum et Darfiyeh (**Hayaloglu et al., 2007**) ; (**Serhan et al., 2010**).

Selon la (**FAO, 2007**), le fromage Bouhezza à dix semaines d'affinage est un fromage à pâte molle et à teneur moyenne en MG avec un HFD et un MGMS d'environ 72% et 30%, principalement. La MG du fromage joue un rôle déterminant sur la qualité organoleptique et la présence des composants aromatiques.

La lipolyse peut provoquer la formation de composés aromatiques, d'acides gras et de produits dérivés, et peut également entraîner un goût de rance (**Choisy et al., 1997**). Dans le fromage Bouhezza, l'apparition d'un goût indésirable est assez fréquente (**Aissaoui Zitoun et Zidoune, 2006**).

Tout au long de la première semaine, le caillé de Bouhezza présente un taux AS/AT d'environ 35,60 g/100 g de AT. Cette protéolyse reste assez importante pendant toute la période de fabrication et atteint 37,5 g/ 100 de AT dans le fromage final.

Par exemple, ce taux était de 21,4 g/ 100 g dans le fromage Prato (**Gorostiza et al., 2004**) et de 16,6 g/100 g dans le fromage Ahumado d'Áliva (**Franco et al., 2001**). Dans les fromages Saint Paulin et Comté, le AS/AT peut atteindre 18 - 30 g/100 g, respectivement (**Choisy et al., 1997**).

Dans le fromage Bouhezza, la protéolyse ne peut avoir que deux sources :

- Les enzymes natives du lait
- Les protéinases endogènes apportées par les bactéries indigènes.

Les micro-organismes agissent soit :

- Par leurs enzymes extracellulaires, liées à leurs enveloppes ou bien libérées dans le caillé,
- Par des enzymes intracellulaires après lyse (**Fox et al., 1994**) ;(**Lortal et Chapot-Chartier, 2005**).

Les principaux enzymes protéinases du lait comprennent la plasmine (protéinase alcaline) qui est la plus importante, et la cathepsine D (protéinase acide) (**Bastian et David, 1997**) ; (**Wilkinson et Kilcawley, 2005**).

Après 4 semaines de fabrication, ils ont noté une stabilité de la protéolyse et de la MS. Cela suggère qu'après un mois, l'AS et l'AT augmentent au même rythme, cette observation étant également valable pour la protéine et la MS. Ces premières constatations sont en accord avec les résultats qui indiquent que le fromage Bouhezza ne peut être consommé en moins d'un mois (**Aissaoui Zitoun et Zidoune, 2006**).

2. Caractéristiques microbiologiques

Pendant l'affinage, la flore totale (**Tableau 11**) se situait entre 7 et 8 log cfu g⁻¹ de fromage, ce qui peut être attribué à la charge la plus élevée dans le Lben et le lait cru (**Tableau 12**). De même (**Hayaloglu et al., 2007**) ont rapporté que le fromage Tulum au lait cru de brebis et affiné dans un sac en peau d'animal, avait des taux plus élevés de bactéries mésophiles totales , environ 7 et 9 log cfu g⁻¹ de fromage.

Les LAB étaient les principaux constituants de la microflore de Bouhezza et leur évolution n'a pas connu de changements importants.

- Les lactobacilles ont évolué autour de 7-8 log cfu g⁻¹ depuis la troisième semaine.
- Les lactocoques ont évolué différemment, leur nombre a évolué entre 5-6 log cfu g⁻¹ au cours des sept premières semaines de fabrication (**Tableau 11**) et après l'ajout du lait cru entier, ils ont augmenté de manière significative à 7 log cfu g⁻¹ (p<0,01). Elles étaient inversement corrélées au pH (r = - 0,72) et à la teneur en sel/MS (r = - 0,84).

Les additions successives de Lben fermenté spontanément et de lait cru enrichissent le fromage en LAB. Globalement, leur composition dans les fromages varie en fonction du jour de fabrication et de l'âge du fromage (**Williams et Banks, 1997**) ; (**Fitzsimons et al., 2001**).

Dans la plupart des fromages artisanaux, les LAB constituent le groupe principal (**Cuesta et al., 1996**) ; (**Mucchetti et al., 2009**).

Dans les fromages affinés, elles varient de 7 à 9 log cfu g⁻¹ et ont une activité importante dans le métabolisme du glucose et la protéolyse (**Wouters et al., 2002**).

Tableau 11 : Évolution des principaux groupes de micro-organismes dans le fromage Bouhezza pendant la fabrication et l'affinage (log cfu g⁻¹).

		Fromage (n=3)							
		1 S	2 S	3 S	4 S	6 S	7 S	8 S	10 S
Flore aérobie totale	Signifie	7.71	7.87	7.50	8.67	8.08	8.73	8.02	8.03
	SD	0.85	0.82	0.35	0.17	0.34	0.91	0.61	0.06
Lactobacilles	Signifie	6.56	6.40	7.56	7.51	8.17	7.41	8.14	7.56
	SD	0.31	0.33	0.02	0.49	0.04	0.92	0.35	0.03
Lactocoques	Signifie	6.55	6.04	5.49	6.10	6.68	6.87	7.38	7.64
	SD	0.50	0.11	0.23	0.35	0.80	0.20	0.47	0.04
Levures et moisissures	Signifie	4.35	5.16	5.43	5.84	5.25	5.69	5.90	4.31
	SD	0.88	0.19	0.30	0.28	1.15	0.31	0.07	0.01
Entérobactéries	Signifie	5.81	4.93	4.60	5.92	5.46	4.27	6.44	6.41
	SD	0.29	0.03	0.05	0.63	0.33	0.29	0.14	0.29
Flore protéolytique	Signifie	5.44	5.83	6.00	6.04	5.49	6.76	7.89	7.92
	SD	1.54	0.75	1	0.14	0.37	0.57	1.19	0.02
Flore lipolytique	Signifie	2.95	3.59	4.35	3.42	4.93	3.49	4.26	4.44
	SD	1.68	0.27	0.76	0.76	0.75	0.13	0.45	0.12

S : semaine ; SD : écart-type

Tableau 12 : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques (log cfu g⁻¹) du lait cru de vache et du Lben utilisés dans la fabrication du fromage Bouhezza.

	Lait cru (n=3)	Lben (n=5)
Matière sèche (g/100 g)	12.40± 0.8	9.06 ± 1.2
Graisse (g/100 g)	4.00 ± 0.15	0.91± 0.17
Protéine (g/100 g)	3.2 ± 0.1	4.4 ± 0.19
Chlorure (g/100 g)	0.18 ± 0.05	0.19 ± 0.06
Acidité titrable (°D)	18 ± 2	84 ± 11
pH	6.62 ± 0.07	4.84 ± 0.05
Flore aérobie	8.81 ± 0.47	10.94 ± 0.76
Lactobacilles	9.10 ± 2.23	7.49 ± 0.15
Lactococci	10.09 ± 09	6.74 ± 1.04
Levures, Moisissures	4.76 ± 0.15	4.81 ± 0.77
Entérobactéries	6.08 ± 1.12	6.91± 0.31

La flore d'entérobactéries n'a pas subi de modifications significatives au cours des dix semaines de fabrication et leur nombre se situait à environ 4 et 5 à 6 log cfu g⁻¹ de fromage. Ce niveau dépend de la qualité du Lben et du lait non pasteurisé, qui présentaient la charge la plus élevée en entérobactéries. De plus, l'utilisation d'un sac de peau animale peut stimuler la croissance des entérobactéries, tandis que la présence de LAB et la composition physico-chimique du Bouhezza peuvent la freiner.

