

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine : SNV    Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

**Présenté par :**

*MALAOUI Kahina & MOUHEB Mounia*

*Thème*

**Amélioration et Suivi des conditions de conservations d'un  
fromage frais enrichi avec des graines de pin d'Alep  
mariné dans l'huile d'olive**

**Soutenu le : 21 / 09 /2021**

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
MAHDJOUB Malik	MCB	Univ. de Bouira	Président
MEDBOUA Chafiaa	MCB.	Univ. de Bouira	Examineur
REMINI Hocine	MCB.	Univ. de Bouira	Promoteur
SAHRAOUI Yasmine	MCB	Univ. de Boumerdes	Co-promotrice

*Année Universitaire : 2020/2021*



## *Remerciements*

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

Nous exprimons nos remerciements très particuliers à notre promoteur **Mr REMINI.H** pour avoir accepté de diriger ce travail et pour ces orientations dont nous avons bénéficié.

Nos sincères remerciements s'adressent également à **Mme SAHRAOUI.Y**, notre Co-promotrice pour son aide, sa disponibilité, ses idées, ses conseils et ses orientations.

Nous aimerions exprimer nos profonds remerciements à **Mme ADEL.KH** pour ces compétences, et s'est toujours montré à l'écoute, très disponible tout au long de la réalisation de notre pratique, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.

Nos remerciements et reconnaissance vont à **Mr MADANI. KH** responsable de laboratoire 3BS à Bejaïa pour avoir bien voulu nous accueillir, ainsi au personnel de laboratoire pour leur patience et précieuses aides.

Nos remerciements et reconnaissance vont aux membres de **jury Mr MAHDJOUR. M** et **Mme MEDBOUA. C** Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.



## *Dédicace*

Je dédie ce travail à

**Ma grand-mère ♥**

La lumière de ma vie, la source de mes efforts avec tes prières et ta bénédiction, que dieu te garde toujours en bonne santé

**Ma mère ♥**

Ma chère maman aucune phrase ne saurait montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ton soutien, ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait.

**Mon père ♥**

Mon cher et tendre papa aucune dédicace ne saurait être assez suffisante pour exprimer mon amour pour toi, je te remercie infiniment pour tout les sacrifices que tu n'as cessé de faire pour mon éducation et mon bonheur depuis ma naissance, jusqu'à mon âge adulte.

**Ma sœur Malika et mes frères Walid, Ali, Tarek ♥**

Qui ont toujours été présentes pour moi par leur soutien et encouragements, que dieu nous garde toujours unis

**Mon binôme Mounia ♥**

Merci pour tous les bons moments et les souvenir inoubliable qu'on à passer ensemble, que dieu nous gardé ainsi unis et proche pour toute la vie.

**Mes amis**

**Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de lion**

*Je vous aime ♥*



*Kahina ♥*



## *Dédicace*

Je dédie Ce travail à

### **Mes parents ♥**

Les mots me manquent pour vous faire savoir à quel point vous comptez pour moi. Vos conseils sont toujours retenus. Que dieu vous protège.

### **Mes sœurs ♥**

Vous avez été pour moi une source d'inspiration avec vos bénédictions, conseils et l'amour inestimable que vous portez à mon égard.

### **Mes grands-parents ♥**

Merci pour vos bénédictions, et pour tous vos prières que dieu vous protège.  
Mon grand-père Amrane que dieu vous accueille dans son vaste paradis tu me manques trop.

### **Mon oncle ♥**

C'est la personne particulière que j'aime au fond de mon cœur, merci pour ton soutien moral et pour tout tes conseils et tes leçons précieuses.

### **Ma chère amie et binôme Kahina ♥**

Merci pour ton aide et toute graine de courage que tu as fait Pour travail réussit

Un grand merci pour tous ceux qui m'ont prêté main forte pour la réalisation de ce travail.



*Mounia ♥*

## Listes des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	Les différentes parties de pin d'Alep : A- les cônes, B- l'écorce, C- l'arbre, D- les aiguilles, E- les graines	<b>04</b>
<b>2</b>	Répartition de pin d'Alep dans la région méditerranéenne	<b>06</b>
<b>3</b>	L'aire de répartition du pin d'Alep en Algérie	<b>07</b>
<b>4</b>	Photographies des graines de Pin d'Alep <b>A</b> : graines à l'état naturel, <b>B</b> : graines broyées	<b>26</b>
<b>5</b>	La pasteurisation de lait cru dans bain marie à température	<b>32</b>
<b>6</b>	Etape d'acidification du lait cru. <b>A</b> : Lait pasteurisé, <b>B</b> : le jus de citron, <b>C</b> : le vinaigre blanc	<b>33</b>
<b>7</b>	L'étape de caillage de lait	<b>34</b>
<b>8</b>	L'égouttage de fromage <b>A</b> : à l'aide des gaz stérile <b>B</b> : moulage de fromage	<b>34</b>
<b>9</b>	L'enrichissement du fromage frais avec les graines de pin d'Alep	<b>35</b>
<b>10</b>	Le salage du fromage frais après le 1 <sup>er</sup> retournement	<b>35</b>
<b>11</b>	Le marinade du fromage dans l'huile d'olive	<b>38</b>
<b>12</b>	Résultats du test de lactofermentation et réductase du bleu de Méthylène, <b>A</b> : avant incubation, <b>B</b> : après incubation (Originale).	<b>42</b>
<b>13</b>	Le résultat des germes aérobies à 30°C sur milieu GN (originale)	<b>44</b>
<b>14</b>	Résultat de dénombrement des coliformes fécaux sur milieu VRBG (originale).	<b>45</b>
<b>15</b>	Les résultats de dénombrements des <i>Staphylocoques</i> sur milieu Baird Parker (Originale).	<b>46</b>
<b>16</b>	Les résultats de l'isolement des salmonelles, <b>A</b> : sur milieu Hektoen, <b>B</b> : sur milieu SS (Originale).	<b>47</b>
<b>17</b>	Les résultats obtenus après analyses microbiologiques du fromage Et comparaison la norme Algérienne	<b>49</b>

