



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Center Universitaire Salhi Ahmed Naâma
Faculté des sciences et technologie
Département des sciences de la nature et de la vie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité « Microbiologie Appliquée »

Thème

Etude physico-chimique et microbiologique d'un fromage
Frais traditionnel « Klila».

Réalisée par :

M^{elle} BOUFELDJA Ikram

M^{elle} ZAHAF Souad

Soutenue le : 28-09-2020

Devant le jury :

Présidente : Mme DEROUICHE Salima (M.A.B) C. U. de Naâma

Encadreur : Mme LAGHA Nouria (M.C.A) C.U .de Naâma

Examinatrice : Mme BENGHALEM Ibtissem (M.A.B) C.U. de Naâma

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH tout puissant de m'avoir donné La patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.

On tient à remercier notre promotrice **Dr.LAGHA N**, pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour ses encouragements, ses conseils et ses orientations. Merci de nous avoir guidées avec patience et d'avoir été à l'écoute tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos profonds remerciements vont à **Mme DEROUICHE SALIMA** présidente du jury d'être accepté nos présider et examiner notre travail malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations.

Nos profonds remerciements vont à notre examinatrice **Mme BENGHALEM IBTISSEM** d'être accepté à examiner notre travail nous remercions énormément.

Nous remercions tous nos enseignants, pour leur patience et tout les efforts et leurs conseils pendant nos étude.

Nous remercions nos collègues de la promotion master 2 Microbiologie Appliquée.
Merci pour toute aide, des ingénieurs de laboratoire de microbiologie de l'université "Salhi Ahmed de Naama".

À vous tous, un grand Merci.

Dédicace

Avec l'aide de "DIEU", j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A celui qui a été toujours mon support dans cette vie, celui qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer, qui s'est sacrifiée pour ma joie et ma réussite, qui a toujours été à mes côtés pour m'aider.

« Mon cher papa »

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, La reine de l'amour, la source d'espoir, ma guide dans la vie « ma mère ».

A mes chers frères: Faiza, Hanane, Wahiba, Soumia".

A mes chers frères: Azzeddine, Abdelkader.

A mes neveux nièces : Amani, Bissane .

A tous mes amis, chacun par son nom et plus particulièrement à mon cher binôme "ikram".

A la promotion de microbiologie " 2019-2020 "avec qui j'ai partagé une année de travail et de souvenirs.

Mes enseignants qui m'ont accompagné tout au long de mon cursus d'études, qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

Souad

Dédicace

Avec l'aide de "DIEU", j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie

À mon très cher père, pour sa confiance, ses encouragements et son soutien dans toute ma carrière d'étude dès le premier pas jusqu'à ce jour-là et qui m'appris que la patience est le Secret du succès.

À la source de la tendresse, ma mère qui m'a beaucoup aidé dans mes études. Pour sa gentillesse, pour les sacrifices qu'elle a faits, pour mon éducation et la confiance et l'amour qu'elle m'a toujours accordés.

À mes frères et sœurs, pour leur soutien et leurs encouragements.

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, et aussi a la famille : Fekir et Mirasli.

A tous mes amis, chacun par son nom et plus particulièrement à mon cher binôme "souad".

A la promotion de microbiologie " 2019-2020 "avec qui j'ai partagé une année de travail et de souvenirs.

Mes enseignants qui m'ont accompagné tout au long de mon cursus d'études, qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

ikram

ملخص

في الجزائر، كما هو الحال في العديد من الدول الأخرى في جميع أنحاء العالم، نجد منتجات ألبان أصلية تستمد طريقة تصنيعها من التراث الثقافي للسكان، وهذه المواد ناتجة عن تحويل الحليب من أجل إطالة مدة صلاحيته. من بين منتجات الألبان التقليدية الجزائرية، الجبن التقليدي المسمى كليلة. هذا الأخير مصنوع من حليب البقر أو الأغنام أو الماعز. يمكن استخدامه طازجا أو بعد التجفيف والتخزين.

الهدف من الدراسة هو تقييم الصفات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لعينتين من كليلة محضرتين من حليب البقر والماعز والتي تعتبر الأكثر استغلالا لإنتاج الحليب المخصص للاستهلاك البشري.

أظهرت التحاليل الفيزيائية والكيميائية التي أجراها "حملة حسن وبلجرون خديجة" أن عيني كليلة الطازجة حامضية بدرجة حموضة عالية. ولقد تأثرت القيم الفيزيائية والكيميائية الأخرى (الحموضة المعاييرة، المادة الجافة، محتوى الدهون والرماد) بمستوى الرضاعة والموسم، لكن منتجاتنا لا تزال مرضية.

أظهرت التحاليل الميكروبيولوجية أن عينات الكليلة غنية ببكتيريا اللاكتيك، ولا تحتوي على أي بكتيريا مسببة للأمراض مثل (القولونيات البرازية، والمكورات العنقودية الذهبية، والسلمونيلا، إلخ) لذلك فإن غيابها يشير إلى أن الجودة الميكروبيولوجية لهذا المنتج مرضية، وبالتالي فهو ذات جودة عالية.

الكلمات المفتاحية: كليلة ، جبن تقليدي ، التحاليل الفيزيائية و الكيميائية ، الجودة الميكروبيولوجية

Abstract

In Algeria, like in the different other countries of the world there are indigenous dairy products in the manufacturing world that derives from the cultural heritage of the population. The products come from the processing of milk in order to extend its shelf life. Among the traditional dairy preparations called “klila”, the lost one made from con’s milk, sheep or goad. It can be used fresh or after drying and storage.

The objective of the study is to assess the physic-chemical and microbiological qualities to samples of “Klila” prepared from cow and goat milk which are considered to be the most exploited for milk production for human consumption.

Physico- chemical analyzes carried out by “hamla hacen and Belgrone khadidja” show that the two samples of fresh “Klila” is acidic with a high acidity.

The content of other parameters physic-chemical (MG, EST, Titratable acidity and ash content) were influenced by the lactation level and the season but the production is still satisfactory.

The microbiological analyzes show that klila samples are rich in lactic flora, they don’t contain any pathogenic germs such as aurous, Salmonella, coliforms...etc. Therefore their absence indicates that the quality of this product is satisfactory, so they are of good quality.

Keywords: Klila, traditional cheese, Physico-chemical analyzes, Microbiological quality.

Résumé

En Algérie, comme dans les différents autres pays du monde on retrouve des produits laitiers indigènes dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population. Ces produits sont issus de la transformation de lait dans le but de prolonger sa durée de conservation. Parmi les préparations lactières traditionnelles algériennes le fromage traditionnel dénommé Klila. Ce dernier fabriqué à base de lait de vache, de brebis ou de chèvre. Il peut être utilisé à l'état frais ou après séchage et conservation.

L'objectif de l'étude est d'évaluer les qualités physico-chimiques et microbiologiques de deux échantillons de Klila préparés à base de lait de vache et de chèvre qui sont considérées comme les plus exploitées à la production lactière destinée à la consommation humaine.

Les analyses physico-chimiques réalisées par "Hamla Hacen et Belgroune Khadidja" montrent que les deux échantillons de Klila fraîche est acide avec une acidité élevée. La teneur des autres paramètres physico-chimiques (MG, EST, l'acidité titrable et taux des cendres) a été influencée par le niveau de lactation et la saison mais le produit reste toujours satisfaisant.

Les analyses microbiologiques montrent que les échantillons de klila sont riches en flore lactique, ils ne contiennent aucune germe pathogène tels que les coliformes fécaux, Staphylococcus aureus, Salmonella etc... donc leur absence indique que la qualité microbiologique de ce produit est satisfaisante, donc ils sont de bonne qualité.

Mots clés: Klila, fromage traditionnel, Analyses Physico-chimiques, Qualité microbiologique,

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

Aw : Activité Water.

°C : Degré Celsius (unité de la température).

°D : Degré Dornic.

DCL : Désoxycholate-citrate-lactose.

EST : Extrait Sec Total.

FAO : Food and Agriculture.

FTAM : Flore totale aérobie mésophile.

g : gramme.

GN : Gélose Nutritive.

MG : Matière Grasse.

ml : millilitre.

min : minute.

MRS : Man, Rogosa, Sharpe.

NPP : Nombre plus probable.

OMS : Organisation Mondiale pour la Santé.

OGA : Gélose glucosée à l'oxytétracycline.

PCA : Plat Count Agar.

pH : potentiel d'Hydrogène.

SS : Salmonella, Shigella.

TSE : Tryptone Sel Eau.

UFC : Unité Formant Colonie.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les caractéristiques physico-chimiques du lait.....	8
Tableau 2 : Les Caractéristiques organoleptique du lait.....	9
Tableau 3 : Flore microbienne du lait.....	11
Tableau4: Caractéristiques physico-chimiques de Klila à base de lait de vache et chèvre.....	34
Tableau 5: Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes dans le fromage artisanal klila de vache et de chèvre.....	38

Liste des figures

Figure 1 : Proportion relative des principaux composants de lait.....	7
Figure 2 : Procédés de fabrication des principaux produits laitiers algériens.....	14
Figure 3 : Les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait.....	16
Figure 4 : Fromage Bouhezza.....	17
Figure 5 : Fromage traditionnel de type Klila frais et sèche.....	20
Figure 6 : Diagramme de fabrication de fromage artisanal klila.....	20
Figure 7 : Carte géographiques de la zone de prélèvement.....	22
Figure 8 : Diagramme de fabrication du « Klila ».....	23
Figure 9 : Valeurs du pH des fromages Klila de vache et de chèvre.....	35
Figure 10 : Valeurs de l'acidité titrable des deux échantillons.....	35
Figure 11 : Valeurs de la teneur en matière sèche des deux échantillons.....	36
Figure 12 : Les valeurs de la teneur en matière grasse de klila de vache et de chèvre.....	37
Figure 13 : Valeurs du taux de cendres dans Les fromages artisanaux.....	37
Figure 14 : Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sur GN en Log (UFC/ml ou g) de deux échantillons.....	39
Figure 15 : Résultats de dénombrement des lactobacilles sur gélose MRS en Log (UFC/ml ou g) de deux échantillons.....	39
Figure 16 : Résultats de dénombrement des lactocoques sur gélose M17 en Log (UFC/ml ou g) des différents échantillons.....	40
Figure 17 : Résultats de dénombrement des levures sur milieu OGA en Log (UFC/ ml ou g).....	41
Figure 18 : Résultats de dénombrement des moisissures sur milieu OGA en Log (UFC/ ml ou g).....	38

Liste des Photos

Photo 1 : Détermination du potentiel d'hydrogènes par pH mètre	24
Photo 2 : Détermination de l'acidité titrable « Dornic ».....	25
Photo 3 : Résultats des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	32
Photo 4 : Résultats de la Flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	33
Photo 5 : Résultats des coliformes fécaux	33
Photo 6 : Résultats des coliformes Totaux	33

Table des matières

Remerciement.....	I
Dédicace.....	II
ملخص.....	IV
Abstract.....	V
Résumé	VI
Liste des abréviations.....	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Listedes figures.....	IX
Liste des photo	X
Introduction	1

Première partie : Synthèse Bibliographique

I-Généralités sur le Lait.....	5
1- Définition du lait.....	5
2-Composition du lait.....	5
2-1. Eau.....	5
2-2. Glucide	6
2-3. Matière azotée.....	6
2-4. Minéraux.....	6
2-5. Matière grasse.....	6
2-6. Enzymes.....	7
3- Caractéristiques physico-chimiques.....	8
4-Caractéristiques organoleptique.....	8
4-1. Couleur.....	9

4-2. Odeur.....	9
4-3. Viscosité.....	10
4-4. Saveur.....	10
5- Microflore du lait.....	10
5-1. Flore Originelle.....	11
5-2. Flore de contamination.....	11
5-2.1.Flore d'altération.....	11
5-2.2.Flore pathogène.....	12
II-Généralités sur le Fromage et les produits laitiers.....	13
1-Définition de fromage.....	13
2-Technologie des fromages.....	13
2-1.Coagulation.....	13
2-2. Egouttage.....	13
2-3.Affinage.....	14
3-Produits laitiers traditionnels.....	14
3-1.Rayeb	15
3-2.L'ben.....	15
3-3.Zebda.....	15
3-4.Smen.....	16
3-5.Jben.....	16
3-6.Bouhezza.....	16
3-7.Takammarit.....	17
3-8.Klila.....	18

3-8.1.Définition.....	18
3-8.2. Composition chimique.....	18
3-8.3.Caractéristiques physiques et chimiques.....	18
3-8.4.Caractéristiques microbiologique.....	18
3-8.5. Mode de fabrication.....	18
3-8.6. Diagramme de fabrication de fromage artisanal klila.....	20

Deuxième partie : Matériel et méthodes

1-Objectifs du travail.....	22
2. Lieu et période d'étude.....	22
3-Description de la zone de prélèvements.....	22
4-Echantillonnage.....	22
5- Fabrication de fromage traditionnel « Klila ».....	23
6-Caractérisation du fromage artisanal « Klila »	24
6-1.Caractérisations physicochimiques	24
6-1.1.Détermination du potentiel d'hydrogènes pH	24
6-1.2. Détermination de l'acidité titrable « Dornic ».....	24
6-1.3. Détermination de la matière sèche.....	26
6-1.4. Détermination de la matière grasse.....	26
6-2. Caractérisations microbiologiques.....	27
6-2.1. Préparation de la solution mère et des dilutions.....	27
6-2.2. Préparation des dilutions décimales.....	27

6-2.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	27
6-2.4. Dénombrement des coliformes totaux et les coliformes fécaux.....	28
6-2.5. Dénombrement des streptocoques fécaux.....	28
6-2.6. Recherche des salmonelles.....	29
6-2.7. Recherche des Staphylocoques.....	29
6-2.8. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs.....	30
6-2.9. Dénombrement des levures et moisissures.....	30
6-2.10. Dénombrement des bactéries lactiques.....	30
6-2.10.1. Les lactobacilles.....	30
6-2.10.2. Les lactocoques.....	30

Troisième partie : Résultats et discussion

Résultats	32
I-Résultats de notre étude.....	32
II-Synthèse des résultats d'une étude	34
1-Résultats des caractères du fromage artisanal klila	34
1-1. Caractérisations physicochimiques	34
1-1.1.pH.	35
1-1.2. Acidité titrable.....	35
1-1.3. Matière sèche.....	36
1-1.4. Matière grasse.....	36
1-1.5. Taux de cendre	37

1-2. Caractérisations microbiologiques.....	38
1-2.1. Flore totale aérobie mésophile (FTAM.....	38
1-2.2. Lactobacilles.....	39
1-2.3. Lactocoques.....	40
1-2.4. Levures et moisissures.....	40
1-2.5. Recherche et dénombrement des coliformes et streptocoques.....	41
1-2.6. Recherche des germes pathogène.....	42
Discussion.....	43
Conclusion et Perspectives	46
Références bibliographiques.....	49
Annexes.....	59



Introduction



Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne grâce à la richesse de sa composition et la variété de ses constituants, Il est considéré comme une source intéressante d'énergie, de protéines et de calcium pour les nourrissons et les jeunes enfants qui ont peu de sources alternatives pour ces nutriments, qui semblent nécessaires au bon développement de l'organisme humain.. Sa transformation nous permet d'obtenir une très vaste gamme de produits dérivés (**Yildiz, 2010**).

En Algérie, comme dans plusieurs autres pays du monde, une grande variété de produits laitiers fermentés, est préparée traditionnellement dont le but est la bio-préservation du lait pour utilisation ultérieure (**Hamla et Belgroune, 2019**). Ainsi Pour éviter tout gaspillage, étant donné que le lait est un denrée rapidement périssable, l'essentiel de la production doit être transformé (**Bencharif, 2001**). La méthode de conservation la plus simple est de le transformer en fromage (**Chamba, 2008**).