Hutkins, (2006) a signalé que la combinaison d'un pH modérément bas et d'une concentration élevée en sel constitue une barrière contre certains micro-organismes.

Les teneurs en levures et en moisissures (4-5 log cfu g⁻¹) et en flore lipolytique (3-4 log cfu g⁻¹) étaient moins importantes et ne présentaient pas de variabilité significative ; elles étaient positivement liées à la flore de lactobacilles ($r = 0,76$).

Le nombre de bactéries protéolytiques a augmenté de manière significative lors de la fabrication ($r = 0,84$). Leur croissance était inversement proportionnelle à la teneur en sel/MS ($r = -0,96$), mais elle était significativement corrélée à la teneur en MG/MS ($r = 0,93$), AS ($r = 0,82$), lactate ($r = 0,77$) et lactocoques ($r = 0,75$). Les micro-organismes qui possèdent une activité protéolytique sont les psychrotrophes, la flore lactique comme les lactocoques et la flore fongique (**Grieve et Kitchen, 1985**).

On peut donc considérer que la protéolyse bactérienne commence dès le début de la fabrication du fromage Bouhezza car le Lben était déjà le siège de réactions protéolytiques.

3. Caractéristiques sensorielles

Les profils sensoriels moyens (odeur, arôme, saveur et texture) du fromage Bouhezza épicé au poivre rouge sont montrés dans la **figure 22**.

L'arôme et l'odeur sont plutôt composés d'une note légèrement épicée (piquante $3,2 \pm 0,2$), acide et piquante ($3 \pm 0,2$).

Bouhezza a un goût acide et salé. Le goût piquant était moyen et il est dû à l'utilisation de piment rouge pour la consommation. La persistance globale en bouche est longue. Bouhezza a une texture un peu molle ($3,55 \pm 1,30$).

Dans les différents fromages traditionnels c'est la diversité de la flore microbienne qui participe profondément au processus de maturation essentiellement important pour le développement des caractéristiques sensorielles spécifiques du fromage (**Grappin et Beuvier, 1997**) ; (**Peláez et Requena, 2005**). Le fromage Tulum a également un goût acide (**Hayaloglu et al., 2007**).

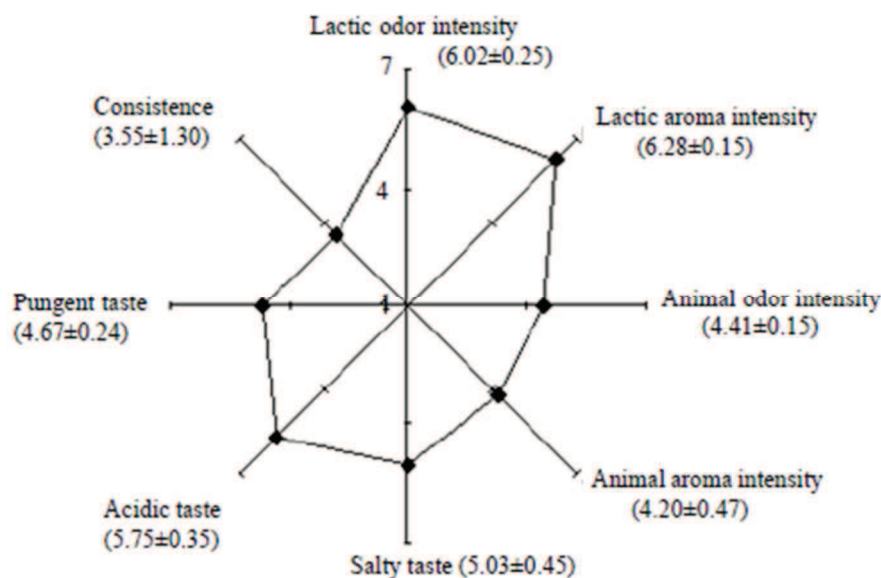


Figure 22 : Profils sensoriels du fromage de vache Bouhezza épicé traditionnel à 10 semaines d'affinage (moyenne \pm SD).

Lactic odor intensity : Intensité de l'odeur lactique

Lactic aroma intensity : Intensité de l'arôme lactique

Animal odor intensity : Intensité de l'odeur de l'animal

Animal aroma intensity : Intensité de l'arôme animal

Salty taste : Goût salé

Acidic taste : Goût acide

Pungent taste : Goût piquant

Consistence : Consistance

4. Fiche technique du fromage traditionnel Bouhezza

Le tableau 13 présente la première fiche technique du fromage Bouhezza selon les résultats physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels.

Tableau 13 : Fiche technique du fromage Bouhezza.

pays :	ALGÉRIE
nom du fromage :	Bouhezza, melh dhouab, boumelel
Délimitation géographique :	Est de l'Algérie, autour de la population de Chaouia. Spécialement à Batna, Oum El Bouaghi, Khanchela et Tébessa.
Description et caractéristiques :	
matière première :	Lait cru de chèvre, de brebis ou de vache
Type :	La bouhezza est un fromage à pâte molle affiné, fabriqué à partir de lben et de lait cru entier. Sa couleur est crème ou légèrement rouge en raison de la piqûre du piment rouge.
Composition :	Matière sèche d'au moins 36%. Teneur en matières grasses/matière sèche de 30%.
Technologie :	
Coagulation	Coagulation spontanée à température ambiante pendant 24-72h.
Drainage	écoulement spontané par le sac cutané de l'animal.
Salage	Dans le lben ou le fromage (20-30g L-1 supplémentaire de lben).
Repiquage	Non contrôlé, à l'air et à la température ambiante (printemps et été) pendant 1 à 6 mois ou plus.
Consommation	Avec le piper rouge pour assaisonner les plats traditionnels, les sauces ou pour tartiner la galette traditionnelle ou le pain.
Particularités :	Utilisation de la peau de chèvre naturelle "Chekoua" pour la fabrication du fromage. Coagulation, salage, égouttage et affinage simultanés. Ajout continu de matière première dans la Chekoua. Lben ajouté au début de la fabrication du fromage et lait cru entier en fin d'affinage pour contrôler les caractéristiques sensorielles.



Conclusion générale

Conclusion générale

Les analyses microbiologiques du fromage blanc traditionnel Jben collecté dans huit différentes régions du Maroc, ont montré que la microflore du Jben est dominée par les bactéries lactiques comme *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus*. L'acidification provoquée par leur présence n'a pas empêché le développement et la propagation de *Listeria monocytogenes*. Les conditions non standardisées dans sa fabrication aboutissent à un produit de qualité hygiénique variable, qui peut être un véhicule pour les agents pathogènes responsables de maladies graves provoqués par *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, et *Yersinia enterocolitica*

L'analyse microbiologique du fromage Klila a montré que les levures et la FAMT existent à des taux très normaux dans tous les échantillons. *Salmonella* et *Staphylocoque* n'ont pas été détectés alors que les principales bactéries présentes sont les bactéries lactiques. Leur présence dans le fromage a permis l'inhibition de *S.aureus* par la production de bactériocine, Cette activité antimicrobienne est dû aussi à l'acide lactique produite par les LAB donc à la diminution du pH.