## Listes des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>I</b>	La systématique du pin d'Alep	<b>05</b>
<b>II</b>	La composition moyenne du lait de vache	<b>09</b>
<b>III</b>	La flore originelle du lait cru	<b>11</b>
<b>IV</b>	Les différents types de fromage frais.	<b>13</b>
<b>V</b>	Les effets indésirables des microflores de fromage frais	<b>14</b>
<b>VI</b>	Les paramètres physicochimiques des différentes classes d'huile d'olive	<b>21</b>
<b>VII</b>	Les analyses microbiologiques du fromage frais J0	<b>37</b>
<b>VIII</b>	Les analyses de différentes flores de fromage frais	<b>39</b>
<b>IX</b>	Résultats des Analyses physico-chimiques du lait de vache cru	<b>40</b>
<b>X</b>	La charge des différentes flores dénombrées dans le lait cru de vache	<b>43</b>
<b>XI</b>	La charge des différentes flores dénombrées dans le lait cru pasteurisé	<b>47</b>
<b>XII</b>	Résultats des Analyses microbiologiques de fromage frais mariné dans l'huile d'olive pendant 21 jours de conservation à 6 °C.	<b>49</b>

## Liste des abréviations

**O.M.O** : Organisation mondiale de santé

**UFC** : Unité formant colonie

**CMP** : Caséino -macropeptide

**C.O.I** : Conseil oléicole international

**UV** : Ultra-violet

**L3BS** : Laboratoire biomathématique, biophysique, biochimie et scientométrie

**GN** : Gélose nutritive

**Gélose SS** : Gélose *Salmonelles-shigelles*

**VRBG** : Violet Red Bile Glucose Agar

**VBL** : Lactosé bilié au vert brillant

**NAOH** : Hydroxyde de sodium

**°D** : Degré Dornic

**GAMT** : Germes aérobies mésophiles totaux

## **Table des matières**

**Listes des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction.....01**

### **Parties bibliographique**

#### **Chapitre I : Le pin d'Alep**

I. Description botanique de pin d'Alep.....	03
I.1.L'écorce.....	03
I.2. Les aiguilles.....	03
I.3. Les cônes.....	03
I.4. Les graines.....	04
I.4.1. Utilisation des graines .....	04
I.5. La classification botanique.....	05
II. La répartition géographique de l'habitat du pin d'Alep.....	05
II.1. Dans le monde.....	05
II.2. En Algérie.....	06
III. L'intérêt et l'utilisation de pin d'Alep.....	07
IV. Métabolisme de pin d'Alep.....	08
IV.1. Métabolite primaire.....	08
IV.2. Métabolite secondaire.....	08

#### **Chapitre II : Lait et fabrication de fromage frais**

I. Généralité sur le lait cru.....	09
II. Valeur nutritionnelle de lait.....	09
III. Microbiologie de lait.....	10
IV. Définition de fromage.....	11
V. Différentes types de fromage.....	12
VI. Généralité sur le fromage frais.....	12

VII. Processus de la fabrication du fromage frais.....	15
VII.1. La réception et traitement de lait.....	16
VII.2. La coagulation du lait .....	16
VII.2.1. Coagulation par voie acide.....	16
VII.2.2. Coagulation par voie enzymatique.....	17
VII.3. L'égouttage.....	17
VII.4. Le Salage.....	18
VII.5. La Conservation.....	18

### **Chapitre III : Huile d'olive**

I. Généralité sur l'huile d'olive.....	19
II. Les Caractéristiques physicochimique.de l'huile d'olive.....	20
III. Les Caractéristique microbiologique.....	22
IV. Aperçu sur la production de l'huile d'olive.....	22
V. L'activité antimicrobienne de l'huile d'olive.....	23
VI. L'huile d'olive et la santé humaine.....	23

### **Partie expérimentale.**

#### **Chapitre IV : Matériel et méthode**

I. Matériel et équipement. ....	25
II. Récolte des échantillons.....	25
II.1. Préparation de matériel végétale.....	25
III. Fabrication de fromage frais enrichi avec les graines De pin d'Alep.....	26
III.1. Les analyse du lait cru.....	26
III.1.1. Les analyse physico-chimiques du lait cru .....	26
III.1.2. Analyses microbiologiques. du lait cru .....	28
III.2. La fabrication de fromage frais.....	33
III.2.1. Protocole de fabrication.....	33
III.2.2. Les analyses microbiologique de fromage frais après fabrication J0.....	36

III.3. La Conservation de fromage frais enrichi avec les graines de Pin d'Alep dans l'huile d'olive.....	37
III.4. Analyses de fromage frais.....	38
III.4.1. Les prélèvements.....	38
III.4.2. Les analyses microbiologiques de fromage frais.....	38

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

I. Les analyses de lait cru.....	40
I.1. Résultats d'analyses physico-chimique .....	40
I.1.1. L'acidité titrable.....	40
I.1.2. La matière sèche.....	41
I.1.3. La lactofermentation.....	41
I.1.4. Le test d'ébullition.....	42
I.2. Les résultats d'analyse microbiologiques.....	42
I.2.1. Les germes aérobies à 30°C.....	43
I.2.2. Les coliformes fécaux.....	44
I.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
I.2.4. Les salmonelles.....	46
I.3. Effet de la pasteurisation sur la qualité microbiologique du lait.....	47
II. Analyses de fromage frais.....	48
II.1. Résultats des analyses microbiologiques du fromage frais enrichi avec les graines de Pin d'Alep fabriqué à J0.....	48
II.2. Suivre de la qualité microbiologique du fromage frais mariné dans l'huile d'olive vierge lors de la période de conservation.....	49
II.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	50
II.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
II.2.3. Salmonelles .....	51
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	52

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# *Introduction*

# *Introduction*

---

## **Introduction**

Les végétaux ont toujours été employés par l'homme pour se soigner. Dans le monde près de 80% de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrit (Benaïssa,2011). Car elles possèdent des propriétés médicamenteuses qui ont souvent une réelle efficacité contre différentes maladies, le Pin d'Alep est l'un de ces plantes le plus répandus en Algérie (Sofowora,2010).

Au cours des dernières années, un intérêt croissant pour l'utilisation de ces différentes parties (fruit, graines...). A été observé dans différents domaines non seulement en Médecine mais aussi dans les industries agro-alimentaires (Benaïssa,2011).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par années (Mehnoun et Ferhoul,2015). Une grande partie de cette quantité est destinée pour fabrication de différents types de fromage par lesquelles le fromage frais ; au sens large, est un produit apparu dès le néolithique, fabriqué artisanalement ou industriellement sous une action de fermentation lactique ou d'une action de la présure(Guiraud,2003) dans toutes les grandes régions d'élevage du monde. Se caractérise par un égouttage spontané et se consomme nature salé ou sucré(Vierling,2003).