Le fromage naturel a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation du lait. Source précieuse de protéines, le fromage a été l'un des premiers moyens de conservation du lait (**Bouraoui, 2014**). La production de fromage en Algérie, est toujours faite d'une manière traditionnelle à l'échelle familiale.

Parmi la longue liste des fromages traditionnels produits en Algérie, seuls le "jben" et la "Klila", sont connus (**Hallel, 2001**). La "Klila" est un fromage traditionnel préparé à base du lait de vache, brebis ou de chèvre .sa méthode traditionnelle de fabrication est encore en usage à nos jours. Néanmoins, il y a une augmentation de la demande des consommateurs pour ce type de fromage, en raison de ses agréables propriétés organoleptiques et nutritionnelles. Elle est caractérisée par une fermentation spontanée des flores originelles du lait, à température ambiante. Après coagulation et égouttage, le produit est consommé à l'état frais (**Mennane et al., 2007**), ou après séchage pendant plusieurs semaines (**Boubekri et Ohta, 1996**). Dans ce dernier cas, le produit est utilisé aussi comme ingrédient, après réhydratation dans diverses préparations culinaires.

Plusieurs facteurs de risques de contamination du fromage aux différents stades de sa fabrication entrent en jeu, ce qui nous a poussés à réaliser ce travail. Qui vise à étudier : les

qualités physico-chimiques et microbiologiques du fromage artisanal Klila fraiche préparé à partir du lait de vache et de chèvre de la région de Naâma.

La première partie, se résume en une synthèse bibliographique portant des généralités sur le lait (capitre1), suivie d'un 2ème chapitre sur les produits laitiers.

La deuxième partie pratique, décrit le matériel et les méthodes utilisées dans la caractérisation physico-chimique et microbiologique du fromage artisanal Klila.

La troisième partie de notre travail rapporte les résultats et leurs discussions.



Première partie :

Synthèse bibliographique



I-Généralités sur le Lait

1- Définition

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes (**Ghaoueset, 2011**). D'après le congrès international de la répression des fraude de 1909, le lait est le produit intégrale de la traite totale est ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée .Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (premier lait de femelle (**Joffin et Joffin, 2010**)).

Ajoutons que le lait a une faible tension superficielle ; il mousse abondamment lorsqu'il est agité et constitue un édifice chimique et physico-chimique très complexe, dont la connaissance parfaite est indispensable à quiconque désire comprendre les principes du traitement et de la transformation du produit (**Alais, 1984**).

2-Composition du lait

Le lait est un substrat très riches, fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (**Larpent, 1997**). Il contient une forte proportion d'eau environ 87%, le reste est représenté par l'extrait sec (environ 130g par litre).les principaux constituants de cet extrait sec : les lipides, les glucides, les protides, les vitamines et les éléments minéraux (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^-) (**Abid, 2015**).

Franworth et Mainville, 2010 évoquent que le lait est reconnu de puis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéine, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

2-1. Eau

L'eau est le constituant majoritaire du lait (905g /l). Elle se trouve sous forme liée ou libre (**Alais, 1984**).

2-2. Glucide

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, ils sont les constituants les plus importants après l'eau (**Perreau, 2014**). Le lactose est fermentes cible par nombreux microorganismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (**Morrissey, 1995**).

2-3. Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes :

- Les protéines qui représente 95% se répartissent entre :
 - 80% de caséines α , β , κ , γ sous forme de micelles car associées à de l'acides phosphorique (phosphocaseinate de calcium).
 - 20% e protéines solubles du lactosérum, Albumines et globulines (**Jeantet et al., 2007**).
- 5% d'azote non protéines se répartissent entre :
 - 5% urée (acides aminés acides uriques nucléotides) et 1% diverses enzymes (oxydase, protéase, lipase) (**Fredot, 2005**).

2-4. Minéraux

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (**Gaucheron, 2004**).ils représentent une quantité variant de 0,6à 0,9% (**Vingola, 2002**).

2-5. Matière grasse

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène (**Filq, 2002**).cette dernier est majoritairement présente sous forme de globule gras de diamètre compris entre 0,2 et 15 μ m (**Jeantet et al., 2007**).

La matière grasse du lait a une importance considérable dans l'industrie laitière, puisque c'est l'un des paramètres de base du paiement du lait par les producteurs (**Luquet, 1985**).

2-6. Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidiques, produites par des cellules ou des organismes vivantes, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

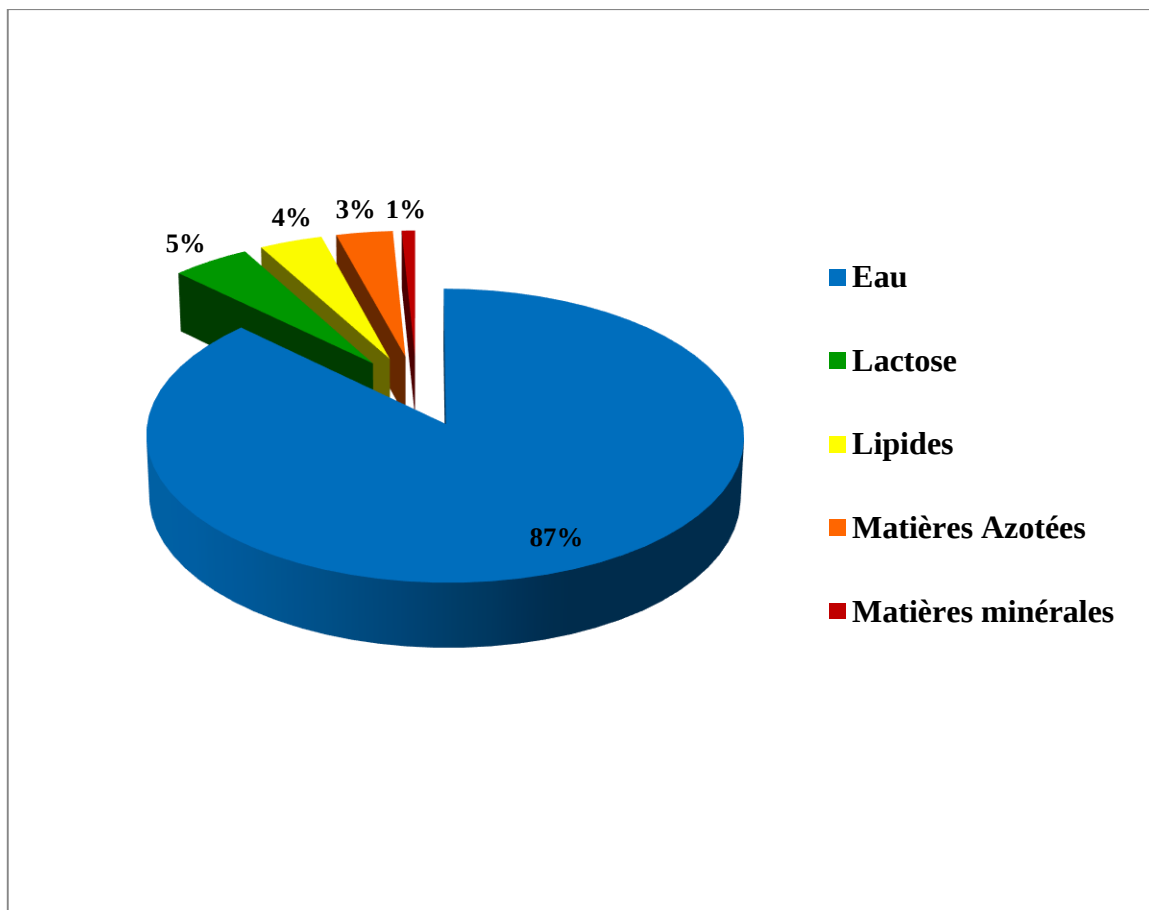


Figure 1 : Proportion relative des principaux composants de lait (**Messaad , 2017**).

3- Caractéristiques physico-chimiques

Le lait est un liquide blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales et même selon les races (**Rahali et Ménard, 1991 ; Soryal et al., 2004**). Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa masse volumique, son point de congélation, son point d'ébullition, son densité et son acidité (**Benboubekur, 2016**).

Tableau 1 : Les caractéristiques physico-chimiques du lait (Abakar, 2012).

		Valeurs
Caractéristiques physiques	pH	6,6 – 6,8
	Température de congélation (°C)	- 0,53
	Densité	1,030 – 1,033
Caractéristiques Chimiques (g / 100g)	Extrait sec total	12,7
	Taux de matière grasse	3,9
	Teneur en matière azotée totale	3,4
	Teneur en caséines	2,8
	Teneur en albumines et globulines	0,5
	Teneur en lactose	4,9
	Teneur en cendres	0,90
	Vitamines, enzymes et gaz dissous	Traces

4- Caractéristiques organoleptique

Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques particulières qui concernent la couleur, l'odeur, la saveur et la viscosité (**Abakar, 2012**). Ces dernières ne peuvent être précises qu'en comparaison avec un lait frais (**Vierling, 2003**).

Tableau 2 : Les Caractéristiques organoleptique du lait (Joffin et Joffin, 2010).

	Couleur	Odeur et Saveur	Consistance
Cas normal	-Blanc-mât : lait normal. -Blanc-jaunâtre : lait riche en crème -Blanc bleuâtre: lait écrémé ou fortement mouillé.	-Odeur faible. -Saveur agréable (variation selon le degré de chauffage du lait)	-Homogène
Cas anormal	-Gris jaunâtre : lait de rétention. -Lait de mammite. -Bleu, jaune : lait coloré par des substances chimique ou par des pigments bactériens.	-Odeur de putréfaction, de moisi, derance. -Saveur agréable (variation selon le degré de chauffage du lait).	-Aspect grumeleux : lait de mammite. Aspect visqueux ou coagulé : lait très pollué par les bactéries

4-1. Couleur

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche plus ou moins jaunâtre due en grande partie à la présence de matières grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**).

4-2. Odeur

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice (**Benboubekeur, 2016**).

Selon **Vierling, 2003** l'odeur caractéristique du lait est due à la matière grasse qu'il contient et qui fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation de l'animale et au mode de conservation du lait.

4-3. Viscosité

La viscosité est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait (**Rheotest, 2010**).

4-4. Saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

5- Microflore du lait

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement (**Gosta, 1995**).

On répartit les microorganismes du lait selon leur importance en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore de contamination. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Kabir, 2015**).

Tableau 3 : Flore microbienne du lait (Bouadjaib, 2013).

Flore originelle		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
<i>Lactobacilles</i> <i>streptocoques</i> <i>lactiques</i>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobactérium</i> <i>Entérobactéries</i> , <i>Microcoques</i> , <i>Corynébactéries</i> <i>Bacillus</i> , <i>Streptocoques faecalis</i> et <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> <i>Coliformes fécaux</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> et <i>Yersinia</i>

5-1. Flore Originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les germes dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Lorsque le lait est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain, il ne contient que peu de microorganismes (moins de 10^3 germes /ml) (Cuq, 2007).

5-2. Flore de contamination

Le lait au cours de la traite du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes. Cette flore est définie étant que l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de récolte jusqu'à la consommation. Elle est composée la flore d'altération, la flore pathogène (Vignola, 2002)

5-2.1. Flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût d'arôme d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Peuvent aussi être pathogènes. Les coliformes et

certaines levures et moisissures sont les principaux genres identifiés comme flore d'altération. (Essalhi, 2002).

5-2.2. Flore pathogène

La présence des microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'homme, l'environnement (Senoussi, 2013). Certaines bactéries pathogènes sont retrouvées habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de se développer (*Brucella*, *Campylobacter fetus* et *Salmonella*). D'autres sont à un niveau appréciable et peuvent se multiplier, c'est le cas des bactéries mésophiles, telles que : *E. coli* et *Staphylococcus aureus* ou l'espèce psychrotrophe *Yersinia enterocolitica* (Jacquet et Veisseyre, 1987).

II-Généralités sur le Fromage et les produits laitiers

1-Définition de fromage

Selon la norme du Codex Alimentaires et la norme internationale FAO/OMS, le fromage affiné ou non affiné est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication **(Luquet et Corrieu, 2005)**. Aux termes de la réglementation française, la dénomination «fromage» est réservée à un produit fermenté ou non, On l'obtient 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 **(Eck, 1997)**.

Le fromage représente un aliment de haute qualité nutritionnelle par sa richesse en protéines de bonne qualité, en calcium et en vitamines **(Vivegnis, 1998)**.

2-Technologie des fromages

Les fromages sont obtenus à partir de différents lait (brebis, vache, chèvre) soit purs soit mélangés. La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales, la coagulation, l'égouttage et l'affinage.

2-1. Coagulation

La coagulation de lait qui se traduit par la formation d'un gel sous l'action d'acide lactique et/ou enzymes, résulte des modifications physicochimiques intervenant au niveau des micelles de caséine **(Benderouich, 2009)**.

2-2. Egouttage

C'est la séparation du lactosérum et du caillé. La préparation de celui-ci se fait dans des moules dans lesquels l'égouttage se poursuit **(Charron, 1988)**.

Ce processus se fait naturellement mais peut être accéléré par découpage, brassage, et parfois chauffage et pressage **(Magri et al., 2016)**.

2-3. Affinage

Après le caillage, tous les fromages autres que les fromages frais passent par toute une série de processus de nature microbiologique, biochimique et physique. L'affinage confère au caillé des caractères physico-chimiques (acidité, pH,...) et organoleptiques (consistance, couleur, aspect et arôme...) (Gripon *et al.*, 1993). Il se traduit par plusieurs phénomènes biochimiques dont les plus importants sont la fermentation du lactose ; la dégradation enzymatique des protéines et l'hydrolyse de la matière grasse (Choisy, 1987).

3-Produits laitiers traditionnels

En Algérie la fabrication de produits laitiers fermentés est essentiellement artisanale. Les produits laitiers traditionnels algériens ont été peu caractérisés. Ils sont semblables à certains produits laitiers largement consommés dans beaucoup de pays méditerranéens et sub-sahariens (Benkerroum, 2013).