Concernant le fromage traditionnel Bouhezza, l'étude a montré l'importance d'une durée d'affinage supérieure à quatre semaine qui assure une stabilisation physico-chimique et microbiologique globale du fromage .Les LAB sont les principaux composants de la microflore tel que lactobacille, lactocoques qui peuvent ralentir la croissance d'entérobactéries, par contre les levures, les moisissures et la flore lipolytique existent à des taux très faibles. L'analyse sensorielle révèle que Bouhezza est caractérisé par deux principaux paramètres : l'arôme et l'odeur provoqués par des bactéries lactique et autres. En outre, le rôle joué par les bactéries lactiques dans l'arôme et l'odeur du produit doit être élucidé avec précision.

Les résultats trouvés dans les trois types de fromages montre la nécessité d'utiliser du lait traité et de travailler dans les conditions d'hygiènes afin d'améliorer la qualité du fromage.



Références bibliographiques

Abdelaziz, S et Ait Kaci, F. 1992. Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Jben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Université El Harrach, Alger.

Abd-El-Malek, Y. 1978. Traditional Egyptian dairy fermentations. Global Impacts of Applied Microbiology.

Ababsa, A. 2012. Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de Magister, Univ. Ferhat Abbas, Sétif.

Abid, Z. 2015. Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben ». Mémoire de master, Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

Achemchem, F., Abrini, J., Martinez., Bueno, M., Valdivia, E., Maqueda, M. 2004. Purification et caractérisation d'une bactériocine anti-*Listeria* produite par *Enterococcus faecium* isolé à partir de lait cru de chèvre, Univ. Abdelmalek Essaadi, p384.

Afnor 1985. Fromages et fromages fondus : Détermination de la matière sèche (méthode de référence), p300-303.

Afnor 1972. Fromages : Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique de Van Gulik, p323-327.

Afnor 1990. Lait : Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique, p195- 211.

Aissaoui Zitoun, O. 2003. Fabrication et caractéristiques d'un fromage traditionnel algérien Bouhezza. Thèse de magister, INATAA, Constantine, Algérie.

Aissaoui Zitoun, O., Benattalah, L., Ghennam, E.H., Zidoune, M.N. 2011(a). Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened Bouhezza cheese. Journal of Food, Agriculture environment. Vol .9 (2) :196-100.

Aissaoui Zitoun, O., and Zidoune, M. N. 2006. Le fromage traditionnel algérien Bouhezza. Séminaire d'Animation Régional Technologies douces et procédés de séparation. AUF-GP3A-INSAT, Tunis, Tunisie, Actes des sommaires, pp.118-124.

Alais, C. 1974. Science du lait principes des techniques laitières. 3ème édition, p807.

Alais, C. 1984. Science de lait : principes des techniques laitières. 4ème édition (Société d'édition et de promotion agro-alimentaires, industrielles et commerciales), Paris, p814.

Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F, De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobetti, M. 2001. Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *Int. J. Food Microbiol.* 67:35–48.

Allouche, F., Hellal, N.A., Laraba, A. 2010. Etude de l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacilles thermophiles* utilisées dans l'industrie laitière. *Rev. Nat. Technol.* 3:13-20.

Amarita, F., Requena, T., Taborda, G., Amigo, L. and Pelaez, C. 2001. *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* initiate catabolism of methionine transamination. *J. Appl. Microbiol.* 90:971–978.

Atlas, R.M. 2004. Handbook of Microbiological Media. 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, p20-51.

Azadnia, P., Khan, N.A.H. 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province. *Iranian J, Vet. Res.* 10:28.

Azhari, A.A. 2011. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Drinking Yoghurt in Khartoum State, Sudan, *Current Research in Bacteriology.* 1:1994-5426.

Badis, A., Guetarnib, D., Moussa Boudjemaa, B., Hennic, D.E., Kihalc, M. 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology,* 21:579–588.

Barefoot, S.F., Klaenhammer, T.R. 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 6:1808-1815.

Bastian, E. D., Lo, C. G. and David, K. M. M. 1997. Plasminogen activation in cheese milk: Influence of Swiss cheese ripening. *J. Dairy Sci.* 80:245-251.

Benderouich, B. 2009. Le kémaria : un produit du terroir à valoriser. Mémoire de master, institut de biologie. Université d'Ouargla, Algérie.

Belbeldi, A. 2013. Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza : contenu lipidique et vitamines. Mémoire de Magister, Univ, Mentouri, Constantine.

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

Benkerroum, N., Oubel, H., Zahar, M., Dlia, S. and Filai-Maltouf, A. 2000. Isolation of bacteriocin producing *Lactococcus lactis subsp. lactis* and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan Jben. J. Appl. Microbiol. 89:960–968.

Benkerroum, N., Tamime, A. Y. 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Lben, Jben and Smen) to small industrial scale. Food Microbiology, 21(4), 399-413.

Beresford, T. and Williams, A. 2004. The microbiology of cheese ripening In: Cheese Chemistry, Physics and Microbiology (Fox, McSweeney, Cogan and Guinee, Eds.), 3rd ed, pp. 287–318. Elsevier/Academic Press, Amsterdam/New York.

Bérodier, F., Lavanchy, P., Zannoni, M., Casals, J., Herrero, L. and Adamo, C. 1997. Guide d'évaluation olfacto-gustative des fromages à pâte dure et semi-dure. Lebensm.-Wiss. u. - Technol. 30 :653-664.

Bohak, Z. 1969. Purification and characterization of chicken pepsinogen and chicken pepsin, the journal of Biological chemistry Vol. 244, N° 17 Sept 1969, PP: 4638-4648.

Bouadjaib 2013. Etude physico chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire de Master, Univ. Tlemcen.

Boufeldja, B. 2017. Etude physico-chimique et microbiologique d'un fromage frais traditionnel « Jben » fabriqué par « hakka ». Univ, Abou Beker Belkaid, Tlemcen, p6.

Bouzaid, M., Chatoui, R., Hasib, A., Mennane, Z. 2012. Qualité hygiénique du lait de colportage prélevé des points de vue de la ville de Rabat. Les techniques de Laboratoire. 7:26.

Broome, M.C., Hickey, M.W. 1990. Comparison of fermentation produced chymosin and calf rennet in Cheddar cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 45(2), 53-59.

Brulé, G et Lenoir, J. 1997. La coagulation du lait in Le Fromage A. Eck 2ème édition Tech. Et Doc.

Caplice, E et Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food Production and preservation. Int. J. food. microbiol. 50: 131–149.

Casalta, E et Montel M.C. 2008.Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactococcus genus*. International Journal of Food Microbiology. 126, 271-273.