Néanmoins, il existe une autre variété de fromage qui est celle des fromages frais enrichis aux graines, herbes, épices... ect, qui sont ajoutés aux fromages en vue d'améliorer leurs saveur, présentation ainsi que leurs attractivités vis-à-vis des consommateurs (Hayaloglu et Farkye,2011).

La conservation de fromage peut être également assurée par un autre moyen déjà pratiqué par les civilisations anciennes « la macération dans l'huile d'olive », Il a été rapporté que les gallo-romains consommaient du fromage macéré dans l'huile d'olive. De même les romains conservaient le Manchego, un fromage traditionnelle espagnol, dans l'huile d'olive et les stockaient dans des grandes jarres en terres (La Grandier et al,2003). L'huile d'olive connue pour ses propriétés antimicrobiennes pourrait jouer le rôle d'un bio-conservateur dans certains aliments et exercer un effet protecteur contre les agents pathogènes d'origine alimentaire (Brenes et al., 2006).

De plus, l'huile d'olive pourrait améliorer la qualité organoleptique des fromages en leur conférant une saveur caractéristique.

## *Introduction*

---

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, elle se donne comme objectif l'élaboration d'un nouveau fromage frais enrichi avec des graines de Pin d'Alep séchées et torréfiées, et mariné dans l'huile d'olive vierge ; dans le but d'améliorer la qualité du fromage ainsi que lui conférer de nouvelles propriétés bénéfiques.

Sur la base des données de la littérature, le présent travail a comme objectif d'une part :

- De fabriquer un fromage frais au lait de vache pasteurisé enrichi avec des graines de pin d'Alep dans le but d'enrichir sa qualité nutritionnelle
- D'autre part, de suivre l'effet de la conservation du fromage frais enrichi mariné dans l'huile d'olive vierge sur la qualité organoleptique et microbiologique de fromage frais enrichi ainsi obtenu et ceci à travers de différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques.

*Chapitre I*  
*Pin d'Alep*

**I. Description botanique de pin d'Alep**

Le pin d'Alep est un conifère de la famille des pinacées, il fut décrit par le botaniste écossais Philip Miller en 1768, est un arbre toujours vert, vivace, résineux de deuxième grandeur qui peut parfois atteindre les 30 mètres de hauteur dans les conditions écologiques les plus favorables, mais dans les situations moyennes, il ne dépasse pas les 20 mètres (Baker et al., 1982), résiste à la sécheresse et peu tolérant aux sols, peu fertile et un climat aride (Bobbon, 2016). Le pin d'Alep a une longévité importante de 200 à 250 ans (Fekih, 2014).

Nahal (1986), a tenté de classer le pin d'Alep à base des critères d'identifications suivants :

- ✓ Cône largement pédonculé et réfléchi vers la base du rameau.
- ✓ Feuilles très fines, inférieures à 1 mm, molles, très finement serrées sur les bords, 5 à 10 cm de long, réunies par deux, par fois dans une gaine, groupées en pinceaux à l'extrémités des rameaux, leurs couleurs sont vertes jaunâtre.
- ✓ Cônes isolés ou par paires, rarement verticillés, écusson de l'échelle portant au centre un ombilic relevé et muni d'un petit mucron saillant. Graine à aile allongée et droite de deux côtés.

Le pin d'Alep est constitué de différentes parties parmi lesquelles on distingue :

**I.1. L'écorce**

L'écorce des jeunes sujets est lisse de couleur grise-argenté qui devient assez foncée chez les adultes d'une couleur rouge brune (Ladjal, 2012).

**I.2. Les aiguilles**

Les aiguilles sont des feuilles fines de 1 mm d'épaisseur et de 6 à 10 mm de long, groupées par deux en pinceaux à l'extrémités des rameaux, sont de couleur vert clair (Nahal, 1962 ; In Boutchiche et Boutrigue, 2016).

**I.3. Les cônes**

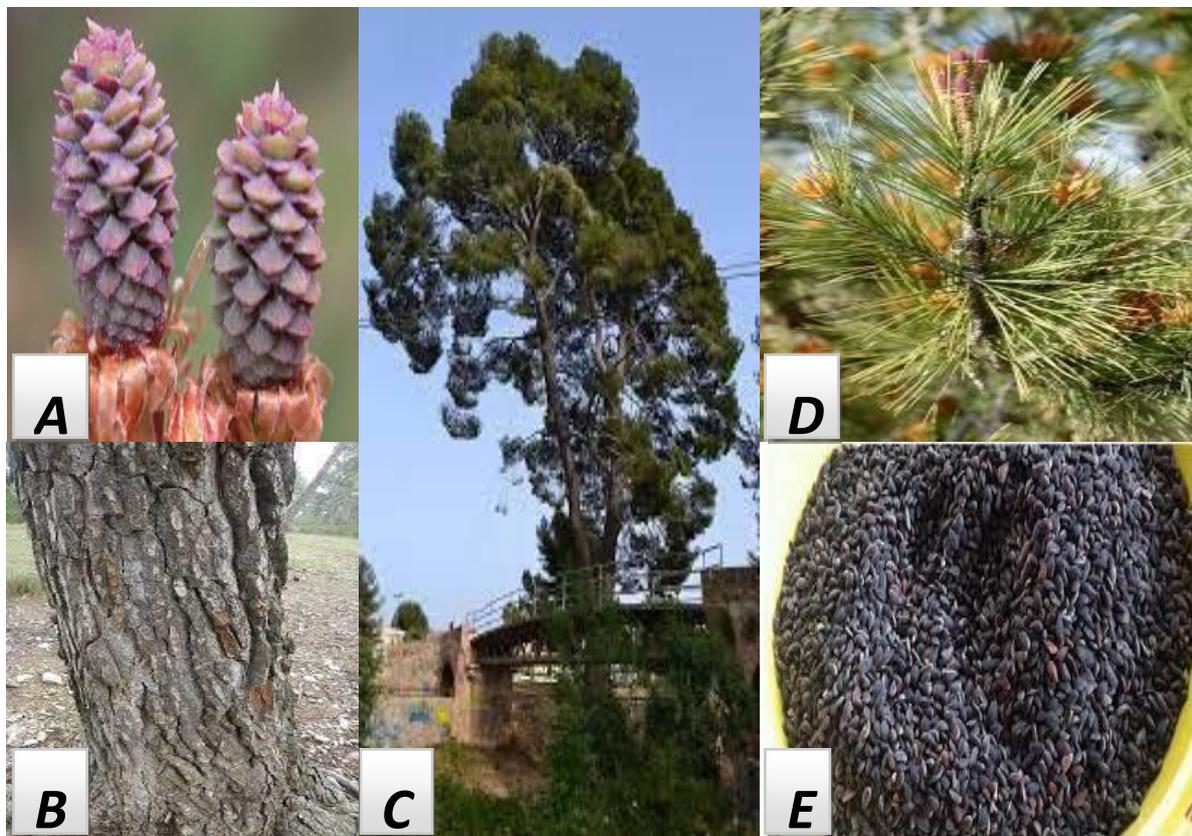
Les cônes sont ligneux à écailles dures, pédonculés, isolés ou par paire, ovoïdes, coniques à écusson aplati et toujours longtemps persistants, ils laissent le plus souvent échapper leurs graines au cours de la troisième année (Kdik, 1987 ; In Boutchiche et Boutrigue, 2016).