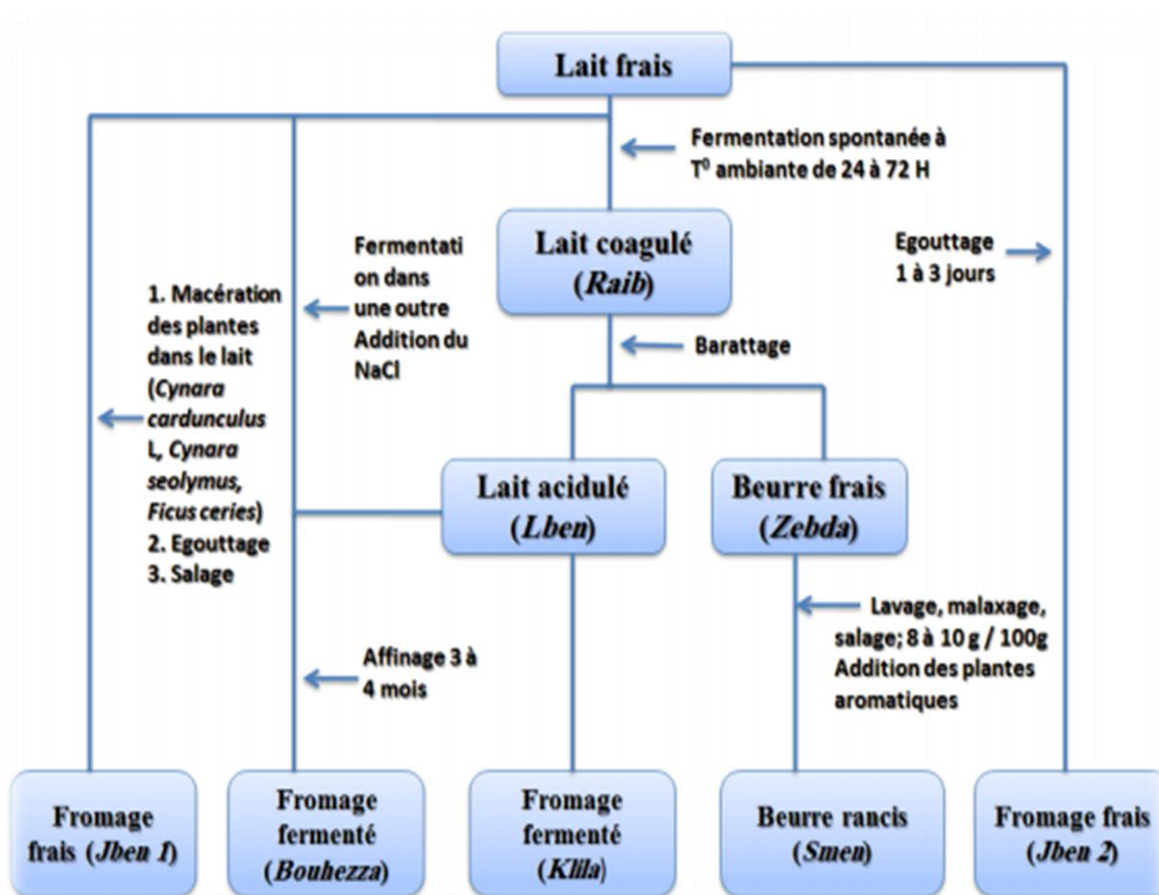


Figure 2 : Procédés de fabrication des principaux produits laitiers algériens (Lahsaoui, 2009).

Les laits fermentés et les fromages sont fabriqués traditionnellement le plus souvent par les femmes à la maison et servent à l'autoconsommation, le surplus pouvant être vendu (**Chabane et Djeddi, 2016**). Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : Raïb, Lben, Zebda, Smen, Bouhezza , Klila, Jben, Takammarit et autres.

3-1. Rayeb

Le Rayeb (Raïb) est un lait caillé, traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante durant une période qui varie de 24h à 72h selon la saison. Le Rayeb est consommé tel quel ou transformé (**Mechai et al., 2014 ; Bendimerad, 2013**). La transformation du rayeb se fait par un barattage et un écrémage dans une peau de chèvre ou de brebis appelé « chekoua », c'est la peau de l'animal non fondue et tannée puis confectionnée sous forme de sac imperméable par la nouaison des différentes ouvertures, l'ouverture du cou de l'animal constituera le col ou la bouche de la chekoua (**Mechai et al., 2014 ; Benkerroum et Tamime, 2004 ; Tantaoui et El marakchi, 1987**).

3-2. L'ben

Le L'ben est un des dérivés laitiers le plus connu dans la transformation artisanale du lait de vache, de brebis ou de chèvre. Il est largement consommé en Algérie (**Mechai et al., 2014 ; Camps, 1984 ; Harrati, 1974- b**). Le lait subit une acidification spontanée par sa flore originelle jusqu'à coagulation. Le caillé obtenu est introduit dans la Chekoua où il subit une forte agitation ou barattage (**Belbeldi, 2012**), le barattage dure 30 à 40 minutes et séparation du beurre (**Ouadghiri, 2009**).

3-3. Zebda

Zebda (beurre frais) est obtenu après barattage du lait fermenté (rayeb), ce dernier est placé dans un sac de peau appelé Chacoua (environ 10 L), puis baratté jusqu'à la formation d'un liquide appelé Lben et une matière grasse appelé beurre cru ou zebda beldia (**Benkerroum et Tamime, 2004**). 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 grains de beurre (**Abdelmalek, 1978**).

3-4. Smen

Dans le but de la conservation et de l'exploitation du surplus, le Zebda en excès est transformé en Smen (**Benali et Sifer, 2015**). Le Zebda ou le beurre frais est lavé dans une eau tiède, puis cette eau est remplacée par une saumure, l'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une eau claire ce qui indique que le beurre est dépourvu du Leben résiduel, le beurre après est salé (8-10g /100g) puis conditionné dans un pot en poterie (**Mokarem, 2016**).

3-5. Jben

Le J'ben est un produit laitier connu et consommé en Algérie depuis fort longtemps au niveau des zones steppiques et sahariennes aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain (**Bounecissa, 2016**). Traditionnellement, le fromage "Jben" est fabriqué avec du lait cru de brebis ou de chèvre, acidifié spontanément ou coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale (**Bendimerad, 2013**), issues des fleurs de cardo (*Cynara cardunculus* L) ou d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut(*Cynara scolymus*), ou alors du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (**Nouani et al., 2009**), pour assurer la coagulation ou par ajout de caillette séchée (hakka) de jeunes ruminants est macéré dans le lait , et l'égouttage se fait dans une mousseline pendant 2 à 3 jours suivant la saison. le coagulum obtenu après cette opération représente le jben (**Ouadghiri et al., 2005**).



Figure 3 : Les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait (Chabane et Djeddi, 2016).

3-6. Bouhezza

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, préparé à l'origine à partir du lait de chèvre ou de brebis, mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache. 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**). Le fromage est obtenu après transformation du Lben dans une outre « la Chekoua », faite de peau de chèvre préalablement traitée avec du sel et du genièvre (**Aissaoui et al., 2006**).

Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément dans une outre perméable traitée, pendant 3 à 4 mois. Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière (**Lemouchi, 2008**).



Figure 4 : Fromage Bouhezza (Aissaoui et Zidoune, 2006).

3-7. Takammarit

Takemmart est un fromage de la région désertique du Hoggar, il est produit par l'introduction d'un morceau de caillette de jeunes chevreaux dans le lait (**Mahamedi, 2015**). Le caillé est retiré à l'aide d'un louche et déposé en petits tas sur une natte pour être pétri afin d'évacuer tous le sérum .Puis le caillé est déposé dans une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne un certain arôme. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage, il peut subir un affinage durant un mois (**Bousnane et Djadi, 2009**).

3-8. Klila

3-8.1. Définition

Klila est un dérivé du Lben produit dans plusieurs régions de l'Algérie (**Bendimerad, 2013**). Il est produit pour éviter la dégradation du Lben durant la phase de stockage (**Benkerroum et Tamime, 2004**). La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (**Touati, 1990**).

3-8.2. Composition chimique

Elle varie considérablement entre les différentes régions, et surtout ce qui concerne la composition la Kila est très riche en protéines, et en matières grasses, avec une teneur d'eau variée selon le mode de fabrication et un pH très bas ce qui explique l'augmentation de l'acidité de ce produit (**Mennane et al., 2007**).

3-8.3. Caractéristiques physiques et chimiques

Klila est caractérisé par un pH acide qui varie entre 4,01 à 5,6 et une acidité Dornic variable entre 45 et 167,4°D (**Benlahcen et al., 2017**). C'est un fromage très sec (matière sèche > 90%) avec une activité d'eau très faible ($A_w < 0.500$) (**Benamara et al., 2016**).

3-8.4. Caractéristiques microbiologiques

Les bactéries lactiques sont de loin le principal groupe microbien des fromages traditionnels « Klila » (**Guétouache et Guessas, 2015**). Aucune trace des bactéries pathogènes (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*) (**Benamara et al., 2016**).

3-8.5. Mode de fabrication

La fabrication du fromage artisanal klila passe par des étapes

Fabrication du Lben

Le lben est fabriqué à partir du lait de vache, de brebis et de chèvre. Le lait subit une acidification spontanée par sa flore originale, jusqu'à coagulation (**Hallal, 2001**).

L'écémage est réalisé généralement le matin, la chekoua est remplie à moitié du rayeb puis tendue par gonflement, ensuite la chekoua est bien nouée et secouée vigoureusement durant une demi-heure. La formation des globules (beurre) est jugée par le changement du son qui se produit à l'intérieur de chekoua pour aider l'agglomération des particules du beurre, l'eau est habituellement ajoutée chaude ou froide en fonction de la température du lait. Le beurre frais est retiré manuellement en une seule motte appelé zebda. Le petit lait restant selon ce procédé est appelé lben (**Benkerroum et tammime, 2004**).

Actuellement le barattage traditionnel est remplacé par l'utilisation des mixeurs électriques équipés par des agitateurs et de moteurs (**Mahamedi, 2015**).

Chauffage du Lben

La Klila est préparée à partir du Lben chauffé sur feu doux (chauffage de 55°C à 75°C) jusqu'à séparation du lactosérum et la formation de coagulum qui est appelé « klila ».

Séparation du lactosérum et égouttage du coagulum

L'égouttage de coagulum réalisée par un tissu fin pour obtenir la klila avec la séparation de lactosérum de couleur jaune verdâtre, la formation d'une boule de fromage « klila » par le pressage de tissu. L'égouttage prend un temps de quelques heures à 24 heures.

Découpage et séchage

Le fromage artisanal klila découpé aléatoire avec la main et doit être séché au soleil 1 à 7 jours selon la température de l'air pour une longue conservation, le temps de séchage dépende le temps de l'égouttage et les conditions de la température et de climat.

Mode de consommation

Le fromage artisanal klila consommé sous deux formes : frais ou après un séchage, il est utilisé comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations de quelques plats traditionnels tels que : couscous et zrizri...



Figure 5 : Fromage traditionnel de type Klila frais et sèche.

3-8.6. Diagramme de fabrication de fromage artisanal klila

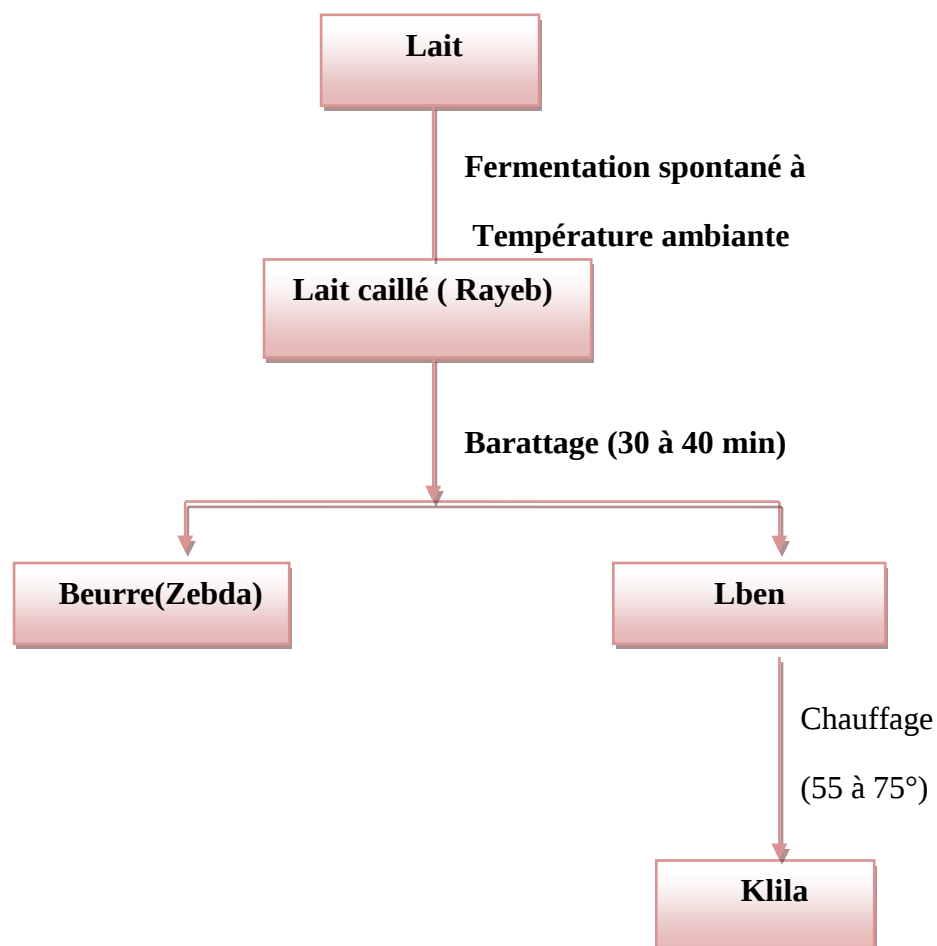


Figure 6 : Diagramme de fabrication de fromage artisanal klila.



Deuxième partie :
Matériels et Méthodes



1-Objectifs du travail

Notre travail consiste à étudier les qualités physico-chimiques et microbiologiques de fromage traditionnel « Klila » de Naama.

2- Lieu et période d'étude

Les travaux pratiques de notre étude ont été réalisés dans le laboratoire de microbiologie « Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naama » durant une période de deux mois allant du 15 Janvier au 15 Mars 2020.

3- Description de la zone de prélèvements

Les échantillons du klila analysés ont été prélevés à partir de la région d'Ain Sefra.

Ain Sefra est une ville de la wilaya de Naama, située à 65 Kms au sud-ouest chef-lieu de la wilaya, elle localisée dans les monts des ksours de l'Atlas Saharien, à 1000 mètre d'altitude.



Figure 7 : Carte géographiques de la zone de prélèvement (Google Earth, 2020)

4- Echantillonnage

Les deux échantillons de fromage frais traditionnel (Klila) ont été collectés dans la région d'Ain Sefra. Nous avons prélevé au hasard chaque type des fromages et les récupérés dans

des sachets stériles, environ 300 g par sachet. Les échantillons ont été transportés dans une glacière à (4°C) à fine d'arrivé au laboratoire de microbiologie pour êtres analysés.

5- Fabrication de fromage traditionnel « Klila »

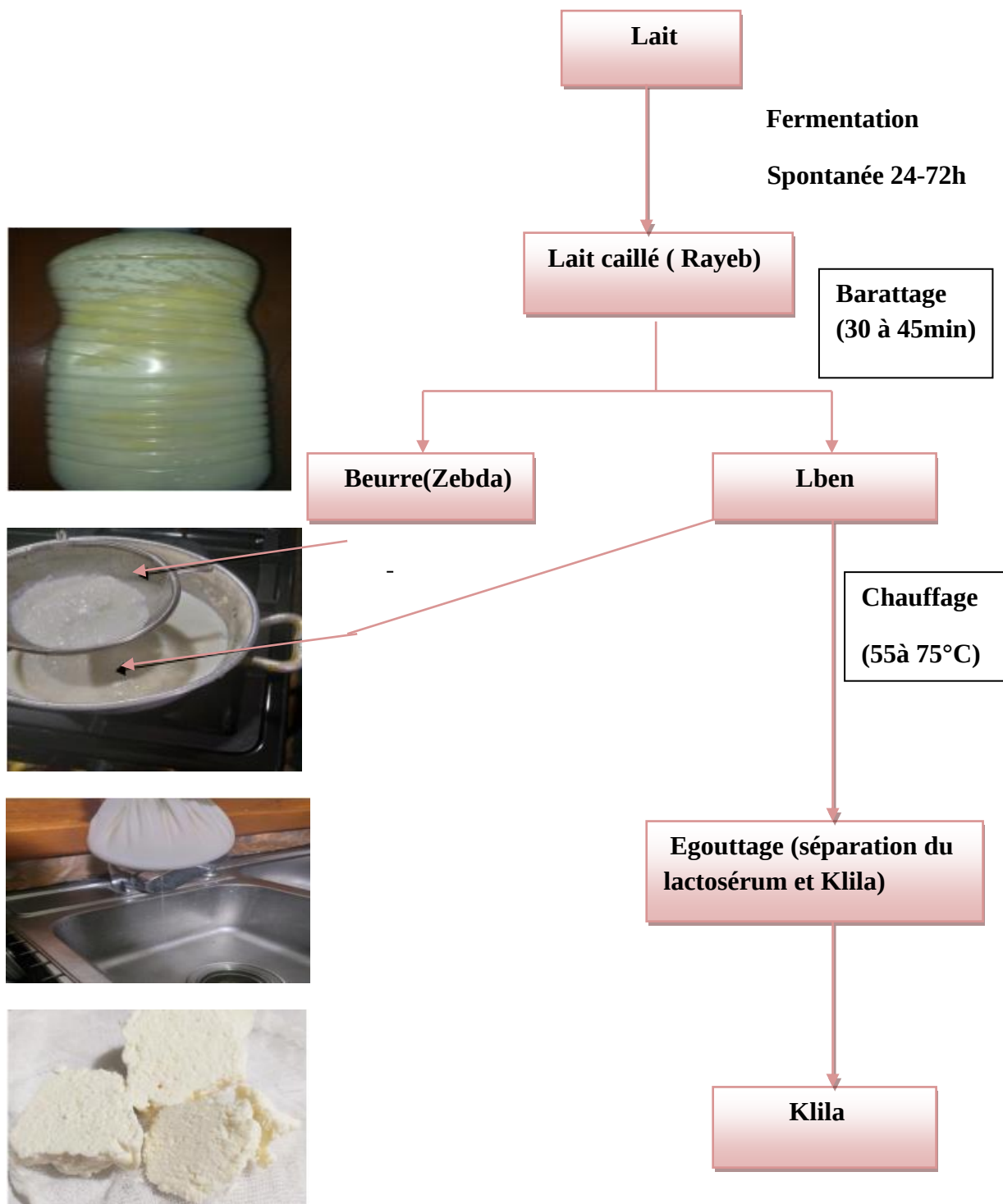


Figure 8 : Diagramme de fabrication du « Klila » (Leksir et Chemmam, 2015).