Choisy, C., Desmazeaud, M., Gripon, J. C., Lamber, G. and Lenoir, J. 1997. Biochimie de l'affinage. In Eck, A. and Gillis, J.C. (eds). Le Fromage. 3rd edn. Tec et Doc. Lavoisier, pp. 89-161.

Chazarra, S., Sidrach, L., López-Molina, D., Rodríguez-López, J.N. 2007.Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus, L.*) flowers. International Dairy Journal 17(12) :1393-1400.

Claps, S et Morane, G. 2011. Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, Cor.Filac.Pp57-77.

Caplice, E et Fitzgerald, G.F. 1999.Food fermentations: role of microorganisms in food Production and preservation. Int. J. food. Microbiol. 50: 131–149.

Cuesta, P., Fernández-García, E., González de Llano, D., Montilla, A. and Rodríguez, A. 1996.Evolution of the microbiological and biochemical characteristics of afuegal pitu cheese during ripening. J. Dairy Sci. 79:1693-1698.

Cuvellier, G.F. 1993. Production des enzymes in Biotechnologie. Coord Scriban R. 4ème édition Tec. Et Doc. Lavoisier pp948.

Dalgleish, D.G. 1997. The Enzymatic coagulation of milk. In Advanced Dairy Chemistry V1 Proteins. P.F. Fox Blackie and son Ltd. P579-619.

De Man, J., Rogosa, M., Sharpe, E.M. 1960. A medium from the cultivation of lactobacillus. J. Appl. Bacteriol. 23:130-135.

Djoughri, K et Madani, S. 2015. Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de Master, Univ. Ouargla, Algérie.

Drouault, S., Corthier, G., Ehrlich DS et Renault P. 1999.Survival physiology and lysis of *Lactococcus lactis* in the digestive tract. Applied and Environmental Microbiology.

65,4881-4886.

Durlu, O., Xanthopoulos, V., Tunail, N., Litopoulou, E.T. 2001.Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. J. Appl. Microbiol. 91:861-870.

Ercolini, D., Moschetti, G., Blaiotta, G. and Coppola, S. 2001. Behavior of variable V3 region from 16S rDNA of important lactic acid bacteria in denaturing gradient gel electrophoresis. Curr. Microbiol. 42:199–202.

Ernstrom, C.A. 1983. Milk clotting enzymes and their action in fundamentals of dairy chemistry. Webb B.H., AH. Johnson and J.A. Alford. The Avi Publishing Company Inc. 2nd Edition. PP 663-718.

FAO 1986. Food and nutrition paper. Manuals of food quality control. 8. Food analysis: quality, adulteration and tests of identity. 82:0254-4725.

FAO 1990. The technology of traditional milk products in developing countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 333 p.

FAO 1997. Manuals of Food Quality Control. Food Analysis: General Techniques, Additives, Contaminants and Food Composition n14/7. FAO (Food and Agriculture Organization) Nutrition Paper, Rome, 230 p.

FAO 2007.Lait et produits laitiers. Codex Alimentarius. FAO and OMS, Rome, 258 p.

Fitzsimons, N. A., Cogan, T. M., Condon, S. and Beresford, T. 2001. Spatial and temporal distribution of non-starter lactic acid bacteria in cheddar cheese. J. Appl. Microbiol. 90:600-608.

Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M and Mcsweeney, P.L.H. 2000. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.

Fox, P. F., Snigh, T. R. and Mc-Sweeny, P. L. H. 1994. Proteolysis in cheese during ripening. In Fox, P.F. (Ed.). Biochemistry of Milk Products. The Royal Society of Chemistry, pp. 1-31.

Franco, I., Preto, B., Urdiales, R., Fresno, J. M. and Carballo, J. 2001. Study of biochemical changes during ripening of Ahmado de Aliva cheese: A Spanish traditional variety. Food Chem. 74:463-469.

Gevers, D., Huys, G. and Swings, J. 2001. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus species*. FEMS Microbiol. Lett. 205:31–36.

Gonzalez 2007. In Bouadjani, W. 2009. Action de la flore lactique sur les bactéries de contamination. Mémoire d'ingénieur, Univ. Tlemcen.

Gordin, S. and Rosenthal, I. 1978. Efficacy of chicken pepsin as a milk-clotting enzyme. Journal of food protection September Vol. 41 N° 9 (684-688).

Gorostiza, A., Cichoski, A. J., Valduga, A. T., Valduga, E., Bernardo, A. and Fresno, J. M. 2004. Changes in soluble nitrogenous compounds, caseins and free amino acids during ripening of artisanal prato cheese; A Brazilian semi-hard cows variety. Food Chem. 85:407-414.

Grappin, R. and Beuvier, E. 1997. Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. Int. Dairy J. 7:751-761.

Grieve, P. A. and Kitchen, B. J. 1985. Proteolysis in milk: The significance of proteinases originating from milk leucocyte and a comparison of the action of leucocyte, bacterial and natural milk proteinases on casein. J. Dairy Res. 52:101-112.

Guiraud, J. P. 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, 652 p.-Green, M.L., VallerM, J., Kay, J. 1984. Assesment of the suitability for cheddar cheesemaking of purified and commercial chicken pepsin preparations. Journal of dairy research (1984), 51, 331-340.

Hamiroune, M., Berber, A., Boubakeur, S. 2014. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. École Nationale Supérieure Vétérinaire, El Harrach, Alger.

Hamama, A. 1997. Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of Jben (Moroccan traditional fresh cheese) In: Emerging Technology Series- Food Processing Technologies for Africa (Dirar, H.a., Ed.), pp. 85–102. UNIDO, Vienna.

Hamama, A., El Mouktafi, M. 1990. Etude de la qualité hygiénique du lait cru produit au Maroc. Magreb Vet. 5:17-79.

Hallal, A. 2001. Fromages traditionnels algériens. Quel avenir, Revue Agro ligne ; p14- 43-47.

Harrigan, W.F., M.c Cance, M.E. 1976. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, Academic Press, New York.

Harrouz et Oulad hadj youcef. 2007. La filière lait ; vers une nouvelle dimension de développement dans la vallée du M Zab et Metlili .Mémoire Ing .ITAS Ouargla.

Harty, D.W.S., Patrikakis, M. and Knox, K.W. 1993. Identification of *Lactobacillus strains* isolated from patients with infective endocarditis and comparison of their surface-associated properties with those of other strains of the same species. Microbial Ecology in Health and Disease. 6:191–201.

Hayaloglu, A. A., Cakmakci, S., Brechany, E. Y., Deegan, K. C. and Mc- Sweeney, P. L. H. 2007. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of tulum cheese ripened in goats skin or plastic bags. J. Dairy Sci. 90:1102-1121.

Hayaloglu, A. A., Fox, P. F., Guven, M. and Cakmakci, S. 2007. Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. Lait 87:79-95.

Hayaloglu, A.A., Guvena, M. and fox, P.F. 2002. Microbiological, Biochemical and Technological properties of Turkish white cheese ‘Beyaz Peynir’. International Dairy Journal.12:635-648.

Hutkins, R.W. 2006. Microbiology and Technology of fermented foods. Technology & Engineering, p473.

Irlinger, F. and Mounier, J. 2009. Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. Current Opinion in biotechnology.20:142-148.