**I.4. Les graines**

Les graines sont des graines de couleur grise mouchetées de 7 mm de taille, munie d'une aile allongée ce qui facilité leurs dissémination rapide (Nahal, 1962). Elle sont riches en huile végétale, en protéines, et en composés phénoliques (Kadri et al., 2015).

**I.4.1. Utilisation des graines**

Les graines de pin d'Alep sont utilisées comme ingrédient aromatique dans les crèmes glacées et les bonbons. Les métabolites secondaires des graines de pin d'Alep sont utilisé comme crèmes pour prévenir les maladies de la peau tels que la dermatite atopique, la candidose et la kératose, A la fois chez les individus sains et immunodéprimés (Missaoui et al., 2019).



**Figure 01 : Les différentes parties de pin d'Alep : A- les cônes, B- l'écorce, C- l'arbre, D- les aiguilles, E- les graines (Boutchiche et Boutrighe, 2016).**

### I.5. La classification botanique

La systématique du pin d'Alep rétablie par Nahal (1986) se résume dans le tableau I.

**Tableau I :** La systématique du pin d'Alep.

Règne	Plante
<b>Embranchement</b>	<i>Spermatophytes (phanérogames)</i>
<b>Sous-embranchement</b>	<i>Gymnospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Pinopsida</i>
<b>Ordre</b>	<i>Pinale</i>
<b>Famille</b>	<i>Pinaceae</i>
<b>Sous-famille</b>	<i>Pinoidée</i>
<b>Genre</b>	<i>Pinus</i>
<b>Sous-genre</b>	<i>Eupinus</i>
<b>Espèces</b>	<i>Pinus halpensis Mill, Pinus brutia Ten</i>

#### I.5.1. Le nom vernaculaire

**Français :** Pin blanc, Pin d'Alep.

**Kabyle :** Azumbi, Tayda.

**Arabe :** الصنوبر الحلبي (Hamad et Hamroun, 2017).

## II. La répartition géographique de l'habitat du pin d'Alep

### II.1. Dans le monde

L'aire de répartition du pin d'Alep est limitée au bassin méditerranéen (Figure 02) dont il occupe plus de 3,5 millions d'hectares (Quezel, 1986), il s'étend de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye et du moyen- orient ( Syrie, Liban, Jordanie, Palestina et Turquie) jusqu'à l'Europe méditerranéenne ( Grèce orientale, Croatie, Italie du nord, est de la France et l'Espagne orientale ( Djerrad et al., 2015).



Figure 02 : Répartition de pin d'Alep dans la région méditerranéenne (Fady, 2003).

## II.2. En Algérie

Selon la directrice générale des forêts Kabouya (2021), le pin d'Alep représente 68 % de la superficie forestière, reste bien l'espèce qui occupe la première place de la surface boisée en Algérie. Elle a fait savoir que le pin d'Alep était l'essence la plus touchée des incendies avec 46% du total enregistré en forêt. L'analyse de l'inflammabilité et de la combustibilité du pin d'Alep fait apparaître la grande sensibilité au risque d'incendie de ses formations (Challot, 1992). Ces essences ont une très forte teneur en résine et en huiles essentielles, ce qui les rend extrêmement inflammables. Fort heureusement, le pin d'Alep est caractérisé par des mécanismes physiologiques qui assurent l'ensemencement naturel, c'est-à-dire les cônes résistent aux feux les plus violents, leurs écailles peuvent être calcinées à l'extérieur sans que les graines soient touchées (Meddour et al., 2010).

Selon Mezali (2003), la surface occupée par cette espèce avoisine 800000 ha, les peuplements du pin d'Alep se localisent sur tous les massifs montagneux du tell littoral jusqu'à l'atlas saharien (Kdik, 1986). On trouve de vastes peuplements en Oranie (région de Bel Abbes, Saida, Ouarsenis), dans l'Algérois (Medea-boghar, monts de Bibans, monts de Ouled nail), et dans le constantinois (Aurès, région Tébessa).

Selon Kadik (1987), les beaux peuplements du pin se situent au centre du pays dans les forêts de Médéa, Boghar et de Theniet El Had qui totalisent respectivement 52000 et 47000

hectares, les vieilles futaies des monts de Ouled nail (Djelfa) avec plus de 100000 ha, à l'ouest dans les régions de Sidi Bel Abbes et Saïda.

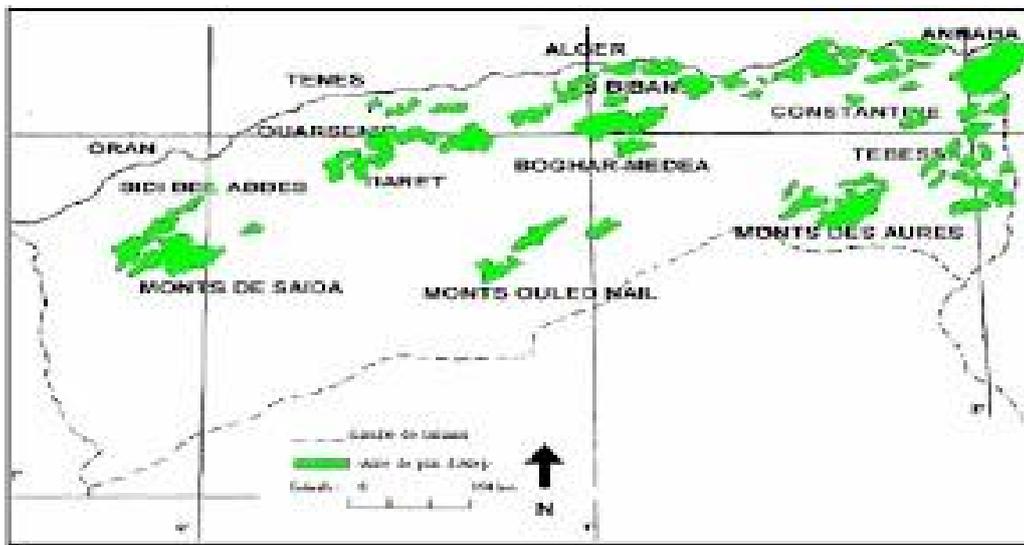


Figure 03 : L'aire de répartition du pin d'Alep en Algérie (Berroukche et al., 2014).