6- Caractérisation du fromage artisanal « Klila »

6-1. Caractérisations physicochimiques

6-1.1. Détermination du potentiel d'hydrogènes pH

10g de fromage sont dilués dans 90 ml d'eau distillée dans un bécher, puis homogénéisé, l'électrode de pH-mètre a été insérée directement. La valeur de pH est lue directement sur l'écran de l'appareil (Owusu-Kwarteng *et al.*, 2012).



Photo 1 : Détermination du potentiel d'hydrogènes par pH mètre.

6-1.2. Détermination de l'acidité titrable « Dornic »

90 ml d'eau distillée stérile est chauffé à une température de 40°C sont ajoutés à 10 g de fromage. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titrée par la soude N/9, en présence de phénol phtaléine. La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur (rose pâle), Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g) (Afnor, 1986).

1ml $\longrightarrow$ 10°D

1°D $\longrightarrow$ 0.01% d'acide lactique

L'acidité a été formulée de la façon suivante :

$$\frac{(V_1 \times 0,01 \times 1000)}{V_0} = 10 \times \frac{V_1}{V_0}$$

Ou :

V_0 : est le volume, en millilitre de la prise d'essai.

V_1 : est le volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de sodium à N/9.



Photo 2 : Détermination de l'acidité titrable « Dornic ».

6-1.3. Détermination de la matière sèche

La détermination de la matière sèche basé sur un Séchage d'une prise d'essai pesée et mélangée avec du sable par chauffage dans une étuve réglée à 102°C (JO n° 25 du 4-5-2014).

3 g de fromage mis dans une capsule séchée (20 g de sable dans une capsule une baguette d'agitation), ensuite on place la capsule dans une étuve réglé à 103 °C ± 2°C et laisser 3heures. Après trois heures successive, on met la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante, puis on pesées le résidu après dessiccation.

Le calcule de la teneur totale en matière sèche de l'échantillon pour essai, exprimée par l'équation suivante:

$$Wt = \frac{(m2 - m0) - (m3 - m4)}{m1 - m0} \times 100$$

m0 : est la masse, en grammes, de la capsule préparée.

m1 : est la masse, en grammes, de la prise d'essai et de la capsule avant dessiccation.

m2 : est la masse, en grammes, de la prise d'essai et de la capsule après dessiccation.

m3 : est la masse, en grammes, de la capsule utilisée pour l'essai à blanc, pour le même temps de dessiccation que m2.

m4 : est la masse, en grammes, de la capsule préparée utilisée pour l'essai à blanc.

6-1.4. Détermination de la matière grasse (JO n° 67du 12-11-2014)

La méthode butyrométrique de Van Gulik spécifie une technique pour la détermination de la teneur en matière grasse dans les fromages, le principe de cette méthode basé sur la dissolution des protéines de fromage par addition d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse par centrifugation dans le butyromètre de Van Gulik, la séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité de l'alcool iso-amylque.

Pesés 3g de fromage « klila » dans un système de pesage adapte à un bouchon approprie du butyromètre de Van Gulik, puis ajoute l'acide sulfurique par autre extrémité reste ouverte, jusqu'à ce que l'acide atteint une hauteur d'environ de 2/3 de la chambre de butyromètre et que le système de pesage soit complètement entouré d'acide sulfurique.

Ensuit placé le butyromètre dans un bain d'eau à $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 5 minutes, après retiré le butyromètre du bain d'eau et l'agité énergiquement durant 10 secondes, puis répété les opérations de chauffage et l'agitation jusqu'à dissolution complète des protéines. Ensuit ajouté 1ml de d'alcool amylique dans le butyromètre puis centrifugé le butyromètre pendant 10 min.

L'obtention de la teneur en matière grasse en grammes pour 100g de fromage, par lecture directe sur l'échelle de butyromètre et calculé selon la formule :

$$\text{MG} = \text{B} - \text{A}$$

Où :

A: est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse.

B : est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

6-2. Caractérisations microbiologiques

6-2.1. Préparation de la solution mère et des dilutions

La méthode de dilution s'effectue on mélange 10g de fromage artisanal Klila avec 90 ml de Tryptone sel eau dans un flacon stérile suivi d'une homogénéisation, cette dilution constitue la solution mère (**Medfouni et Benidir, 2018**).

6-2.2. Préparation des dilutions décimales

Pour obtenir la dilution 10^{-1} prélever 1 ml de la solution mère et l'introduire dans un tube contenant 9 ml de TSE puis suivie d'une agitation. Pour la dilution 10^{-2} , on introduit 1 ml de la solution 10^{-1} dans un tube contenant 9ml de TSE avec une homogénéisation, et ainsi de suite pour les autres dilutions jusqu'à l'obtention de dilutions voulues.

6-2.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile reflète la qualité microbiologique générale d'un produit, généralement réalisé sur milieu de gélose PCA (Plat count Agar) par ensemencement en masse d'1 ml de chacune de dilution 10^{-1} et la dilution 10^{-2} et la dilution 10^{-3} , 3 boîtes pour chaque dilution et mélangé se forme en 8 Puis incubé à 30°C pendant 72h.

A l'issue de la période d'incubation spécifiée, compter les colonies sur les boîtes contenant entre 20 et 300 colonies (**Salhi et Medjoudj, 2013**). Pour faciliter le comptage, on peut utiliser un compteur des colonies le nombre de microorganismes par ml exprimés selon

la formule suivant :

$$N = \frac{\sum C}{(n1 + 0,1 n2) d}$$

$\sum C$: est la somme des colonies comptées sur les boîtes.

n1 : est le nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : est le nombre de boîtes comptées dans la deuxième dilution.

d : le facteur de dilution à partir du quel les premiers comptages ont été obtenus.

6-2.4. Dénombrement des coliformes totaux et les coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes totaux se fait sur milieu solide (DCL), on effectue un ensemencement en masse (1 ml) à partir de trois dilutions choisies (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) avec trois répétitions de chaque dilution, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures et les coliformes fécaux sont effectués par l'ensemencement en surface (0,1 ml) de trois dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) avec des répétitions dans le même milieu DCL. Incubation à 44 °C pendant 24 heures (**Joffin et Joffin, 2000**).

6-2.5. Dénombrement des streptocoques fécaux

Les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP. La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir (**Benlahcen et al, 2013**) :

- **Le test de présomption** : Consiste à prendre une série de 9 tubes contenant le milieu Rothe à raison d'une série de trois tubes par dilution. A partir des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} un volume d'1 ml est mis dans chacun des trois tubes correspondant à chaque dilution. L'incubation est à 37°C pendant une durée de 24 à 48 heures. De se fait, les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs qui confirme la présence au moins un Streptocoque fécal.

- **Le test de confirmation :** les tubes positifs du test de présomption feront systématiquement l'objet d'un test de confirmation. Pour ce dernier, les tubes positifs sur le milieu de Rothe sont repiqués par une anse dans le milieu d'Eva Litsky. L'incubation à 37°C se fait pendant 24 heures. Pour la lecture, seront considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien avec l'apparition d'une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

- Dénombrement est exprimé selon la table de Magrady.

6-2.6. Recherche des salmonelles

Le protocole de la recherche est réalisé en 3 étapes, Selon **JO n° 42 en 2005**.

- **Pré-enrichissement**

25 g de Klila à analyser sont introduits dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée. La préparation est homogénéisée et incubée à 37°C pendant 24 heures.

- **Enrichissement**

A partir du milieu eau peptonée, 1 ml sont inoculés dans le milieu Rappaport, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

- **Isolement**

L'isolement est réalisé par un ensemencement en stries à partir des cultures obtenues (culture d'enrichissement sur milieu gélosé SS. Puis incubation à 37 °C pendant 24 heures.

Après incubation, un résultat positif se manifeste par l'apparition de colonies translucides avec un centre noir sur le milieu SS.

6-2.7. Recherche des Staphylocoques (NF V 08-057-2)

Consiste à ensemencer en surface un milieu de culture gélosé sélectif (90 ml de la gélose Baird Parker, 10 ml du surnageant de l'émulsion de jaune d'œuf, 1 ml de tellurite de potassium) coulé dans une boîte de Pétri, avec 0,1 ml de la solution mère.

Après 24 à 48 heures d'incubation à 37 °C, les colonies noires, brillantes et convexes entourées d'une auréole d'éclaircissement.

6-2.8. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs

Après destruction des formes végétatives, par chauffage à 80 °C pendant 10 minutes de 5 ml en double des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} de l'échantillons à analysé (fromage artisanale Klila) , et refroidissement immédiat par l'eau de robinet pendant 10 minutes. Ces prélèvements sont incorporés dans des tubes à vis stériles contenant un milieu de base fondu, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer (le milieu viande foie). Après incubation à 37°C, les colonies noires ayant poussé en profondeur sont comptées après 18 h, 48 h et 72 h (Guiraud, 2003).

6-2.9. Dénombrement des levures et moisissures

A partir des dilutions décimales 10^{-4} et 10^{-5} , 0.1ml sont étalés aseptiquement à la surface de la gélose OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) après sa solidification à l'aide d'une pipette râteau, Puis incubé les boîtes pendant 3 à 5 jours à 20-25°C.

6-2.10. Dénombrement des bactéries lactiques

6-2.10.1. Les lactobacilles

1 ml des dilutions 10^{-4} à 10^{-5} est prélevé et ensemencé en masse sur gélose MRS, à raison de trois boîtes par dilution, puis incubé à 30°C pendant 24 heures (Guiraud, 2003).

6-2.10.2. Les lactocoques

Le dénombrement est réalisé sur la gélose M17, Ce dernier est ensemencé en surface avec 0,1 ml de la dilution 10^{-4} à 10^{-5} dans chaque boîte de pétri, les résultats sont obtenus après l'incubation à 37°C pendant 24 heures (Hamla et Belgroune, 2019).



Troisième partie :

Résultats et Discussion



Résultats

I-Résultats de notre étude

Le jour de 07/03/2020 ont été réalisés le premier prélèvement de fromage artisanale klila de notre fabrication qui a été préparé à partir de lait de vache. Ont été transporté l'échantillon dans une glacière à (4°C) a fin d'arrivé au laboratoire de la microbiologie pour êtres analysés.

Premièrement on a commencé par les analyses physico chimique tel que le pH et la mesure de l'acidité titrable. On a trouvé les valeurs suivantes :

***pH : 4.33**

***Acidité titrable : 36 °D.**

Deuxièmement on été réalisés les analyse microbiologique en trois étapes : La préparation de la solution mère et les dilutions, l'ensemencement dans les milieux de cultures appropriées et le dénombrement des flores d'altérations et de contaminations et le dénombrement de la flore lactique. Ont été fait la lecture des résultats chaque jour pendant tout la semaine. Les résultats obtenus à été totalement négative.

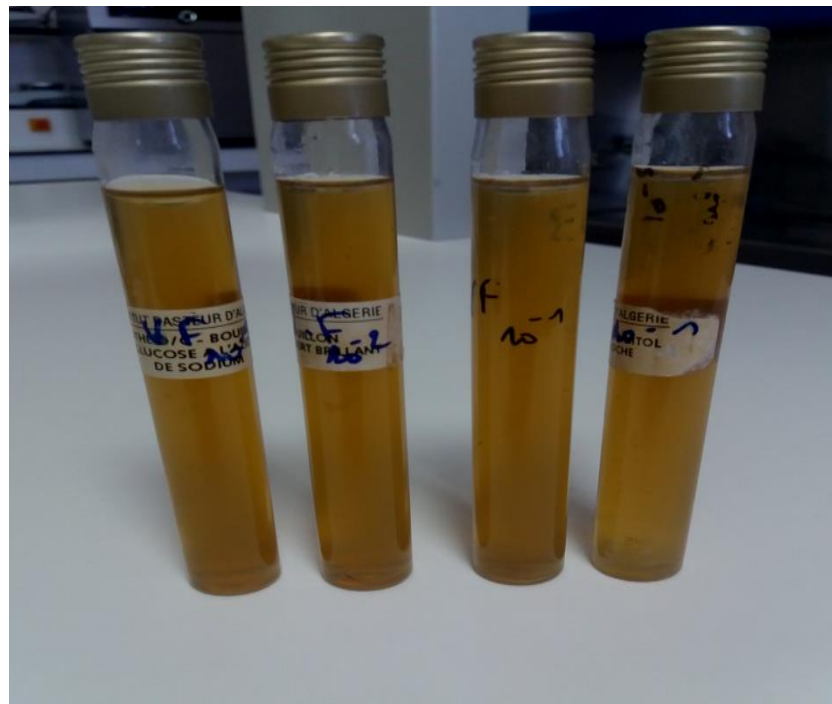


Photo 3: Résultats des *Clostridium* sulfito-réducteurs.

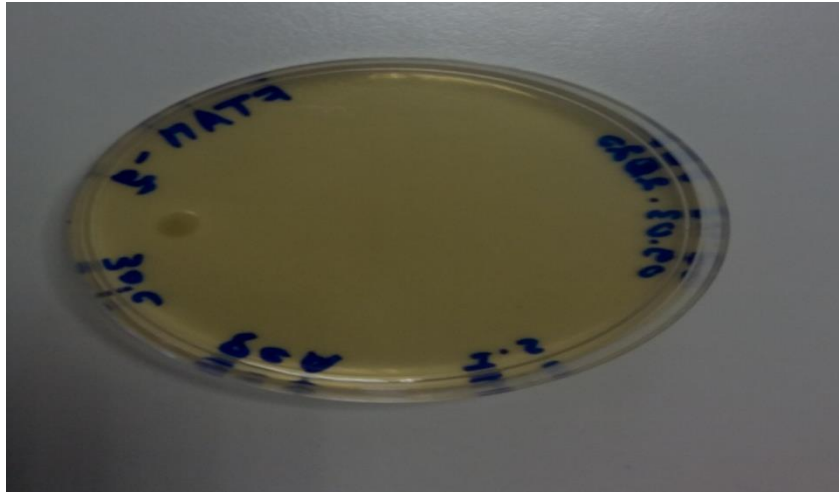


Photo 4 : Résultats de la Flore totale aérobie mésophile (FTAM).