Jacob, M., Jaros, D., Rohm, H. 2011. Recent advances in milk clotting enzymes. International journal of dairy technology 64(1) :14-33.

Khater et Ghefar, M. 2017. Dénombrement et caractérisation de la flore lactique et la flore de contamination du « Jben » traditionnel fabriqué par des coagulants de nature végétale. Mémoire de MASTER, UNIV. Abou Beker Belkaid, Tlemcen.

Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., Zinedine, A. 2009.Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. 1:81-91.

Kihel, M. 1996. Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides* élément d’application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de docteur d’état, Univ. Es-senia, Oran.

Kivanç, M., Yilmaz, M., Cakir, E. 2011. Isolation and identification of lactic acid bacteria from boza, and their microbial activity against several reporter strains. Turk. J. Biol. 35:313-324.

Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., El Hassan Berny, E.H., Ouhssine M. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de lait cru. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 148:7-16.

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

Larpen, J.P. 1989. Les bactéries lactiques, Les microorganismes de fermentations. Dans : Microbiologie alimentaire, Tome 2, Bourgeois, C.M., Larpen, J.P., Eds. Techniques et documentation Lavoisier. pp : 3-15.

Leksir, C et Chemmam, M. 2015. Contribution à la caractérisation du Klila, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Univ. 8 Mai 1945, Guelma.

Lemouchi 2008. Le fromage traditionnel Bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimique de deux fabrication .mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine.

Lortal, S. and Chapot-Chartier, M. P. 2005. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. Review. Int. Dairy J. 15:857-871.

Luquet, F. M., Corrieu, G., Marteau, P. 2006. Bactéries lactiques et probiotiques. Acta Endoscopica, 36(3), 376-376.

Mahamedi, A. 2015. Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologiques des ferments et des beurres traditionnelles destinées à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Oran. Algérie.

Mahamedi, A.E., Djellid, Y., Benlahcen, K., Kihal, M. 2015. Caractérisation microbiologique du fromage traditionnel algérien "Klila". 1ère journée scientifique du master assurance qualité. Le 09 Février 2015. Béchar. Algérie.

Mahamedi, A.E. 2015. Etude des qualités hygiénique, physicochimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran. Algérie.

Marshall, V.M. 1987. Lactic acid bacteria: starters for flavour. *FEMS Microbiol. Rev.* 46: 327-336.

Mathara, J.M., Schillinger, U., Kutima, P.M., Mbugua, S.K., Holzapfel, W.H. 2004. Isolation, identification and characterization of the dominant microorganisms of kule naoto: The Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.* 94:267-278.

Mathur, S., Singh, R. 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *Int. J. Food. Microbiol.* 105:281-295.

Mechai, A., Debabza, M. and Kirane, D. 2014. Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal* 21(6) : 2451-2457.

Mechai, A. 2009. Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat, Univ. Badji Mokhtar, Annaba.

Mekentichi, Z. 2003. Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza). Mémoire d'ingénieur, Dept Agronomie, Univ. Batna.

Mennane, Z., Faid, M., Lagzouli, M., Ouhssine, M., Elyachioui, M., Berny, E., Ennouali, M., Khedid, K. 2008. Physico-chemical, Microbial and sensory characterisation of Moroccan Klila. *J. Sci. Res.* 2:1990-9233.

Mietton, B., Desmazeaud, M., Roissart, H., Weber, F., 1991. Transformation du lait en fromage ; in *Les Bactéries Lactiques II*. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier, Paris.

Moreik, K. 2011. Isolation of lactic acid-trlated bacteria from the pig mucosal proximal gastrointestinal trac, including *Oisenella umbonata* sp. Nov. and *Veillonella magana*. Sp. Nov. 47:8325-2789.

Mucchetti, G., Ghiglietti, R., Locci, F., Francolino, S., Bonvini, B., Remagni, M. C., Zago, M., Iezzi, R. and Carminati, D. 2009. Technological, microbiological and chemical characteristics of pannerone, a traditional Italian raw milk cheese. *Dairy Sci. Technol.* 89:419-436.

Neti, Y., Erlinda, I.D. 2011. Phenotypic identification of lactic acid bacteria isolated from Tempoyak (fermented durian) made in the Philippines. *Int. J. Biol.* 3:10-5539.

Nouani, A., Belhamiche, N., Slamani, R., Belbraouet, S., Fazouane, F., Bellal, M. M. 2009. Extracellular protease from *Mucorpusillus*: purification and characterization. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 112-117.

Novel, G. 1993. Les bactéries lactiques. Dans : *Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel*. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. Et Doc. Lavoisier Paris, pp : 170-374.

Olarte, C.S., Sanz, E.G., Fandas., Torre, P. 2000. The effect of a commercial starter culture addition on the ripening of an artisanal Goat's cheese (Camos Cheese). *J. Appl. Microbiol.* 3:421-429.

Orla-jensen, S. 1919. The lactic acid bacteria. Copenhagen. Andr. Fred. Host-Sen.

Oucherif, K., Sellema, M. 2015. Etude des substances Antimicrobiennes (type bactériocine) des bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben). Mémoire de Master, Univ. Kasdi Merbah, Ouargla.

Peláez, C. and Requena, T. 2005. Exploiting the potential of bacteria in the cheese ecosystem. *Int. Dairy J.* 15:831-844.

Pe´rez, G., Cardell, E. and Zarate, V. 2000. Protein fingerprinting as a complementary analysis to classical phenotyping for the identification of lactic acid bacteria from Tenerife cheese. *Lait.* 80:589–600.

Pot, B. and Janssens, D. 1993. The potentiel role of a culture collection for identification and maintenance of lactic acid bacteria In: *The lactic acid bacteria, proceedings of the first lactic acid bacteria conference* (Foo, E.L., Griffin, G., Molby, R. and Heden, C.G., Eds.), pp. 81–87. Horizon Scientific Press, Norfolk, Va.

Pot, B., Ludwig, W., Kersters, K.A.D. and Schleifer, K.H. 1994. Taxonomy of lactic acid bacteria In: *Bacteriocins of lactic acid bacteria; microbiology, genetics and applications* (De Vuyst, L. and Vandamme, E.J., Eds.), pp. 13–90. C and Hall, London, UK.

Ramet, J.P. 1997. Les agents de transformation du lait ; la présure et les enzymes coagulantes In : *Le fromage*. Ed., A. Eck, 3ème ed, Technique et documentation Lavoisier, p.101-107, 539p.

Randazzo, C.L., Torriani, S., Akkermans, A.D.L., de Vos, W.M. and Vaughan, E.E. 2002. Diversity, dynamics and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 :1882–1892.

Raynaud, S. 2006. Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat de Microbiologie et Biocatalyse Industrielle. Université de Toulouse. Institut national des sciences appliquées. France.

Rezgui, B., et Zoghlami, T. 2014. Etude des propriétés technologiques et probiotiques des souches de bactéries lactiques autochtones isolées de produits laitiers fermentés en Algérie. Mémoire de Master, Univ. Tébessa.

Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Mennane, Z., Ouhssine M. 2013. Preparation of the starter trial production of chesses (Jben) and (Klila) at laboratory scale. Food Sci. Qua. Manage. 13:2225-0557.