### III. L'intérêt et l'utilisation de pin d'Alep

- Le pin d'Alep considéré comme l'espèce la plus utilisée pour le reboisement (Bentouati A ; et Bariteau M, 2005), cas de « la ceinture verte » dans le sud de l'Algérie (Lhouati, 2000 ; Maestre et Cortina, 2004), il est utilisée en construction, industrie, menuiserie, pâte à papier, construction navale et la charpenterie (Maestro et Cortina, 2004).
- Le pin d'Alep donne environ 3 Kg de résine (la gemme) par arbre et par an ; la gemme pure contient 20 à 40% d'essence de térébenthine et 75 à 80 % de cellophane elle a aussi des usages médicaux (Kdik, 1987).
- Les rameaux feuillés de *Pinus halpensis* renferment une huile essentielle riche en pinène, puissante antiseptique apprécié en cas d'affection respiratoire, dépuratifs en décoction, balsamique et amère (appréciés alors en cas d'inflammation intestinale) (Boullard, 2001).
- La décoction des bourgeons, l'écorce et des cônes matures ou jeunes aussi que la poudre des résines et des cônes verts sont utilisées pour le soulagement de l'asthme, la bronchite et de la toux (Kizilarvlan et Sevgi, 2013).
- Le pin d'Alep occupe une place très importante dans les études récentes grâce à ses graines qui sont utilisées dans le domaine agroalimentaire (Kadri et al., 2014), sont aussi de nombreux effets à savoir la prévention des maladies cornéennes, cardiaques... (Cheikh-Rouhou et al., 2006), présente un effet anti-âge, anti-inflammatoire,

antinéoplasique et antioxydant (Kadri et al., 2015), elles sont utilisées dans le domaine cosmétique (Cheikh-Rouhou et al., 2006).

- L'huile de pin est utilisée en aromathérapie, dans les massages de la peau, dans le soulagement de problèmes gastro-intestinaux comme ulcère d'estomac, se comporte également un inhibiteur de l'appétit et stimulation de l'absorption des protéines (Kadri, 2013).

## **IV. Métabolisme du pin d'Alep**

### **IV.1. Métabolite primaire**

La chimie moderne a décrit le rôle des métabolites végétaux primaires dans les fonctions vitales de base telle que la division cellulaire, la croissance, respiration, le stockage et la reproduction. Ils comprennent les composants de processus tels que la glycolyse, le cycle de Krebs ou l'acide citrique...etc.

Les métabolites primaires comprennent de petites molécules telle que les sucres, les acides aminés, les acides tricarboxylique, les protéines, les acides nucléiques, sont similaires dans toutes les cellules vivantes (Rehab A et al., 2018).

### **IV.2. Métabolite secondaire**

Le terme métabolite secondaire qui a probablement été introduit par ALBRECHT KASSEL en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions indirectement essentielles à la vie des plantes, Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques, sont une variétés structurelle extraordinaire mais sont produits en faible quantité ( Yezza et Bouchama, 2014) , on peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composer phénoliques ( acide phénoliques, les flavonoïdes, les coumarines, tannins ) , les alcaloïdes et les terpenoides ( Aref et Heded, 2015).

*Chapitre II*  
*Fromage frais*

**I. Généralités sur le lait cru**

Selon le congrès internationale de la répression des fraudes du 1909 ; le lait est un produit intégral de la traite totale ininterrompue d’une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Bourgeois et Larpent, 1996).

Le dictionnaire de terminologie de la fédération internationale de laiterie (FIL) et le code FAO/OMS indiquent que c’est « le produit de sécrétion mammaire normal, obtenu par un ou plusieurs traites sans aucun addition ou soustraction » (Luquet et al., 1985).

Le lait cru est un liquide opaque blanc mat plus ou moins jaunâtre selon la teneur en beta carotènes de la matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (Brulé, 1997), non chauffé au-delà de 40 °C, ni soumis à un traitement non thermique d’équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en microorganismes (Deforges et al., 1999).

**II. La valeur nutritionnelle du lait**

Le lait est généralement considéré par les spécialistes de la santé comme un aliment très complet équilibré en nutriments, il est indispensable à tout âge dans la vie, sa qualité nutritionnelle vient de sa composition particulière en : protéines de très bonne qualité, lipides, lactose et les minéraux (tableau II) (Brulé, 1997).

**Tableau II :** Composition moyenne du lait de vache (Alais et al., 2008).

	<b>Compositio n (g/L)</b>	<b>Etat physique des composants</b>
<b>Eau</b>	905	<b>Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)</b>
<b>Glucides (lactose)</b>	49	<b>Solution</b>
<b>Lipides</b>		
<b>Matière grasse proprement dite</b>	35	
<b>Lécithine (phospholipides)</b>	34	
<b>Insaponifiable (stérols,</b>	0,5	<b>Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)</b>
	0,5	

<b>carotènes,tocophérol)</b>		
<b>Protides</b>		
<b>Caséine</b>	34	<b>Suspension micellaire phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm)</b>
<b>Protéines solubles (globulines, albumines)</b>	27	
	2,5	
<b>Substances azotées non protéiques</b>	1,5	
<b>Sels</b>		
<b>De l'acide citrique (en acide) De l'acide phosphorique (P<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) Du chlorure de sodium (NaCl)</b>	9 2 2,6 1,7	<b>Solution ou état colloïdale</b>
<b>Constituants divers (Vitamines, enzymes, gaz dissous)</b>	Traces	
<b>Extrait sec total</b>	<b>127</b>	
<b>Extrait sec non gras</b>	<b>92</b>	

### III. Microbiologie de lait

Le lait joue un rôle important et croissant dans l'alimentation de la population, grâce à sa richesse en nutriments ce qui fournit un environnement idéal pour la croissance d'une grande variété de microorganismes d'origine alimentaire (Owusu-Kwarteng et al., 2020)

#### III.1. La flore de contamination

Le lait au moment de la traite d'un animale en bonne santé est presque stérile (Bouarissa R,2020).