Photo 5 : Résultats des coliformes fécaux

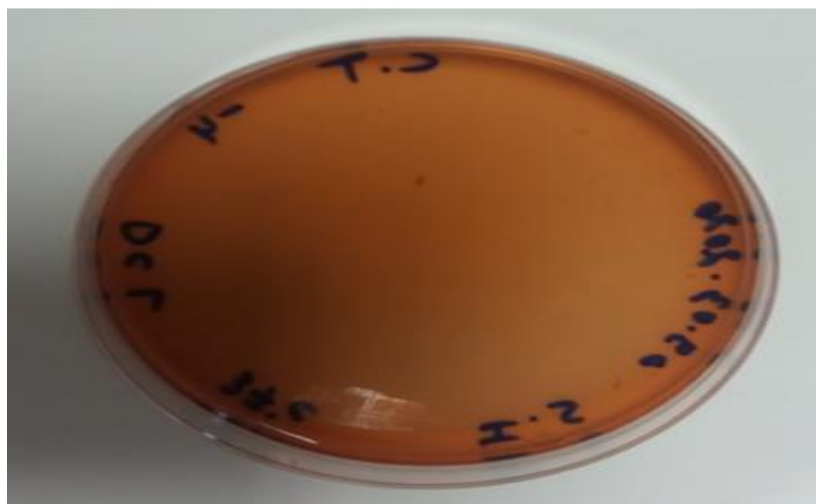


Photo 6 : Résultats des coliformes Totaux

II-Synthèse des résultats d'une étude

En principe, dans notre étude on a programmé de réaliser 4 prélèvements de fromage artisanal « klila ». Les échantillons de klila préparé à base de lait de vache et de chèvre à partir de notre fabrication et à partir d'un magasin d'alimentation au hasard provenant de la région d'Ain Sefra. Mais à cause de la dissémination de la pandémie de corona virus « Covid 19 » qui a nous empêché de continuer notre travail et suite à les normes de ministère qui implique l'arrêt de la partie expérimentales des travaux de fin d'étude. Avec suite de l'orientation de notre encadreur On a rédigé une synthèse des résultats d'une étude Présenté par :

Hamla Hacen et Belgroune Khadidja dans l'université L'Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, "2018-2019".

Selon cette étude, la Klila a été fabriqué à base de lait de vache et de chèvre Provenant de la région de Touzline et Bir Kechba situés dans la Wilaya d'Oum El Bouaghi qu'ont été Après transportés vers leur laboratoire.

1-Résultats des caractères du fromage artisanal klila

1-1. Caractérisations physicochimiques

Les Valeurs du pH, L'acidité titrable, la teneur de matière sèche, matière Grasse et le taux des cendres ont été représentés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques de Klila à base de lait de vache et chèvre.

Paramètres	Klila fraîche à base de lait	
	Vache	Chèvre
pH	4,71	4,67
Acidité titrable (°D)	64,5	56,5
Matière sèche (EST) (g/100g)	36,6	27,6
Matière grasse (g/Kg)	14,5	18,5
Matière grasse/ EST(%)	3,96	6,7
Taux des cendres (%)	1	3

1-1.1.pH

Les valeurs de pH pour les deux fromages artisanale ont été respectivement 4,71 et 4,67, ces valeurs montre que les deux fromages ont un pH acide (**voir Figure 9**).

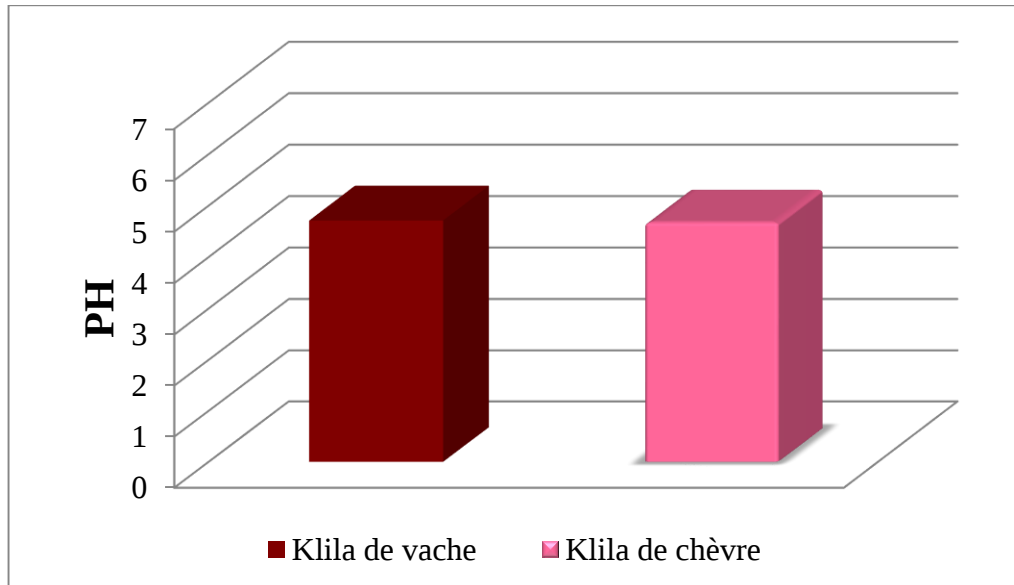


Figure 9: Valeurs du pH des fromages Klila de vache et de chèvre.

1-1.2. Acidité titrable

Les mesures de l'acidité titrable en degrés(°D) de klila fraîche de vache et de chèvre à été représenté dans la (**Figure 10**)ci dessous.

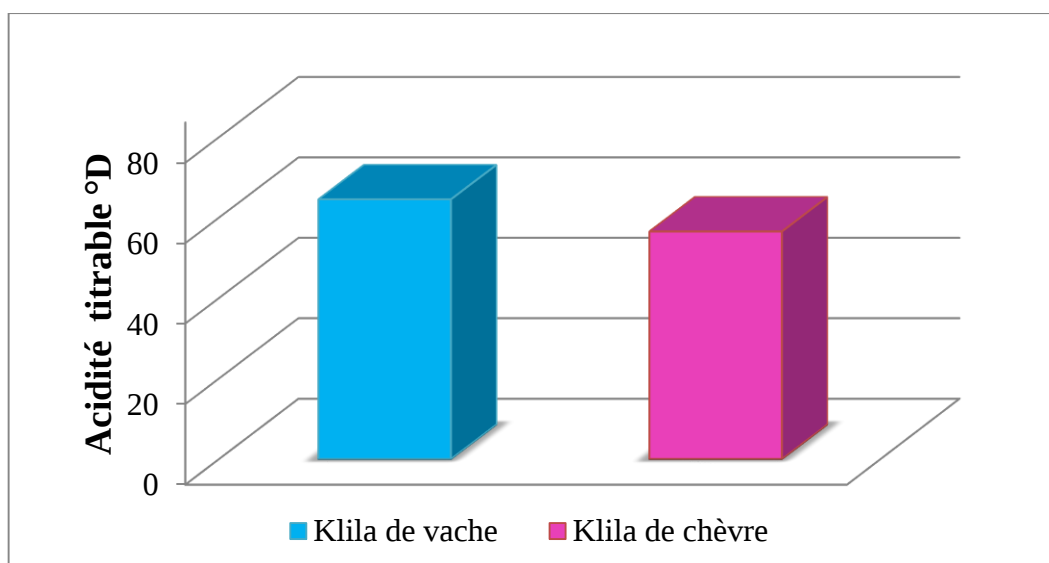


Figure 10 : Valeurs de l'acidité titrable des deux échantillons.

1-1.3. Matière sèche

La teneur en matière sèche de klila fraîche de chèvre à été de 27,6g/100g.cette valeur est inférieure par rapport que la klila fraîche de vache qui était de36,6g/100g (**Figure11**).

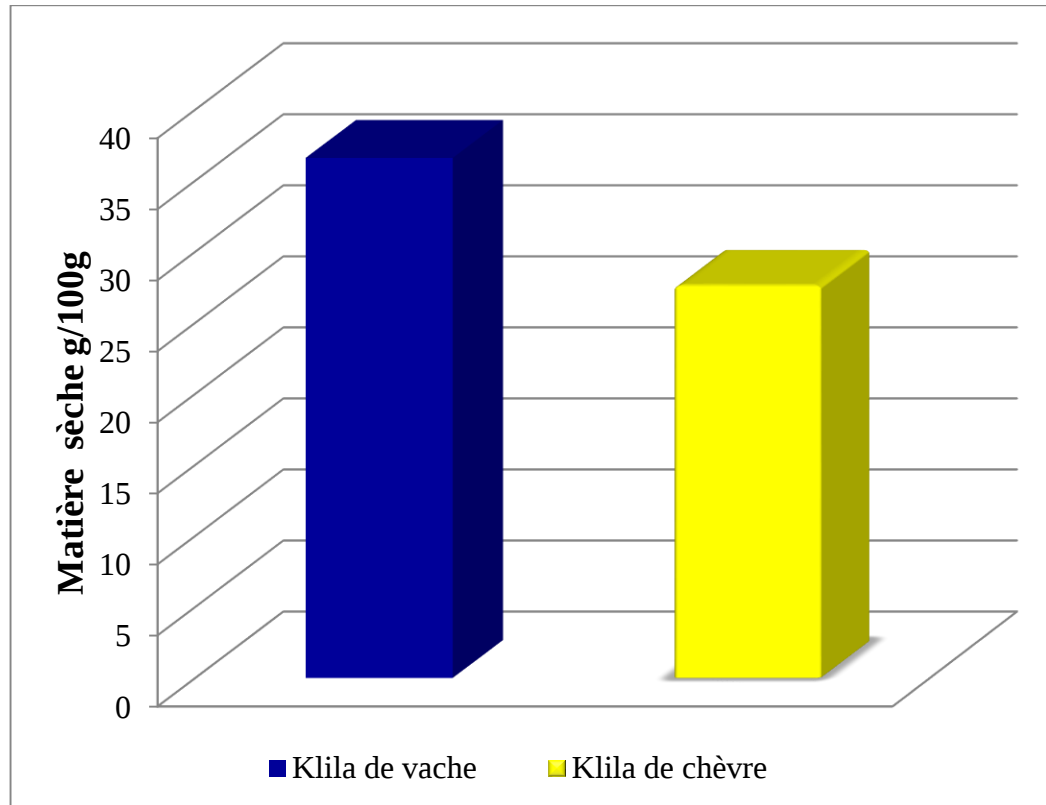


Figure 11 : Valeurs de la teneur en matière sèche des deux échantillons.

1-1.4. Matière grasse

La teneur de matière grasse « MG » de Klila fraîche de vache a été14,5/Kg et de Klila fraîche de chèvre a été 18,5/Kg. De cela, le fromage artisanal klila de chèvrecomporte la valeur la plus élevée.(**Figure12**).

La teneur en matière grasse qui a été exprimé par rapport à l'extrait sec totale (EST) de klila fraîche, a été montré que la klila de chèvre était 6,7% est supérieur par rapport au klila de vache était 3.96%.

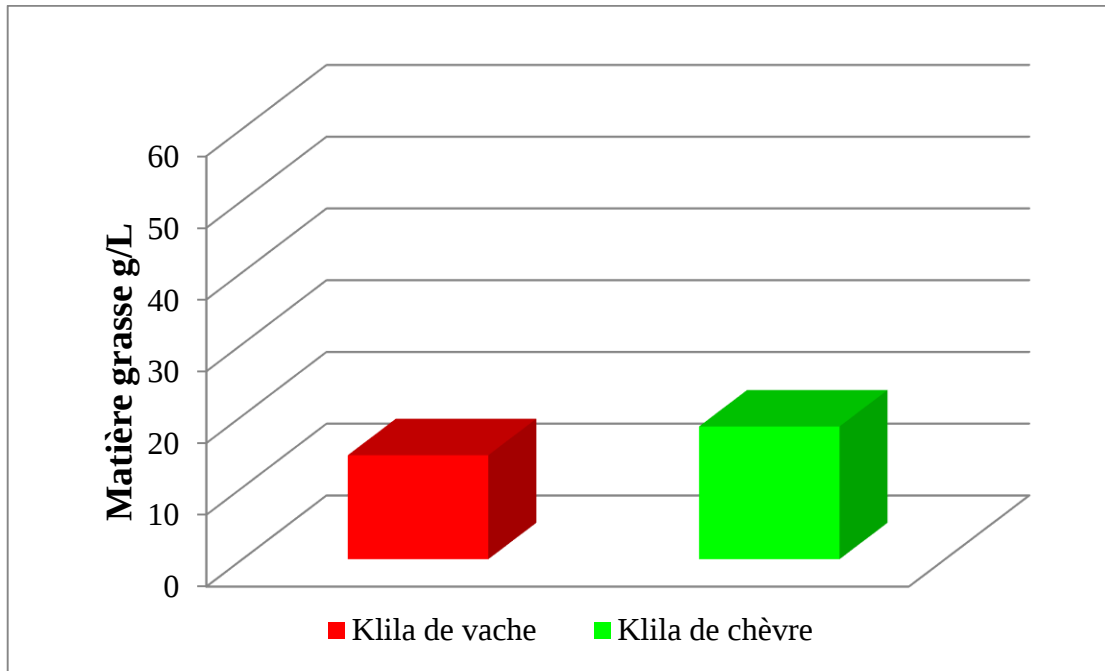


Figure 12 : Les valeurs de la teneur en matière grasse de klila de vache et de chèvre.

1-1.5. Taux de cendre

Les résultats obtenus montrés que les deux fromages artisanaux klila comportent un taux de cendre (taux de matière minérale) variaient entre 1 et 3%, donc le fromage le plus riche est le fromage artisanal klila de chèvre (**Figure 13**).

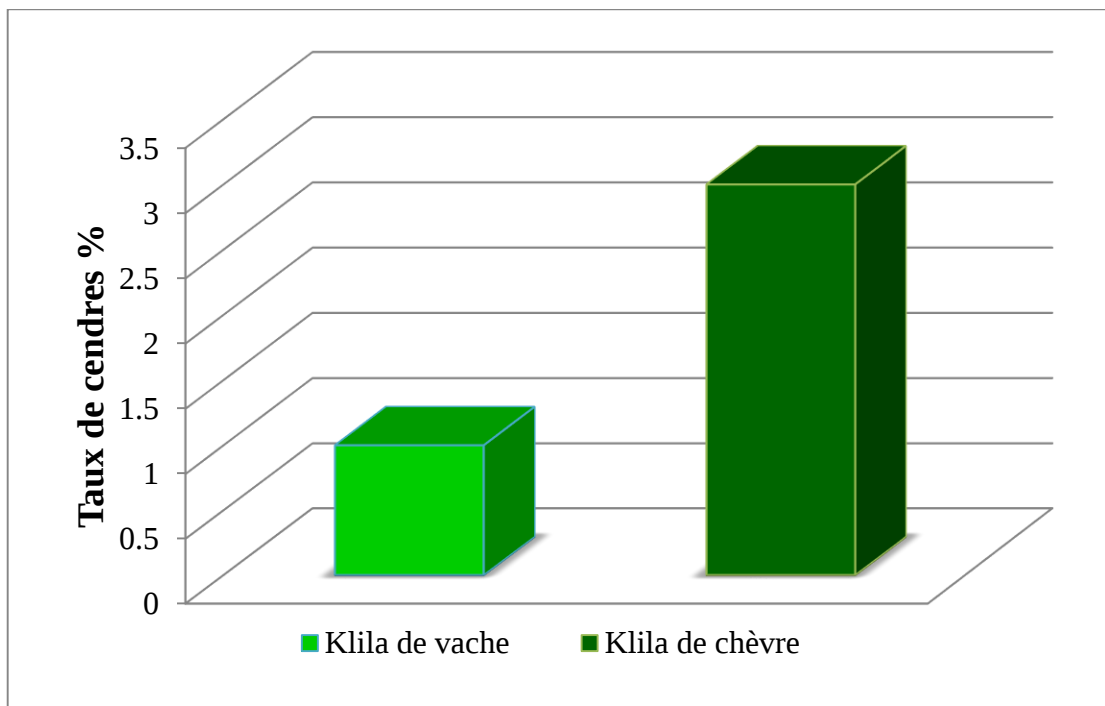


Figure 13 : Valeurs du taux de cendres dans Les fromages artisanaux.