Roa, I., Lope, M., Mendiola, F. 1999. Residual clotting activity and ripening, properties of vegetable rennet from *Cynara cardunculus* in La Serena cheese. Food Res Intern. 32, 413-419p.

Roseiro, L.B., Garcia-Risco, M., Barbarosa, M., Ames, J. M. and Wilbey, R.A. 2003. Evaluation of serpa cheese proteolysis by nitrogen content and capillary zone electrophoresis. Int. J. Dairy Technol. 56:99-104.

Sakili, D., Issoual, D. 2003. Lactic acid bacteria in processing maroccansmen. Copyright academic d'agriculture de France. Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia, Maroc.

Samelis, J., Maurogenakis, F., Metaxopoulos, J. 1994. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. Int. J. Food. Microbiol. 23:179-196.

Samet-Bali, O., Ayadi, M. A., Attia, H. 2009. Traditional Tunisian butter: Physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. LWT Food Science and Technology, 42(4), 899-905.

Schillinger, U., Lucke F.K. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Appl. Envi Micro. 55:1901-1906.

Schlesser, J. E., Schmidt, S. J. and Speckman, R. 1992. Characterization of chemical and physical changes in camembert cheese during ripening. J. Dairy Sci. 75:1753-1760.

Serhan, M., Linder, M., Hosri, C. and Fannia, J. 2010. Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goats milk cheese. Small Ruminant Research. 90:75-82.

Silva, S.V., Allmere, T., Malcata, F.X., Andrén, A. 2003. Comparative studies on the gelling properties of cardosins extracted from *Cynara cardunculus* and chymosin on cow's skim milk. *International dairy journal* 13(7):559-564.

Somers, E.B., Johnson, M.E. and Wong, A.C. 2001. Biofilm formation and contamination of cheese by nonstarter lactic acid bacteria in dairy environment. *J. Dairy Sci.* 84:1926–1936.

St-Gelais, D et Tirard-Collet, P. 2002. Fromage. In : Lapoint-Vignola C. (Eds.), *Science et technologie du lait : Transformation du lait*. Presses Internationales, polytechniques, Québec, pp. 349-412.

Tabak, S et Bensoltane, A. 2011. *Nature et Technologie. L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales.* Univ. Ahmed Ben Bella, Oran, p71.

Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J. 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 81 (1), 1–10.

Terzic, V.A., Mihajlovic, S., Uzelag, G., Golic, N., Fira, D., Kojic, M., Topisirovic, L.J. 2014. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal white brined Golija cow's milk cheeses. *Arch. Biol. Sci. Belgrade.* 66:10-2298.

Thomas, T.D. 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZ J. Dairy. Sci. Technol.* 8:70-71.

Thomson, J., Gentry., Weeks, C.H. 1994. Métabolisme des sucres par bactéries lactiques. In Derroissart. H. Luquet. FM. Ed. *Bactéries lactiques aspect fondamentaux et technologique.* Uriage. Lorica. pp. 239-290.

Tormo, H. 2010. Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de doctorat, Univ. Toulouse.

Touati, K. 1990. Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la Klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie.

Vancanneyt, M., Zamfir, M., Devriese, L.A., Lefebvre, K., Engelbeen, K., Vandemeulebroecke, K., Amar, M., De Vuyst,L., Haesebrouk, F. and Swings, J.

2004.*Enterococcus saccharominus* sp. Nov., from dairy products. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54:2175–2179.

Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., Maguin, E. 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 82: 187–216.

Va'zquez, R.S., Garcia-Lara, N.R., Escuder, D.V., Sa'nchez, F.C., Cruz, J.B., Pallas, C.R.A. 2013. Determination of dornic acidity as a method to select donor milk in a milk bank. BreastFeed. Med. 8:10-1089.

Veisseyre, R. 1979. Technologie du fromage : 3ème édition. Maison Rustique, 714 p.

Versalovic, J., Schneider, M., De Bruijn, F.J. and Lupski, J.R. 1994. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. Methods in Molecular Cell Biology. 5:25–40.

Wilkinson, M. G. and Kilcawley, K. N. 2005. Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. Int. Dairy J. 15:817-830.

Williams, A. G. and Banks, J. M. 1997. Proteolytic and other hydrolytic enzyme activities in non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) isolated from cheddar cheese manufactured in the United Kingdom. Int. Dairy J. 7:763-774.

Wongt, N.P. 1983. Cheese chemistry in fundamentals of dairy chemistry. Webb B.H., AH. Johnson and J.A. Alford. The Avi Publishing Company Inc. 2nd Edition. PP 719-771. 21: 399-413.

Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J. and Smit, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. Int. Dairy J. 12:91-109.

Yiu, S.H. 1985. A fluorescence microscopic study of cheese. Food Microstruct. 4:99–106.

Zaidi, O. 2002. Caractérisation du fromage traditionnel Bouhezza, caractérisation physicochimique et microbiologique. Mémoire d'ingénieur INATAA, Constantine, Algérie.

Zamfir, M., Caillewaert, R., Cornea, P.C., Savu, L., Vatafu, L., Devuyst, L. 1999. Purification and characterisation of a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. J. Appl. Microbiol. 87:923-931.

Références bibliographiques

Ziani, R., Gattout, T. 2008. Mise au point des activités antimicrobiennes des bactéries lactiques bactériocinogènes dans le fromage artisanal de type Jben de la Wilaya de Tébessa. Mémoire de Master, Université de Tébessa.

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

(<http://www.belspo.be/bccm/lmg.htm>).

ANNEXE

Articles analysés



Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben)

Mouna Ouadghiri ^a, Mohamed Amar ^{a,*}, Marc Vancanneyt ^b, Jean Swings ^{b,c}

^a *Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRSST),[†] Laboratory of microbiology and Molecular Biology (LMBBM), 32, Bd Omar Ibn El-Khattab, BP 8027-2030 Agdal, Rabat, Morocco*

^b *NCCMIMU Bacteria Collection, Ghent University, Laboratory 33, B-9000 Ghent, Belgium*

^c *Laboratory of Microbiology, Faculty of Sciences, Ghent University, Laboratory 33, B-9000 Ghent, Belgium*

Received 14 April 2005; received in revised form 9 June 2005; accepted 9 August 2005

First published online 27 August 2005

Edited by W. Knaflitz

Abstract

The bacterial diversity occurring in traditional Moroccan soft white cheese, produced in eight different regions in Morocco, was studied. A total of 164 lactic acid bacteria were isolated, purified and identified by whole-cell protein fingerprinting and rpo-PCR genomic fingerprinting. The majority of the strains belonged to the genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* and *Enterococcus*. Notable species were identified: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus raffinolactis*, *Leuconostoc pseudomenentisoides*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citrium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus nankaiensis* and *Streptococcus* sp.