Cependant, une fois qu'il est cru sécrété par la mamelle, le lait cru peut facilement être contaminé par deux manières. Premièrement, la contamination endogène se produit lorsque le lait est contaminé par un transfert direct d'agent pathogène dans le sang (infection

systémique), ou via une infection de la mamelle, le deuxième moyen par lequel le lait cru peut être contaminé, connu sous le nom de « contamination exogène », se produit lorsque le lait est contaminé pendant ou après la collecte par les matières fécales des animaux, l'extérieur de la mamelle, des trayons, la peau et d'autres sources environnementaux (Guiraud, 1998).

De nombreux agents pathogènes incriminer dans cette contamination tels que *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Listeria spp*, *Bacillus spp*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacteriu*, mais on peut aussi trouver des levures et des moisissures (Rosse, 2002).

### III.2. La flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans les bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées « © » à activité limitée dans le temps (4-6 h à 37 °C et 24 h à basse température. après la traite) (Cuq, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de *Microcoques*, mais aussi de *Streptocoques* lactiques et *Lactobacilles*.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001).

**Tableau III :** La flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Micro-organismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou lactococcus</i>	Inferieur de 10
Gram négatif	Inferieur de 10

### IV. Définition de fromage

Le fromage est un produit laitier fermenté qui remonte à l'époque néolithique. Traditionnellement, le fromage était un aliment dérivé du lait qui servait à conserver le lait et ses remarquables propriétés nutritives.

Actuellement, le Codex Alimentaire (2013) définit le fromage comme « un produit laitier déshydraté affiné ou non affiné, mou, semi dure, dure ou extra- dure, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/ caséine ne dépasse pas celui du lait » (Mayo B et al., 2021).

Ainsi, le fromage est le nom générique d'un groupe de produits alimentaires dérivés du lait qui se présentent sous une grande variété de formes, taille, textures, d'arômes et de goûts (Mayo B et al., 2021), il 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 ; ou alors par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des produits provenant du lait (Eck et Gillis, 2006).

## **V. Différents types de fromage**

On peut regrouper les fromages en 3 catégories:

### **V.1. Fromage frais (à pâte fraîche)**

Ce sont des fromages à égouttage obtenus par centrifugation ou filtration ils subissent essentiellement une fermentation lactique (cependant il y'a souvent une légère action de la présure) et ne sont pas affinés. Leur humidité est élevée (70 à 75%). Ils sont obtenus avec des laits pasteurisés et sont conservés au froid (petit-suisse...etc.) (Guiraud, 2003).

### **V.2. Fromage à pâte molle**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure qui subissent un affinage après la fermentation lactique, mais dont la pâte ni cuite ni pressée : l'égouttage est lent réalisé par un simple découpage et éventuellement un brassage. Leur humidité est moyenne (50 à 55%), leurs conservations est améliorées par le froid (Guiraud, 2003).

### **V.3. Fromage à pâte pressée**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure qui subissent un affinage après la fermentation lactique, et qui sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression, leur humidité est moyenne (45 à 50% pour les pâtes cuites ou très brassés), leur conservation est améliorée par le froid (Guiraud, 2003).

## **VI. Généralité sur le fromage frais**

### **VI.1. Définition**

Selon la réglementation française le décret du 26 octobre 1953 modifié par les décrets du 19 février 1960 et du 17 février 1976. L'appellation « fromage frais » évoque chez le

consommateur une notion de produit non affiné d'assez courte durée de vie et conservé à basse température (Luquet, 1990). Ils doivent contenir une flore (ferments), vivante au moment de la vente aux consommateurs (Syndi frais, 2011).

## VI.2. Les types de fromage frais

Selon la classification de la technologie française on trouvera deux types de fromage frais (tableau IV) :

**Tableau IV** : Les différents types de fromage frais.

Type de fromage	Description
<b>Fromage blanc moulé</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Dans lequel le caillé conserve son individualité à l'état de bloc ou de graine type (faisselle ou campagne) (Luquet, 1990), il est caractérisé par une texture hétérogène</li></ul>
<b>Fromage frais à structure homogène</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ A extrait sec faible et texture crémeuse comme les fromages blanc fouetté ou lisse.</li><li>▪ A extrait sec élevé et une texture extensible (petit suisses) (Luquet, 1990) ils peuvent être additionné du sucre, sel, des fruits, des épices ou des herbes (Gret, 2002).</li></ul>

## VI.3. La microflore de fromage frais

Il est difficile de citer toutes les espèces impliquées dans la production de fromage en raison de leurs grandes variétés, en particulier dans les produits laitiers crus et les produits fermiers, de plus il y a des variations régionales et saisonnières entre les différentes productions fromagères (Guiraud, 2003).

La flore de fromage frais est constituée d'un grand nombre de microorganismes ( $2$  à  $3 \times 10^9$  UFC/g) de différentes sources (lait, atmosphère, équipement de fromage...etc.) (Mahaut et al., 2000).

### VI.3.1. La flore bénéfique (lactique)

Ce sont des bactéries responsables de l'acidification du lait et la coagulation de caséine du lait (Roissard et Luquet, 1994). Cette flore rajoutée lors de la fermentation des fromages fabriqués à partir de lait cru (Guiraud, 2003), elles sont généralement des coques et des

bacilles caractérisés par la production d'acide lactique à partir de fermentation des sucres (Badis et al., 2005).

**VI.3.2. La flore d'altération :**

En raison des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui conduisent à des changements de qualité de ces produits en réduisant leurs ingrédients (protéines, lipides, sucre). Ces dégradations peuvent être causées par des bactéries, levures et moisissures et conduisent à des défauts de goût, odeur, d'aspect et des texture (Hermier et al., 1992)

**VI.3.3. La flore pathogène**

Les fromages frais peuvent contenir des entérobactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonelles*, *Listeria*...etc.) qui provoquent chez le consommateur des troubles plus ou moins graves (Guiraud, 2003).