1-2. Caractérisations microbiologiques

L'étude des caractérisations microbiologiques a pour but de vérifier la qualité hygiénique de fromage artisanal qui fabriqué à partir deux types de lait différents (vache et chèvre) et pour confirmé si ce produit est propre à la consommation ou non. Les résultats de dénombrement des principales flores microbiennes des échantillons on été illustrés dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes dans le fromage artisanal klila de vache et de chèvre (UFC/ ml ou g).

Paramètres microbiologiques	Klila fraiche de vache	Klila fraiche de chèvre
FTAM	$2,86.10^6$	$1,94.10^6$
Lactocoques	$2,65.10^6$	$2,78.10^6$
Lactobacilles	$1,06.10^7$	$1,12.10^6$
Levures	$1,15.10^4$	$1,98.10^5$
Moisissures	$0,81.10^4$	$0,56.10^3$
C.totaux	Absence	Absence
C.fécaux	Absence	Absence
Streptocoques fécaux	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence
<i>Salmonella</i>	Absence	Absence
<i>Clostridium sulfitoréducteu</i>	Absence	Absence

1-2.1. Flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Les résultats obtenues montré que les valeurs de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile à été $2,86.10^6$ UFC/g (Log=6,46) pour la Klila fraiche de vache et $1,94.10^6$ UFC/g (Log= 6,29) pour la Klila fraiche de chèvre (**Figure 14**).

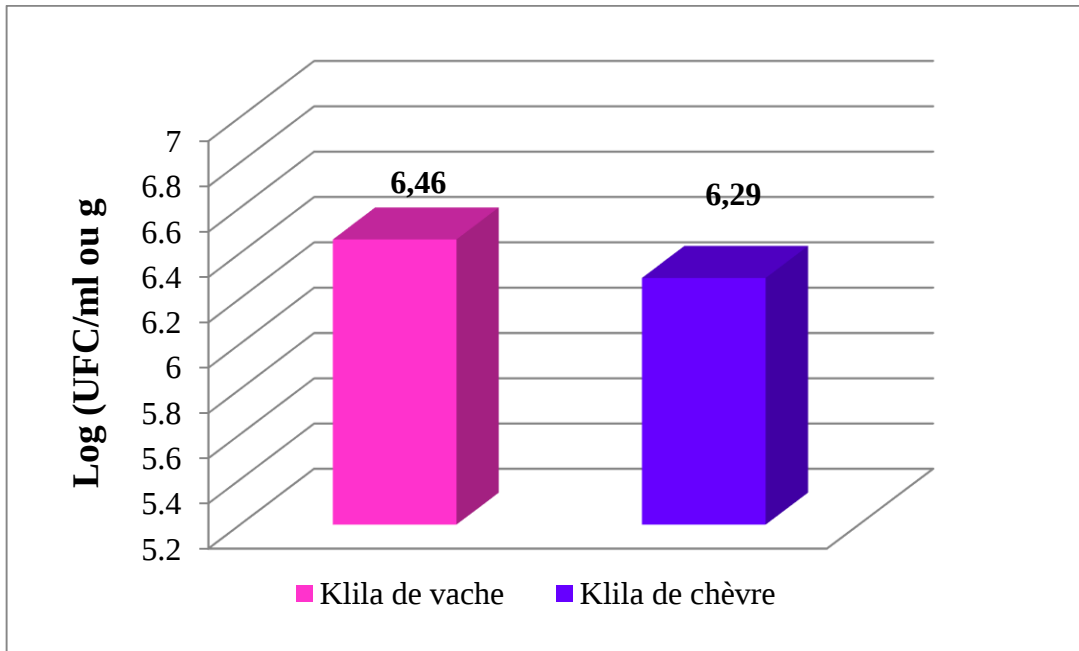


Figure 14 : Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sur GN en Log (UFC/ml ou g) de deux échantillons.

1-2.2. Lactobacilles

Le dénombrement des lactobacilles pour la klila fabriqué à partir de lait de chèvre était de $1,12 \cdot 10^6$ UFC/g (Log=6,05) alors que la klila fabriqué à partir de lait de vache possède une charge microbienne de $1,06 \cdot 10^7$ UFC/g (Log= 7,02) (**Figure 15**).

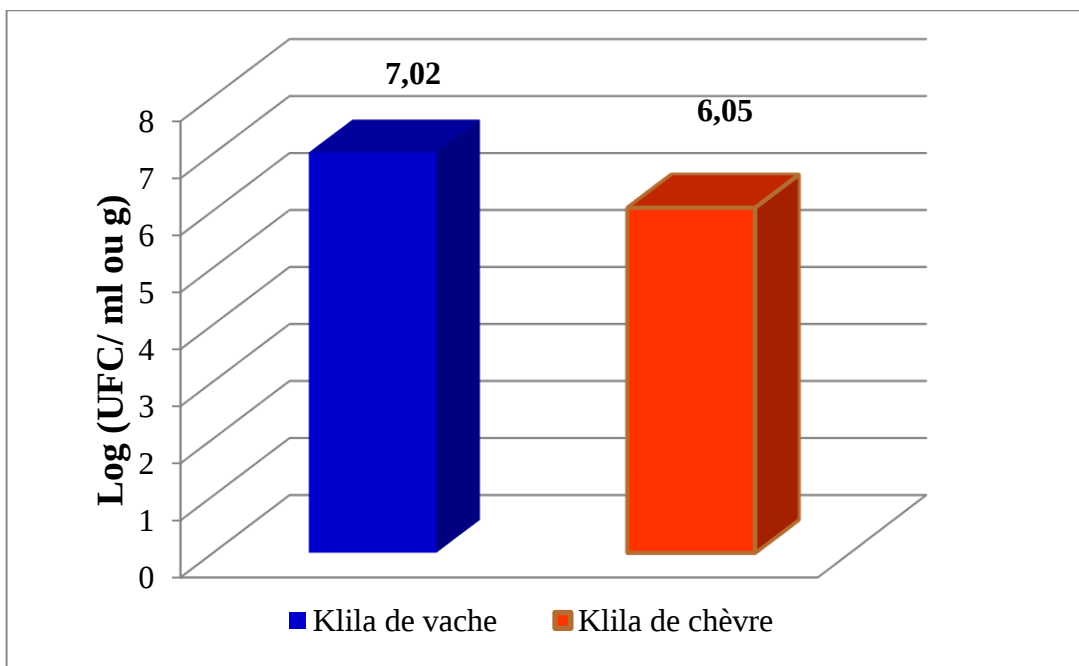


Figure 15 : Résultats de dénombrement des lactobacilles sur gélose MRS en Log (UFC/ml ou g) de deux échantillon.

1-2.3. Lactocoques

Les lactocoques sont aussi présents dans les deux échantillons de fromage avec une charge microbienne proche était de $2,65.10^6$ UFC/g (Log= 6,42) pour la Klila de vache et $2,78.10^6$ UFC/g (Log=6,44) pour la klila de chèvre (**Figure 16**).

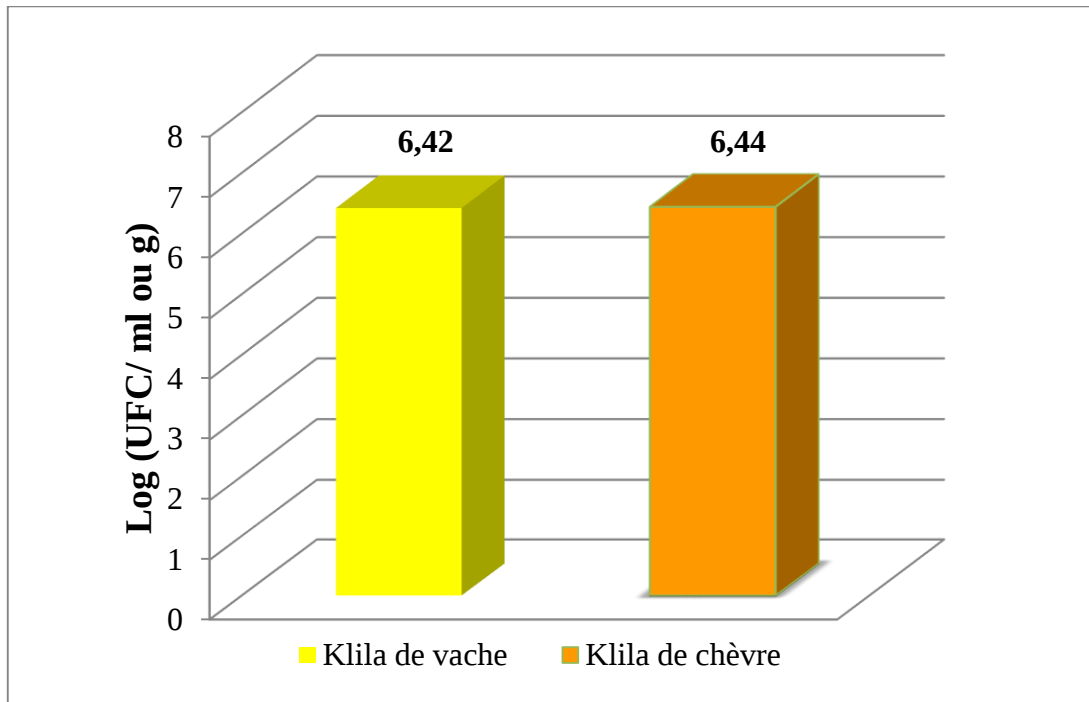


Figure 16 : Résultats de dénombrement des lactocoques sur gélose M17 en Log (UFC/ml ou g) des différents échantillons.

1-2.4. Levures et moisissures

Les résultats obtenus a été montré que le dénombrement des levures était de $1,98.10^5$ UFC/g (Log= 5,29) pour la klila de chèvre, cette valeurs est supérieur à celle de klila de vache qui a été $1,15.10^4$ UFC/g (Log=4,06) (**Figure 17**).

Concernant le dénombrement des moisissures pour la klila de chèvre était de $0,56.10^3$ (Log=2,75) qui a été inférieure par rapport au klila de vache était $0,81.10^4$ UFC/g (Log= 3,91) (**Figure 18**).

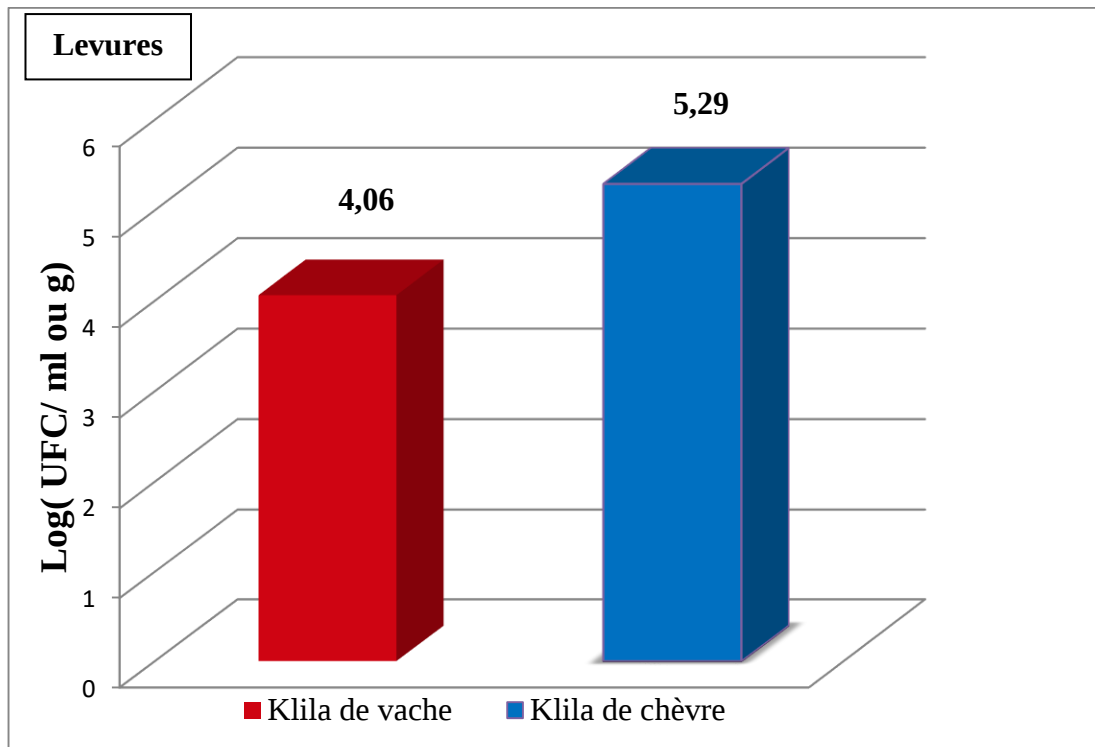


Figure 17 : Résultats de dénombrement des levures sur milieu OGA en Log (UFC/ ml ou g).

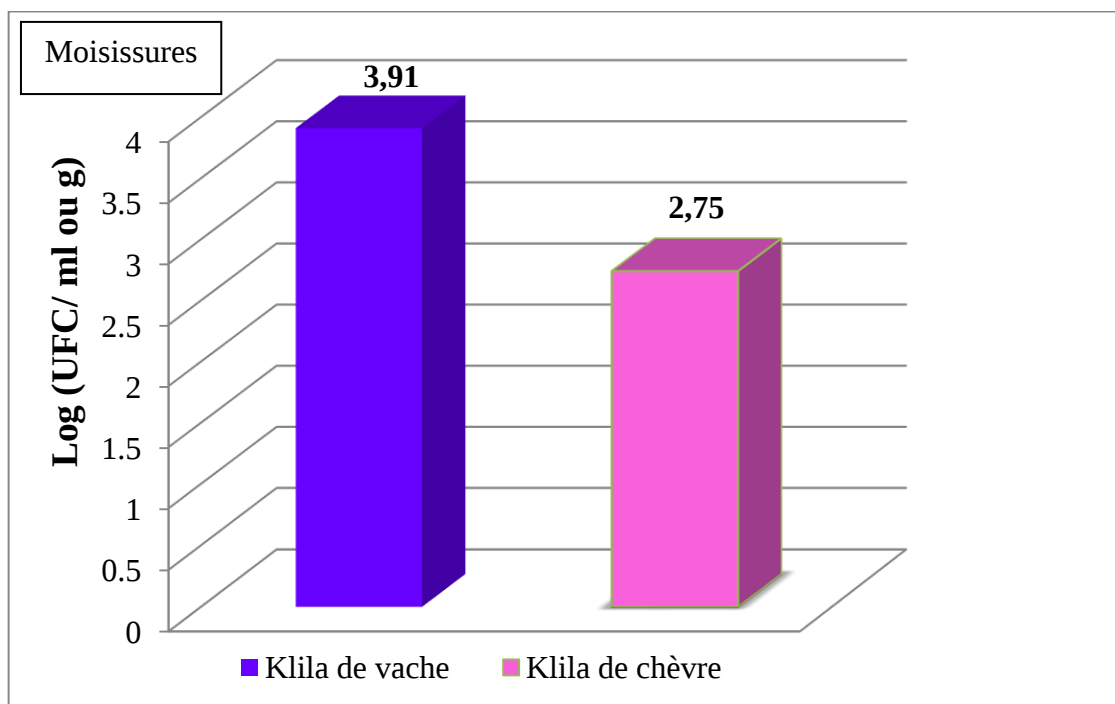


Figure 18 : Résultats de dénombrement des moisissures sur milieu OGA en Log (UFC/ ml ou g).