© 2005 Federation of European Microbiological Societies. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Moroccan soft white cheese; Identification; Lactic acid bacteria; Biodiversity; Protein fingerprinting; (GTG)_n-PCR genomic fingerprinting; GelCompar II

1. Introduction

Moroccan soft white cheese is a traditional dairy product that has been known and highly appreciated by consumers for centuries. It is widely manufactured and consumed in Morocco, especially in the "Ramadan" fasting month. Benkerroum and Tamime [1] have recently reviewed the scientific, technological, and tech-

nology transfer aspects of Moroccan traditional dairy products Jben (fermented skimmed milk), Jben (soft white cheese), and Smeen (fermented butter). The traditional soft white cheese (Jben) made from non-pasteurized milk, is characterized by a total dry matter of about 35% and a pH lower than 4.5 [2]. Nowadays, Jben is also prepared from pasteurized milk. The final characteristics of a typical Jben are variable and affected by preparation of the cheese. Its production does not conform with official hygiene and other regulatory standards and follows informal marketing routes. The microflora of Jben is dominated by lactic acid bacteria (LAB) present in a range of at least 10^8 – 10^9 cfu/g [3,4]. No comprehensive identification study on the LAB flora has been performed. Among phenotypic

[†] Website: <http://www.cnam.ma> and Institution site: <http://www.cnr.ac.ma>.

* Corresponding author. Tel.: +212 37 77 86 36/61 22 98 85; fax: +212 37 77 12 89/6 36.

E-mail addresses: amar@cnr.ac.ma, mohamedamar2@sohu.com (M. Amar).

Full Length Research Paper

Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (*Killa*) prepared from cow's milk

Guetouache, M.^{1,2*} and Guessaa, B.²

¹Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Science, University of Mohamed Elbahadji M'sila, 28 000, Algeria.

²Laboratory of Applied Microbiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Oran University, Algeria.

Received 17 November, 2014; accepted 12 January, 2015

Various types of fermented dairy products exist worldwide. Their nature depends on the type of milk used, pretreatment, fermentation conditions and subsequent treatment. The fermentation of milk primarily involves lactic acid bacteria (LAB). Among these, the *Killa* is a hard variety cheese made by using the traditional procedures in the home, without using a starter culture. The different samples of traditional cheese (*Killa*) studied were collected from the rural area of the province of Djelfa. Isolates were phenotypically characterized by their capability to ferment different carbohydrates and additional biochemical tests. 152 lactic acid bacterial strains were isolated, purified and identified to all belong to the genus, *Lactobacillus*, their proportion were *Lactobacillus plantarum* (13.84%), *Lactobacillus casei* (13.15%), *Lactobacillus fermentum* (21.97%), *Lactobacillus acidophilus* (12.38%), *Lactobacillus brevis* (14.38%), *Lactobacillus alimentarius* (00.00%), *Lactobacillus intestinalis* (00.06%) and *Lactobacillus helveticus* (04.68%). These lactic acid bacteria were isolated against *Staphylococcus aureus*. Isolates *L. fermentum*, *L. intestinalis* and *L. acidophilus* were selected for their strong bacteriocidal activity against *S. aureus*.

Key words: *Killa*, lactic acid bacteria, identification, characteristics, *Lactobacillus*, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCTION

Milk is the lacteal secretion obtained by the complete milking of mammals. Due to its high nutritional value for human beings, it is a significant food of nutrition for immense population on earth. When temperature is suitable for growth of microorganisms, the milk appears as an excellent medium for their growth. The milk is contaminated very easily if it is handled carelessly and produced unhygienically, resulting in its early spoilage (Baharulish et al., 2013). Fermented milk is a dairy product providing the

human diet with nutritious compounds of varied flavors, aromas and textures. These products are based on the metabolic activity of lactic acid bacteria which ferment sugars, especially glucose and galactose, to produce lactic acid and aroma substances that give typical flavors and tastes to fermented products. Several types of fermented milk products have been reported to exist throughout the world. The most popular ones in North African are Jben, Lben, *Killa* and Rab (Mechal and Kran, 2006). The name

*Corresponding author. E-mail: meureseg33@yahoo.com. Tel: 213 0549537824.

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened *bouhezza* cheese

Ouarda Ainzouli Zitoun ^{1*}, Leila Benzecellah ^{1*}, El Hachachi Ghennam ² and Mohammed Nouredine Zidoune ¹

¹ Laboratoire de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Institut de la Nutrition et de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Université Mouloud El Bacha, Route Ain El Bey, Constantine, Algérie. ² Département d'Agronomie, Faculté des Sciences, Université Hadj Lakhdar Banna, Algérie
 e-mail: ouardaz@univ-bes.fr, leilabenat2005@univ-bes.fr, ghennam@univ-bes.fr, zidoune@univ-bes.fr

Received 7 February 2011, accepted 4 April 2011.

Abstract

Bouhezza is a traditional cheese known in the east of Algeria. The aim of this study was to describe its particular cheese-making and to show the resulting physicochemical, microbiological and sensory characteristics. According to a traditional diagram, a triple manufacture was undergone in three pasteurized containers with "liben" and raw cows milk during ten weeks. Results show how dry matter, fat, protein and soluble nitrogen increase during the particular cheese-making and simultaneous ripening. In the final *bouhezza* cheese (10 weeks of age) the dry matter level reached about 25.9 g/100 g with a rate of 37.56% of soluble nitrogen per total nitrogen, lactic acid of 3 g/100 g of cheese and pH of 4. *Bouhezza* microflora was constituted especially of lactobacilli and lactococci (10⁷ to 10⁸ cfu g⁻¹). Other bacteria groups, like moulds, enterobacteria, proteolytic and lipolytic flora, were present. Sensorial evaluation of ripened samples permits the distinction of two major families of odours and aroma characteristics: lactic and animal.

Key words: Algerian *bouhezza* cheese, traditional cheese-making, ripening.

Introduction

Several traditional cheeses exist in the Mediterranean countries since the highest antiquity. Many of them are produced only in restricted geographical areas and consumed locally. Approximately 10 types of traditional cheese are produced in different areas of Algeria, but the most known are only *bitila* and *djibec*¹. Among the less known are *bouhezza*, *mechoues* and *madeghiza* in the east of Algeria (Chaouia region), *iskawenwite* and *owuler* in the south or Igouanane in the middle north (Kabily region). *Bouhezza* seems to be the only ripened traditional cheese.

Cheese-making process involves succeeding operations of coagulation, draining, salting and for some cheeses also ripening. For *bouhezza* cheese manufacturing is different. Villagers produce *bouhezza* cheese from raw milk. Depending on the livestock of the families, goats, ewes and/or cows milk can be used. The particularity of its process is the simultaneous occurring of spontaneous coagulation, salting, draining and ripening operations in a natural and permeable animal skin bag. Other cheeses, ripened in goatskin bags, are known in Turkey (*ulunm cheese*)^{2,4} and Lebanon (*darfrych cheese*)^{4,5} and largely studied. Researches related to manufacturing, chemistry, biochemistry, microbiology and volatile compounds during ripening.

Considering the limited information available concerning cheese-making, chemical composition and bacterial community of *bouhezza* cheese, description and characterization of its manufacturing has started in our Laboratory of Nutrition and Food Technology (L.N.T.A.), since about ten years ago. Our investigations and enquiries through the east region of Algeria gave us a first presentation of the cheese and its geographical demarcation^{4,6}. In order to contribute to the preservation of this cheese the present paper aims to pursue investigations on

bouhezza cheese to discuss the evolution of its chemical and microbiological composition during ten weeks of manufacture and to complete its descriptive "technical card". Also some sensorial characteristics were approached.