**Tableau V** : Les effets indésirables des microflore de fromage frais.

Type de flore	Les bactéries	Leur effet sur le fromage
<b>Flore d'altération</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les bactéries psychotrophes : genre <i>Pseudomonas</i></li> </ul>	Se développe sur la peau des mamelles des vaches et dans les laits réfrigérés, ce genre développe dans le fromage une viscosité, un mauvais aspect et goût et mauvaise couleur (Guiraud, 2003).
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les coliformes.</li> </ul>	Peuvent être responsables de gonflement précoce dans le fromage à cause de formation d'hydrogène (Tarmo, 2010).
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Levures et moisissures.</li> </ul>	Sont responsables de changement d'aspect, d'altération organoleptiques et des

modifications chimiques de produit (Larpen, 1997).

### Flore pathogène

- *Escherichia coli* Sa présence indique une éventuelle contamination d'aliment par les bactéries pathogènes d'origine digestive (Chahd, 2007).
- Les Staphylocoques Leur présence représente un risque pour la santé humaine parce que certaines souches appartenant principalement à l'espèce *staphylococcus aureus* produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une toxi-infection alimentaire (Minor T.E et Marth E.H, 1976)
- *Listeria monocytogenese* Leurs présences provoquent la maladie de Listériose atteint préférentiellement les personnes dont le système immunitaire est déficient, les femmes enceintes (interruption de grossesse ou un accouchement prémature), les nouveau-nées et les personnes âgées (Vazquez-Boland et al.,2001).

## VII. Le Processus de la fabrication du fromage frais

Habituellement la fabrication du fromage comprend trois étapes : la formation d'un gel de caséine (coagulation du lait), déshydratation partielle du gel (égouttage) et le salage. Ces étapes concernent les fromages frais mais le reste des fromages subissent en plus une étape de maturation (affinage) exemple : camembert, roquefort, ... etc. (Syndi, 2011), une étape de traitement thermique (pasteurisation) est recommandée avant de commencer la fabrication, Il

se fait à une température inférieure à 100 °C et vise à détruire les bactéries pathogènes présentes sous forme végétatives et à la réduction de la flore totale (Carol et Vignola, 2002 ; Luquet, 1990).

### **VII.1. La réception et traitement du lait**

La collecte du lait dans les fermes est faite grâce aux camions citernes réfrigérés. Il est primordial de mettre en place dès la réception du lait et de toutes autres matières premières, des procédures permettant de détecter rapidement tout ce qui peut induire la détérioration de la matière première, il y a deux paramètres à respecter dès la réception du lait :

- **Microbiologie** : il faut s'assurer de la qualité microbiologique pour garantir la santé de consommateur, éviter la dégradation des composants du lait qui persistera dans le produit fini et éliminer toute compétition possible entre le ferment et la flore contaminante.
- **Chimie** : il est important de connaître la composition chimique du lait dans le but de réparer des laits qui ne peuvent pas être transformés comme le lait mammitieux, le colostrum et le lait de fin de lactation, en plus des données qui permettent de procéder à la standardisation du mélange, il faut aussi s'assurer de l'absence des agents qui inhibent l'activité du ferment tels que les antibiotiques, les agents de lavage et les assainisseurs comme le chlore. Leur présence pourrait avoir des répercussions sur la santé du consommateur (Carole et Vignola, 2002).

### **VII.2. La coagulation du lait**

La fabrication du fromage nécessite une phase de coagulation du lait, qui permet l'expulsion d'une grande partie d'eau et de matière solubles, cette étape correspond à des modifications physico-chimiques des micelles de caséine sous l'effet d'enzyme ou d'acide ce qui forme un réseau protéique (coagulum ou gel) (Eck et Gillis, 2006). Ce dernier peut être obtenu par deux grandes voies : soit par acidification ou par action enzymatique. (Gastaldi ; Bouabid, 1994).

#### **VII.2.1. Coagulation par voie acide**

L'acidification de lait peut être obtenue de manière directe par les composés chimiques (injection de CO<sub>2</sub>, addition de protéine sérique à pH acide...), ou indirecte par les produits de fermentation des bactéries acidifiantes qui fermentent le lactose en acide lactique (Mahaut et al., 2003). La diminution concomitante du pH a pour effet de faire régresser

l'ionisation des fonctions acides des caséines induisant le déplacement progressif du calcium et de phosphate inorganique de la micelle vers la phase aqueuse, ce qui provoque la désorganisation des micelles (Brule et al., 1997).

L'acidification microbienne du lait est un processus graduel, lent et uniforme se caractérise par la difficulté liée au contrôle du développement microbien (la cinétique de multiplication, les facteurs de croissances...) (Attia et al., 2000). Le coagulum obtenu par cette voie présente une bonne perméabilité mais une friabilité élevée. Le manque de structuration de réseau a pour conséquence une élasticité et une plasticité pratiquement nulle, et une faible résistance aux traitement mécaniques (Vignola, 2002 ; Jeantet et al., 2008).

### **VII.2.2. Coagulation par voie enzymatique**

Elle est obtenue par l'hydrolyse des caséines par des enzymes protéolytiques de diverses origines :

- a) Végétale : artichaut, chardon...
- b) Microbienne : enzyme extrait de culture liquide de certains champignons ; exemple (*Rhizomucor miehi*).
- c) Animale : chymosine et pepsines contenues dans le suc gastrique des animaux. (Veaux, poulet...) (Dalglish, 1997 ; Ramet, 1985 ; Ramet, 1987 ; Alais et Linden, 1997).

L'enzyme la plus fréquente en fromagerie est la présure, sécrétée dans la caillette des jeunes ruminants nourris du lait (Alais Linden, 1997 ; Brule et al., 1997). Son mécanisme d'action comprend trois étapes ;

- ✚ L'hydrolyse de la caséine kappa en para caséine et caséinomacropéptide (CMP)
- ✚ Formation d'agrégation des micelles due à la perte du CMP dans le sérum
- ✚ La réorganisation des liaisons entre les paras caséines et des micelles de caséine forme le coagulum. (Brulé et al., 1997).

Ces derniers obtenus sont élastiques et peu fiables, leurs raffermissements sont rapides et importants par rapport au gel lactique, leur porosité est bonne ce qui signifie leur forte perméabilité (Ramet, 1985).

### **VII.3. L'égouttage**

Dans un coagulum laissé au repos, l'égouttage est l'élimination progressive de lactosérum, conduit à l'obtention d'une masse de caillé dont l'extrait sec est plus au moins

concentré, ce phénomène physique qui permet de séparer les phases est appelée synérèse (Eckert Gillis, 2006), lors de cette étape, la plus grande partie des éléments solubles sont éliminés dans le lactosérum. (Carol et Vignola, 2002).