1-2.5. Recherche et dénombrement des coliformes et streptocoques

Les résultats obtenus à été montré l'absence totale des germes de contamination fécale (Streptocoques fécaux, coliformes totaux et fécaux) dans les deux échantillons de klila analysé, ce qui indique le bon respect des règles d'hygiène et de manipulation.

1-2.6. Recherche des germes pathogène

L'absence totale de *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-réducteurs et de *salmonella* a été notée pour les deux variétés des échantillons analysés. Donc ces résultats indique que notre fromage frais est de bonne qualité microbiologique ce qui est conforme à la réglementation algérienne.

Discussion

Notre résultats des analyses microbiologiques de klila de vache est totalement négative, cela dit a la contamination des milieux de culture. Concernant les analyses physico-chimiques la valeur de pH obtenu était de 4,33, Cette valeur est proche de ceux trouvés par **Lahsaoui, 2009** (4, 35) et inférieure à des résultats trouvé par **Hamla Hacen et Belgroune Khadidja, 2019**. La mesure de l'acidité Dornic a donné une valeur été 36 °D, cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Benlahcen et al., 2017**.

D'après les résultats de l'étude de « **Hamla Hacen et Belgroune Khadidja** » les analyses physico chimiques du Klila de vache et de chèvre ont donné un pH moyen 4,71 et 4,67, ces valeurs montrent bien l'acidité de ces fromages. Cette acidité peut être dû au pH acide de lben (la matière première de préparation de ce type de fromage), ou résulte de l'activité bactérienne des flores lactiques. Ces résultats correspondent aux résultats obtenez par **Benlahcen et al., 2017**(4,01 à 5,6) et sont légèrement plus élevés que valeurs donnés par **Guetouache et Guessas, 2015** (4,2) et **Rhiat et al, 2011** (4,25). Concernant l'acidité titrable (taux de l'acide lactique) est exprimée en degré Dornic (D°), la valeur moyenne de klila de vache analysé à été 64,5°D et 56,5°D pour klila de chèvre, Ces valeurs sont proches de ceux trouvés par **Mahamed, 2015** (60°D) et supérieurs à des résultats trouvés dans l'étude qui réalisée par **Lahsaoui, 2009** (38°D à 44°D) sur procéder de fabrication d'un produit traditionnel algérien « Klila ». Les valeurs de l'acidité obtenues dans ce travail est faible peut exprimer car la klila fraîche fabriqué précédemment est séchée partiellement.

Les études récentes sur le fromage Klila, telles que celle de **Lahsaoui, 2009** donne une valeur moyenne de matière sèche de 34,10g /100g qui est proches de ceux trouvé dans cette étude (La teneur en matière sèche dans la Klila fraîche de vache est de 36,6g/100g et 27,6g/100g de klila de chèvre).

Les résultats obtenus montrent qu'il y'a une différence relativement élevée concernant la teneur en matière grasse pour les deux fromages analysés. En effet, la teneur en MG pour klila de chèvre 18,5/Kg est plus élevée par apport au klila de vache 14,5/Kg. Les teneurs en matière grasse du Klila fraîche est faibles due à l'opération de séparation de lactosérum (l'égouttage qui a dû favoriser le passage de la matière grasse vers le lactosérum), la séparation du beurre de Lben au cours de la fabrication de Klila fraîche.

Quand en prenant le rapport matière grasse sur matière sèche « EST » on trouve que le résultat entre 3,96% et 6,7%, ces valeurs sont inférieures à celles trouvées par **Djeddar et Dahdouh, 2017** (12,12% pour Klila fraîche de vache et 24% pour Klila fraîche de chèvre). Ce fromage a un taux de cendre variable entre 1% et 3%. Ces résultats sont plus élevés que ceux trouvés par **Lahsaoui, 2009** (0,35%).

L'augmentation de taux des cendres dans le fromage traditionnel (Klila fraîche) est due à cause de libération des minéraux pendant la coagulation du lait et le rôle de pH sur les équilibres minéraux (l'abaissement de pH solubiliserait le phosphore de calcium et permettrait une augmentation de la teneur en calcium ionique qui joue un rôle déterminant dans la coagulation enzymatique).

Les résultats d'analyses microbiologique du fromage artisanal klila donner une idée sur la flore microbienne qui présente dans les deux échantillons et une idée qualité hygiénique.

Concernant le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les valeurs varient entre $1,94.10^6$ UFC/g (Log= 6,29) pour la Klila fraîche de chèvre et $2,86.10^6$ UFC/g (Log=6,46) pour la Klila fraîche de vache. Ces valeurs sont proches de celles trouvées par **Mennane et al, 2007**, au cours de l'analyse des échantillons de Klila marocaine qui montrent une charge moyenne de $5,1.10^6$ UFC/g (Log=6,70). Et aussi proches à des résultats trouvés par **Benamara et al., 2016** qui donne des valeurs allant jusqu'à Log=6,48. Ils sont également supérieurs à celle trouvée par **Leksir et Chemmam, 2015** (entre Log= 3,1 et Log=3,8).

La flore totale est considérée comme indicateur général de la qualité globale du produit. Elle révèle les conditions de production, plus particulièrement les pratiques hygiéniques lors de traite de lait (la matière première) jusqu'à l'obtention de fromage artisanal « klila » (produit finis).

Selon le travail de **Mennane et al, 2007** les résultats de lactobacilles 4.10^3 UFC/g est inférieur par rapport aux résultats des deux échantillons à analysés ($1,06.10^7$ UFC/g (Log= 7,02) pour klila de vache et $1,12.10^6$ UFC/g (Log=6,05) pour klila de chèvre).

Les résultats du dénombrement des lactocoques dans les deux échantillons montrent une charge de $2,65.10^6$ UFC/g (Log= 6,42) pour klila de vache et $2,78.10^6$ UFC/g (Log=6,44) pour la klila de chèvre. Ces valeurs sont inférieures aux résultats trouvés par

Benlahcen et al., 2017 dans un échantillon de Klila 7.10^6 UFC/g (Log=6,84) jusqu'à $1,6. 10^8$ UFC/g (Log=8,20).

Selon **Mennane et al., 2007**, les fromages frais sont dominés par les bactéries lactiques qui en générale, montrent un nombre égal ou légèrement inférieure au nombre de FTAM.

Les résultats des analyses microbiologiques révèlent la présence des levures et moisissures dans les deux échantillons avec une charge des levures $1,15.10^4$ UFC/g (Log=4,06) dans klila de vache et $1,98.10^5$ UFC/g (Log= 5,29) pour klila de chèvre. En ce qui concerne le nombres des moisissures dans la klila de vache est de $0,81.10^4$ UFC/g (Log= 3,91) et $0,56.10^3$ (Log=2,75) pour la klila de chèvre, ces résultats sont inférieurs à celle trouvé par **Benlahcen et al., 2017** $5,9.10^5$ UFC/g (Log=5,77) à $5,6.10^8$ UFC/g (Log=8,74).

L'absence totale des coliformes totaux et fécaux, des Streptocoques fécaux et *Staphylococcus aureus* ainsi que des *Salmonella* et *Clostridium* sulfito-réducteurs dans les deux échantillons de fromage artisanal klila, ces résultats sont les mêmes qui trouvé par **Mahamed, 2015, Rhiat et al, 2011 et Mennane et al., 2007**. Leur absence due à des bonnes conditions d'hygiène au cours de la fabrication et le chauffage de lben utilisé pour la fabrication de klila. Aussi peut expliquée par l'activité antibactérienne des bactéries lactique (la production des bactériocines).

Les analyses microbiologiques indiquent que la qualité microbiologique de fromage artisanal klila est satisfaisante, donc ont été de bonne qualité.



Conclusion et Perspectives



La Klila est un fromage frais ou extra dur produit dans plusieurs régions de l'Algérie. Elle est issue d'un chauffage relativement modéré du Lben jusqu'au caillage, ensuite le caillé est égoutté spontanément et le fromage obtenu est consommé à l'état frais ou après séchage. Le fromage est utilisé comme un ingrédient après réhydratation dans des préparations culinaires traditionnelles telles que le "Couscous".

Le but de cette étude est d'évaluer les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques de deux échantillons de Klila préparés à base de lait de "vache et de chèvre".

Les résultats des analyses physicochimiques obtenus par "Hamla Hacen et Belgroune Khadidja " nous a permis de dire que les deux échantillons de Klila fraîche ayant un pH acide (4,71 et 4,67). Cependant le taux des paramètres (MG, EST, Acidité °D, Cendres) de Klila fraîche de vache diffèrent par rapport au Klila fraîche de chèvre. Cela peut être dû à l'alimentation ou la race.

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que les deux échantillons de klila ont une qualité microbiologique satisfaisante justifiée par l'absence totale des germes pathogènes et sont riches en flore lactique. Ceci est assuré par les bonnes conditions de la fabrication du fromage (matière première, hygiène et la méthode de fabrication).

Toutefois, afin de garantir la qualité microbiologique exigée par les normes algérienne et internationale, nous proposons les recommandations suivantes:

- Revoir les paramètres de pasteurisation du lait.
- Améliorer les conditions d'hygiène au cours de la fabrication du fromage afin de pouvoir le commercialiser.
- D'étudier les différents facteurs qui influent directement sur les caractéristiques de fromage (race, alimentation, environnement, le temps de fabrication...).

En terme de perspectives, Nous espérons donner suite à ces travaux afin de :

- Réaliser une étude plus approfondie devrait aussi être conduite à fin de mettre en évidence la microflore du klila de brebis.

- La réalisation d'une enquête de fabrication et de consommation élargie dans des autres Wilayas de l'Algérie.
- Faire les analyses organoleptiques et nutritionnelles de ce type de fromage.
- Réaliser une identification moléculaire par PCR des souches lactiques isolés.



Références bibliographiques



A

- 1. Abakar M., 2012.** Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais à partir du lait de vache coagulé par la papaïne naturelle. Mémoire de master. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (EISMV).
- 2. Abd-El-Malek Y., 1978.** Traditional Egyptian dairy fermentations. Global Impacts of Applied Microbiology, 5, 198-208.
- 3. Abid Z., 2015.** Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben ». Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.
- 4. Aissaoui,O., Zitoun,M., Zidoune N., 2006.** Le fromage traditionnel algérien «Bouhezza».Séminaire d'Animation Régional. Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments .INSAT-Tunis. Tunisie 27-28-29 Novembre.
- 5. Alais C., 1984.** Science de lait : principes des techniques laitières. 4ème édition, SEPAIC, Paris, 814 p.
- 6. Association française de normalisation (AFNOR), 1986.** Contrôle de la qualité des produits laitiers, recueil des normes françaises,paris, France 3^{ème} édition.

B

- 7. Belbeldi A., 2012.** Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza: Contenu lipidique et vitamines. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires, Constantine, 189p.
- 8. Benali N et Sifer H., 2015.** Enquête sur les conditions de fabrication de certains produits laitiers traditionnels et l'étude de leur qualité microbiologique. Mémoire de master. Université de Bejaia, 44p.
- 9. Benamara R. N., Gemelas L., Ibri K., 2016.** A traditional cheese made in the south-west of Algeria. African Journal of Microbiology Research, 10, pp. 1728-1738.

- 10. Benboubekur A., 2016.** Etude comparative de la qualité microbiologique des trois types de lait de vache (lait entier, lait écrémé, lait pasteurisé). Mémoire de Master. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen, 70p.
- 11. Bencharif A., 2001.** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : états des lieux et problématiques. In Padilla M. (ed.) CIHEAM, Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches N° 32, pp 25-45.
- 12. Benderouich B., 2009.** La kémaria: un produit du terroir à valoriser. Mémoire de master. Université kasdi Merbah – Ouargla.
- 13. 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, P 05.
- 14. Benkerroum N., Tamime AY., 2004.** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, and smen) to small industrial scale: Food Microbiol. 21:399-413.
- 15. Benkerroum N., 2013.** Traditional Fermented Foods of North African Countries: Technology and Food Safety Challenges With Regard to Microbiological Risks. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 12:54.
- 16. Benlahcen K., Mouloudi F., Kihal M., 2013.** Study of the microbiological and physicochemical quality of raw milk from cows exposed to environmental pollutants in the region of west Algeria.(1):229-240.
- 17. Benlahcen k., Mahamedi A. E., Djellid Y., Sadeki I. F., Kihal M., 2017.** Microbiological characterization of Algerian Traditional cheese “Klila”. Journal of purity, Utility Reaction and Environment. Vol.6 No. 1, 1-9.
- 18. Bouadjaib S., 2013.** Etude physico chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire Master. Université de Tlemcen. 80p.
- 19. Boubekri. K., Otha Y., 1996.** Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-Klila, Jo. Sci. Food Agric. 70 : 501- 505.

20. Bounecissa F., 2016. Etude Comparative Physicochimique et Microbiologique de fromages type « Jben » issus de différents laits. Université de Mostaganem, 63p

21. Bouraoui A., 2014. Intérêt de fabrication de fromage analogue. Mémoire master. Institut supérieur de biotechnologie de Monastir en Tunisie.

22. Bousnane M et Djadi O., 2009. Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien "Takammèrite" de la région de Ghardaïa. Mémoire Ing. I.N.A.T.A.A. Constantine, 108p.

C

23. Camps G., 1984. Encyclopédie berbère, Volume IV Alger - Amzouar. Ouvrage publié avec le concours et sur la recommandation du Conseil International de la Philosophie et des sciences humaines UNESCO. ISBN 2-85744-201-7 & 2-85744-282-3. Editions EDISUD, France PP447-629.

24. Chabane A et Djeddi M, 2016. Analyse physicochimique et microbiologique d'un fromage frais (Jben) algérien commercialisé dans la ville de Tébessa. Mémoire de master. Université de Tébessa.84p.

25. Chamba J. F., 2008. Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris, p. 787-815.

26. Charron G., 1988. Les productions laitières .Volume 2, conduite technique et économique du troupeau .Tec et Doc Lavoisier.

27. Choisy C., 1987. Les levains lactiques et les bactéries lactiques. In : Eck A. (Eds.), Le fromage. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

28. Cuq JL., 2007. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

D

29. Djeddar et Dahdouh, 2016. Caractéristiques physico-chimiques des fromages traditionnels «Klila et Jben » préparés à partir du lait de vache et de chèvre, Mémoire de Master en Biologie, Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, p 19-24.

E

30. Eck A et Gillis J.C., 1997. Le fromage. 3eme édition. Paris, Lavoisier

F

31. FAO /OMS., 2011. Codex Alimentaires, Norme Générale codex pour le fromage. Lait et produits laitiers 2^{ème} édition. Rome, 261p.

32. Filq, 2002. Science et Technologie du lait. Fondation de Technologie Laitière du Québec Inc. Ed. Presses Internationales Polytechnique. Québec, Canada.28-44p.

33. Franworth E., Mainville, 2010. Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe.
<http://www.dos.transf.edwa.pdf>.