Materials and Methods

Study of diagram and different analyses will establish technical card of *bouhezza* cheese as proposed by FAO for several cheeses in the developing countries⁴.

Raw material: Raw cows milk and traditional liben were provided by a farm having a same herd of cow during the whole period of manufacture. The liben was obtained by churning and partially skimming of spontaneously fermented milk.

For the preparation of the "cheekous" and the salting of curd matter, iodized salt was used (ENASEL, Algeria). Powder of red hot pepper was used for spicing the cheese.

Cheese-making diagram: Traditional diagram of *bouhezza* cheese-making is illustrated in Figure 1. Skin bag containers used for manufacturing were obtained according to a traditional diagram. Three goatskins were recuperate and left until purification to taking off the floccs. Then they were washed and scraped to eliminate meat or fat residues and coated with salt and juniper berry's powder (3 days at room temperature). The bag containers were obtained after making the external face inside and sewing the posterior circumferences. After washing and before receiving the curd matter for starting cheese-making, each cheekous which has about 10 L of capacity was left for one night in contact with about 2 L of liben. This liben was thrown out and the cheese-making can be started.

* These two authors contributed equally to the present work.

Résumé

Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Ces produits sont issus de la transformation du lait dans le but de prolonger sa durée de conservation. Dans ce contexte l'objectif de notre travail était de faire une étude qui mettra en valeur les produits du terroir, plus particulièrement les fromages fabriqués traditionnellement et de pouvoir imposer des normes pour les rendre industriels dans l'avenir, afin d'éviter leur disparition. Malheureusement, vu l'état sanitaire actuel que connaît notre pays et le monde entier, nous n'avons pas pu faire de pratique, mais ceci ne nous a pas empêché de faire une recherche sur ses produits traditionnels en analysant trois articles dont chacun a fait l'étude d'un fromage traditionnels, qui sont : Jben, Klila et Bouhezza. L'étude des trois articles consiste à faire des analyses microbiologique, physico-chimique, statistique et sensorielle des trois types de fromages traditionnels.

Les résultats des articles ont montré que dans le fromage appelé « Jben », les agents pathogènes telles que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* ont été détectés et les bactéries lactiques aussi sont très nombreuses. Alors que dans le fromage « Klila » *Salmonella* et *Staphylocoques* n'ont pas été trouvés. Les bactéries lactiques sont présentes à des taux faibles mais ceci n'a pas empêché leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de *S.aureus* suite à la production de bactériocine. Dans le fromage appelé « Bouhezza », la microflore dominante est constituée de bactéries lactiques. Les levures et moisissures existent aussi mais à des taux très faibles ; L'étude sensorielle a révélé que Bouhezza est caractérisé par deux principaux facteurs qui le caractérisent : l'arôme et l'odeur. Un produit laitier fabriqué traditionnellement ne peut en aucun cas être de très bonne qualité hygiénique qui diffère d'un lieu à un autre, du protocole et des conditions de fabrication. Cette qualité peut devenir meilleure dans l'avenir une fois que le produit deviendra industriel.

Mots clés : Fromage, analyses, caractéristiques, bactérie lactique, agent pathogènes.

Abstract

Our country has a well-established tradition of dairy products, passed down from one generation to another through the centuries. These products are derived from the processing of milk in order to extend its shelf life. In this context, the objective of our work was to make a study that will put in value the products of the soil, more particularly the cheeses manufactured traditionally and to be able to impose norms to make them industrial in the future, to avoid their disappearance. Unfortunately, given the current sanitary state that our country and the world knows, we have not been able to do any practice, but this has not prevented us from doing a research on its traditional products by analyzing three articles each of which has made the study of a traditional cheese, which are : Jben, Klila and Bouhezza. The study of the three articles consists of microbiological, physicochemical, statistical and sensory analyses of the three types of traditional cheeses.

The results of the articles showed that in the cheese called "Jben", pathogens such as *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.* were detected and lactic acid bacteria were very numerous. While in the cheese "Klila" *Salmonella* and *Staphylococcus* were not found. Lactic acid bacteria were present at low levels but this did not prevent their inhibitory power against *S.aureus* due to the production of bacteriocin. In the cheese called " Bouhezza ", the dominant microflora is constituted by lactic bacteria. Yeasts and moulds also exist but at very low levels; the sensory study revealed that Bouhezza is characterized by two main factors: the aroma and the smell. A traditionally manufactured dairy product can never be of very good hygienic quality, which differs from place to place, from protocol and from manufacturing conditions. This quality may become better in the future once the product becomes industrial.

Keywords: Cheese, analysis, characteristics, lactic bacteria, pathogen.

ملخص

تتمتع بلادنا بتقاليد متناقلة عبر الاجيال في مجال منتجات الالبان. هذه المنتجات ناتجة عن معالجة الحليب لإطالة مدة صلاحيته. في هذا السياق، كان الهدف من عملنا إجراء دراسة تسلط الضوء على المنتجات المحلية، خاصة الأجبان المنتجة تقليدياً، مع فرض معايير تجعلها صناعية في المستقبل، من أجل تجنب اندثارها.

مع الأسف، نظراً للجائحة التي تمر بها بلادنا والعالم بأسره. لم نتمكن من القيام بممارسة تطبيقية لكن هذا لم يمنعنا من إجراء بحث على هذه المنتجات التقليدية من خلال تحليل ثلاثة مقالات التي تضمنت دراسة الأجبان التقليدية وهي: "جين" "كليلة"، "بوهزة".

تعتمد دراسة المقالات الثلاثة على إجراء تحليلات ميكروبيولوجية، فيزيائية، كيميائية، احصائية وحسية لأنواع الثلاثة للأجبان التقليدية.

أظهرت نتائج المقالات انه في الجبن المسمى " جبن " تم رصد مسببات الامراض مثل *Salmonella spp* و *Staphylocoque* في جبن "كليلة"، اما بكتريا *listeria monocytogenes* بالإضافة الى وجود بكتريا حمض اللاكتيك بكثرة. بينما لم يتم العثور على *Salmonella* و *Staphylocoque* في جبن "كليلة"، اما بكتريا حمض اللاكتيك فوجدت بمعدلات منخفضة لكن هذا لم يمنع قوتها المثبطة ضد *S.aureus* بعد انتاج البكتيريوسين.

في الجبن "بوهزة" البكتيريا المهيمنة هي بكتيريا حمض اللاكتيك، كما توجد أيضاً الخمائر والعفن الفطري بمعدلات منخفضة جداً. كشفت الدراسة الحسية ان "بوهزة" يميزه عاملين أساسيين يتمثلان في النكهة والرائحة.

لا يمكن أن تكون الألبان المنتجة تقليدياً بجودة صحية جيدة في اي حال من الأحوال، والتي تختلف من مكان إلى آخر، من حيث البروتوكول وشروط التصنيع. قد تتحسن هذه الجودة في المستقبل بمجرد أن يصبح المنتج صناعياً.

الكلمات المفتاحية: الجبن، تحليل، خصائص، بكتيريا حمض اللاكتيك، مسببات الامراض.