34. Fredot, 2005. Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier. 397 p.

G

35. Gaucheron F., 2004. Minéraux et produit laitiers, Québec 2ème édition. Edition Technique et Documentation. France.

36. Ghaouest S., 2011. Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri, Constantine, 130p.

37. Gosta, 1995. Lait long conservation. In manuel de transformation du lait. Edition: Tétra Packs Processing Systems A.B, Sweden. 442p.

38. Gripon J.C., Monnet V., Lambert G. et Desmazeaud M.J., 1993. Microbiol enzymes in cheeses repning; food enaymology, fox ed ELSEVIER, vol.1.Pp. 131 à 168. 380p.

39. Guetouache M., Guessas B., 2015. Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cow's milk. Afr. J. Microbiol. Res. 9(2):71-77.

40. Guiraud, J., 2003. Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod, Paris, 651 p.

H

- 41. Hallal A., 2001.** Fromages traditionnel Algérien. Quel avenir ? Revue agroligne n°14, Avril-Mai.
- 42. Hamla H., Belgroune K., 2019.** Fabrication et suivi des paramètres physicochimiques et microbiologiques de Jben et Klila fabriqués à partir du lait de vache et de chèvre. Mémoire de master. Université L'Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, 44p.
- 43. Harrati E, 1974 b.** Recherche sur le Lben. Laboratoire de microbiologie, Institut National Agronomique d'Alger. pp 21-29.

J

- 44. Jacquet J. et Veisseyre R., 1987.** Le lait matière première de l'industrie laitière. p. 187, 188, 189, 225.
- 45. Jeantet R; Croguennec T; Schuck P et Brule G, 2007.** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier: 17-456 p.
- 46. Joffin C., Joffin J.N., 2000.** Microbiologie alimentaire. 5ème édition. France : CRDP d'Aquitaine. 212p.
- 47. Joffin C., Joffin J.N., 2010.** Microbiologie alimentaire. 6^{ème} édition, Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- 48. Journal officiel : JO n° 25 – 2014.** Arrêté du 8 décembre 2013 rendant obligatoire une méthode de détermination de la teneur en matière sèche des fromages et des fromages fondus.
- 49. Journal officiel : JO n° 42 – 2005.** Arrêté du 23 janvier 2005 rendant obligatoire la méthode des salmonella dans le lait et les produits laitiers.
- 50. Journal officiel : JO n° 67 – 2014.** Arrêté du 17 décembre 2013 rendant obligatoire la méthode de détermination de la teneur en matière grasse dans fromages.

K

51. Kabir A., 2015. Contrainte de la production laitière en Algérie et Evaluation de la qualité des laits dans l'industrie laitière (Constats et perspective). Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bella « Oran », 153p.

L

52. Lahssaoui S., 2009. Etude de procéder de fabrication d'un produit traditionnel algérien (Klila). Thèse pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'états en agronomie. Université de Batna, 72p.

53. Larpent, J.P., 1997. Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris, 910 p.

54. Leksir C., Chemmam M., 2015. Contribution to the characterization of Klila, a traditional cheese from east of Algeria. Livest. Res. Rural Dev. 27:5.

55. 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, 65p.

56. Luquet .F.M et Bonjean-Linczowski. Y, 1985. Le lait de la mamelle à la laiterie in lait et produits laitiers Vache- Brebis- Chèvre. Tec et Doc- Lavoisier, 15p.

57. Luquet F.M et Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris, 307p.

M

58. Magri W., Belarouci M., Meriouli Y., 2016. Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique du fromage fondu pasteurisé. Mémoire de master. Université de Boumerdes.51p.

59. 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.111p.

- 60. Mechai, A., Debabza M., 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).
- 61. Medfouni S., Benidir K., 2018.** Caractérisation du fromage traditionnel Algérien Bouhezza de chèvre et détermination de sa durée limite de conservation au cours de la réfrigération. Mémoire de master. Université d'oum el-bouaghi, 41p.
- 62. Mekentichi Z., 2003.** Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).mémoire d'ingénieur. Dept Agronomie. Université de Batna.
- 63. Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M., and Elyachioui M., 2007.** Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2, 23–27.
- 64. Mennane Z., Faid M., Lagzouli M., Ouhssine M., Elyachioui M., Berny E., Ennouali M., Khedid K., 2007.** Physico-Chemical, Microbial and Sensory Characterization of Moroccan Klila. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2 (3-4): 93- 97.
- 65. Messad N., 2017.** Caractérisation technologique des souches de bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels Algériens. Mémoire de master. Université de Tlemcen, 52p.
- 66. Mokarem F., 2016.** Caractérisation et Evaluation des aptitudes technologiques des Lactocoques isolés d'une crème fraîche crue destinée à la transformation industrielle. Mémoire de master. Université de Mostaganem, 60p.
- 67. Morrissay P.A., 1995.** Lactose: chemical and physico-chemical properties; dans: *Developments in dairy chemistry 3*. (FOX PF). Elsevier, London.

N

- 68. NF V -057-2, 1991.** Microbiologie alimentaire – Directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- 69. Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M.M., et DadieA., 2009.** Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flower (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in

themanufacture of traditional cheeses in Algeria. International Journal of Food Technology 7:20-29.

O

70. Ouadghiri M., Amar M., Vancanaeyt M., Swings J., 2005. Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). FEMS Microbiology Letters 251(2):267-71. · November 2005.

71. Ouadghiri, M., 2009. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine.

72. Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D. S., Tano-Debrah, K., Glover, R. L., et Jespersen, L., 2012. Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. Food microbiology, 32(1), 72-78.

P

73. Perreau M., 2014. Conduire son troupeau de vaches laitières. Ed. France Agricole. p.30-69.

74. Pougheon S., Goursaud J., 2001. Le lait caractéristiques physico-chimiques In DEBRYG; Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris. 566 p.

R

75. Rahali V., Menard J.L., 1991. Influence des variantes génétiques de la β -lactoglobuline et de la k-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. Le lait, 71, 275-299.

76. Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Mennane, Z., et Ouhssine, M., 2011. Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, 7(3).

77. Rheotest, 2010. Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK. Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.

S

- 78. Salhi K., Medjoudj K., 2013.** Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait cru collecté au niveau de la laiterie d'Amizour. Mémoire de master. Université de Bejaia.44p
- 79. Senoussi A., 2013.** Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel Algérien « Bouhezza ». Mémoire de magister. Université Constantine.
- 80. Soryal KA., Zeng SS., Min BR et Hart SP., 2004.** Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk domiati cheese. Small Ruminant Res. 52, 109–116.

T

- 81. Thieulin, G., Vuillaume, R., 1967.** 'Elements pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitieres 48 avenue'. Paris, pp. 71– 73.
- 82. Tantaoui-Elaraki A et El Marrakchi A., 1987.** Study of the Moroccan dairy products: Lben and Smen . World J Microbiol Biotechnol (Ex Mircen J) 3:211-20.
- 83. Touati, 1990.** Chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.

V

- 84. Vierling, 2003.** Aliment et boisson-Filière et produit, 2 édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. 270 p.
- 85. Vignola C., 2002.** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp : 3-75.
- 86. Vivegnis J., Dubois C., Nicolay L., Mairy F., Jacob C., Piraux É., El Lioui M et Decallonne J., 1998.** Qualité microbiologique des fromages artisanaux fabriqués au lait cru en Région wallonne. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2 (4), 248–255.

Y

- 87. Yildiz F., 2010.** Développement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.



Annexes



Annexe A

Composition des diluants

➤ TSE (Tryptone Sel Eau):

- Tryptone..... 1g
- Chlorure de sodium 8,5g
- Eau distillée 1000 ml

➤ Eau peptonée tamponée :

- NaCl 5g
- Peptone10g
- Na₂Hpo₄ , H₂o.....9g
- Kh₂po₄.....0.3g
- Eau distillée..... 1000 ml

Composition des milieux de cultures

I. Géloses :

▪ Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A):

- Hydrolysate tryptique de caséine 2,5g
- Extrait de viande 5g
- Glucose 1g
- Extrait de la levure 2,5g
- Agar 15g
- Eau distillé..... 1000 ml

➤ pH=7±0.2 à 37°C

▪ **Gélose nutritive (GN) :**

-Peptone	5g
-Extrait de viande	1g
-Extrait de levure	2g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Agar	15g
-Eau distillée	1000 ml

▪ **Milieu DCL (gélose) (Désoxycholate-Citrate-Lactose) :**

-Peptone	5,0 g
-Extrait de viande.....	5,0 g
- Lactose.....	10,0 g
-Citrate de sodium	8,5 g
-Citrate de fer III.....	1,0 g
-Désoxycholate de sodium	5,0 g
- Rouge neutre	0,020 g
-Thiosulfate de sodium	5,4 g
- Agar-agar	12,0 g

➤ pH = 7,3

▪ **Milieu OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) :**

-Extrait de levure.....	5g
-Glucose.....	20g
-Gélose.....	16g

- Rajouter avant l'emploi au milieu à 45°C, 100mL d'oxytétracycline à 1 mg/mL et couler en boîte de pétri.

➤ pH 7

▪ **Gélose/Bouillon M17:**

-Extrait de levure.....	2,5g
-Extrait de viande	5g
-Tryptone.....	5g
- Peptone papainique.....	2,5g
-Peptone pepsique de viande	5g
-Acide ascorbique	0,5g
-Lactose	5g
-Glycérophosphate de sodium	19g
-Mg SO ₄	0,25g
-Agar-agar	15g (uniquement gélose)
-Eau distillée q.s.p.	1000 ml

▪ **Gélose/Bouillon MRS**

-Extrait de viande	10g
-Extrait de levure	5g
-Peptone	10g
-Acétate de sodium	5g
-Citrate de sodium.....	2g
-Glucose	20g
-MgSO ₄	25g
-MnSO ₄	0,05g
-KH ₂ PO ₄	2g
-Agar-agar	15 g (uniquement gélose)
-Tween 80.....	1 ml
-Eau distillée	1000 ml

▪ Viande – Foie (VF)

Base VF déshydraté	20g
Glucose	2g
Amidon	2g
Aga-Agar	11g
Eau distillée.....	1000 ml

➤ pH 7,2 Autoclaver à 115 °C pendant 30 mn

□ SS (Salmonella, Shigella) :

-Extrait de viande de boeuf.....	5g
-Polypeptone.....	5g
-Lactose.....	10g
-Sels biliaires	8,5g
-Citrate de sodium	10g
-Thiosulfate de sodium.....	8,5g
-Citrate ferrique	1g
-Rouge neutre.....	0,025g
-Vert brillant	(qlqs traces)
-Eau distillée.....	1000 ml

➤ pH 7,0 Ne pas autoclaver, porter à ébullition pendant 1 ou 2mn en agitant fréquemment

II. Bouillons

■ Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium) :

-Tryptone	20g
-Glucose	5g
-Chlorure de sodium.....	5g
-Phosphate di potasique	2.7g
- Phosphate monopotassique.....	2,7g
-Azothydrate de sodium.....	0,2g
-Eau distillée	1000 ml

➤ pH 7,2 Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

■ Milieu EVA Litsky (bouillon glucosé à l'éthyle violet et azide de sodium) :

-Tryptone.....	20g
-Glucose	5g
- Chlorure de sodium	5g
-Phosphate di potassique	5g
-Phosphate monopotassique.....	2,7g
-Azothydrate de sodium	0,3g
-Eau distillée	1000 ml
-Solution à 0,01 g d'éthyle Violet dans 100 ml d'H ₂ O	5 ml

➤ pH 7,2 Autoclaver r à 121 °C pendant 20 mn

Annexe B

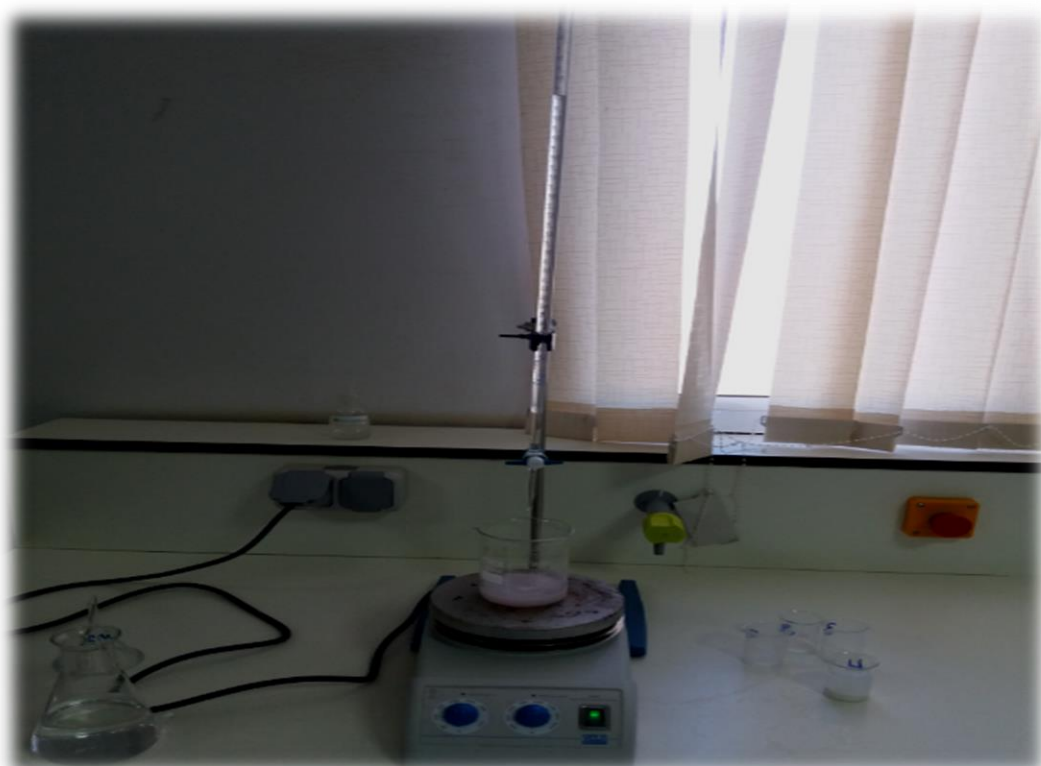
Préparation des milieux de cultures





Annexe C

Appareillages



Annexe D

Méthode NPP

Le principe de la méthode NPP (nombre le plus probable) consiste à ensemercer des dilutions d'un même échantillon dans des tubes de bouillon d'enrichissement, Chaque dilution estensemencée dans trois tubes et par la suite à confirmer la présence de bactérie par repiquage d'autre tubes. Le nombre de tubes positifs pour chaque dilution est compté, la somme correspond au nombre caractéristique. Le résultat est exprimé dans la table de Magrady (ci-dessous) par le nombre le plus probable (NPP) de bactéries dans un millilitre ou 1 gramme de produit.

Table de Magrady

INDEX TUBES POSITIFS DE :			NPP (pour 1 g)	INDEX TUBES POSITIFS DE :			NPP (pour 1 g)
1 g	0,1 g	0,01 g		1 g	0,1 g	0,01 g	
0	0	0	0	2	2	3	4,0
0	0	1	0,3	2	3	0	3,0
0	1	0	0,3	2	3	1	3,5
0	1	1	0,6	2	3	2	4,0
0	2	0	0,6	3	0	0	2,5
1	0	0	0,4	3	0	1	4,0
1	0	1	0,7	3	0	2	6,5
1	0	3	1,1	3	1	0	4,5
1	1	0	0,7	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	11,5
1	2	0	1,1	3	1	3	16,0
1	2	1	1,5	3	2	0	9,5
1	3	0	1,6	3	2	1	15,0
2	0	0	0,9	3	2	2	20,0
2	0	1	1,4	3	2	3	30,0
2	0	2	2,0	3	3	0	25,0
2	1	0	1,5	3	3	1	45,0
2	1	1	2,0	3	3	2	110,0
2	1	2	3,0				
2	2	0	2,0				
2	2	1	3,0				
2	2	2	3,5				