#### **VII.4. Le salage**

La composition du fromage jeune est finalement ajustée au cours de l'opération de salage, les fromages sont généralement salés soit par saupoudrage de sel sec à la surface, en deux étapes dans les technologies anciennes ou en une seule dans les technologies industrielles, soit par trempage dans une saumure souvent saturée pendant un temps variant de 10 min à 48 h selon la taille du fromage et le taux de sel recherché.

Dans certain cas, le sel est introduit directement dans la masse du fromage. Les teneurs en sel sont de l'ordre de 1 à 2% pour la plupart des fromages, cependant certains fromages orientaux conservés en saumure ont des teneurs beaucoup plus élevées (8 à 15 %). Après le salage, le sel est concentré dans des couches superficielles et ce n'est que progressivement qu'il va migrer vers l'intérieur.

Ce dernier a plusieurs rôles ; apporte le goût salé et possède la propriété d'exalter ou de masquer le goût de certaines substances formées au cours de la maturation, modifie l'hydratation des protéines ce qui a pour effet de favoriser le drainage du lactosérum et se traduit ainsi par un égouttage supplémentaire et la formation d'une croûte à la surface du fromage (Stenne P, 1973)

#### **VII.5. La conservation**

Le fromage se conserve par l'utilisation du froid qui consiste à limiter et même annuler le développement des germes pathogènes et d'altération, on maintient généralement des températures comprises entre 0 et +2 °C (Dossou et al., 2006).

# *Chapitre III*

## *L'huile d'olive*

**I. Généralités sur l'huile d'olive**

D'après le conseil oléicole international C.O.I (2015), l'huile d'olive est définie comme étant une huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea Europaea L*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvants ou par des procédés de ré-estérifications et de tout mélange avec les huiles d'autre nature.

**I.1. Les différents types d'huile d'olive**

Le COI (2019), a défini les différents types d'huile d'olive en fonction de l'acidité de l'huile, de son indice de peroxyde ainsi que d'autres critères organoleptiques qui représentent une première approche de la qualité de l'huile et comprends l'odeur, la couleur et l'aspect.

Selon COI (2019), les différents types d'huile d'olive sont :

**I.1.1. L'huile d'olive vierge**

Les huiles obtenues à partir du fruit de l'olivier, uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, on trouve :

**I.1.1.1. Les huiles d'olive vierge propre à la consommation**

- **Huile d'olive vierge extra** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,80 gramme pour 100 grammes.
- **Huile d'olive vierge** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum 2,0 grammes pour 100 grammes.
- **Huile d'olive vierge courante** : est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes (COI, 2019).

**I.1.1.2. Les huiles d'olive vierge non propre à la consommation**

- **Huile d'olive raffinée** : est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage, son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,30 gramme pour 100 grammes.

- **Huile d'olive :** est l'huile d'olive dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1,00 gramme pour 100 grammes (COI, 2019).

### **I.1.2. L'huile de grignons d'olive**

Les huiles obtenues par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques des grignons d'olive à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérifications et de tout mélange avec des huiles d'autres nature (COI, 2019).

## **I.2. La composition chimique d'huiles d'olive**

Selon la norme internationale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive, les constituants chimiques des huiles d'olive peuvent être subdivisée en deux catégories :

- La fraction saponifiable (triglycérides, phospholipides...etc.).
- La fraction insaponifiable (stérols, alcools, tri-terpénique, composé phénolique pigments ...etc.) (Ouaouich et Chimi, 2007).

## **II. Les caractéristiques physicochimiques de l'huile d'olive**

Conformément au règlement N°2569/91 de la communauté européenne de la norme commerciale du C.O.I, les attributs qui déterminent la qualité de l'huile d'olive sont l'acidité, l'indice de peroxyde, les valeurs d'extinction spécifiques dans l'UV à 232 ou 270 nm et la notation organoleptiques (Kalua et al., 2006).

### **II.1. L'indice de l'acidité**

L'indice de l'acidité est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il est exprimé en pourcentage (%) d'acide oléique et mesuré par la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acide gras libre contenant dans un gramme de corps gras (C.O.I., 2003).

L'acidité de l'huile d'olive est la conséquence de l'hydrolyse de cette dernière sous l'influence d'une azyme hydrolytique (lipase) ou de différents microorganismes comme (*Aspergillus*, *condida Wickerhamii* et *Saccharomyces Cerevisiae*) qui se développent dans le fruit à des conditions favorable de température et d'humidité (Psyllakis et al., 1980).

## II.2. L'indice de peroxyde

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif de peroxyde. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par Kg de corps gras (C.O.I, 2003).

## II.3. Les caractéristiques spectrales

L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet fournit des informations complémentaires sur la qualité d'une huile. L'absorbance à 232 nm permet de quantifier les peroxydes tandis que l'absorbance à 270 nm est la résultantes de la présence de composés secondaires d'oxydation (aldéhydes, cétones...). Cette analyse peut donc venir en complément de la précédente ou peut intervenir en amont afin de vérifier si un dosage précis des hydroperoxydes est nécessaire (Veillet, 2010).

Le tableau VI résume les caractéristiques physicochimiques de différentes classes d'huile d'olive.

**Tableau VI :** Les paramètres physicochimiques des différentes classes d'huile d'olive (F.A.O, 2001).

Paramètres	Densité relative à 20 °C	Acidité (% d'acide oléique)	Indice peroxyde (meqO <sub>2</sub> /Kg)	Extinction spécifique à 270 nm E% 1 cm
<b>Huiles</b>				
Huile d'olive vierge extra	/	<1	<20	<0,25
Huile d'olive vierge	/	<2	<20	<0,3
Huile d'olive vierge courante	0,910	<3,3	<20	<0,3
Huile d'olive raffinée	0,916	<0,3	<5	<1,1
Huile de grignons d'olive raffinée	/	<1,5	<5	<2,0
Huile de grignons d'olive	/	<1,5	<15	<1,7

### **III. Les caractéristiques microbiologiques**

Les études sur les microorganismes naturels présents dans l'huile d'olive sont limitées et ne donnent pas une image complète sur les huiles d'olive produites dans toutes les régions du monde.

Ciafardini et Zullo (2002a et 2002b) ont examiné les huiles d'olive produites en Italie centrale, et ont conduit une analyse microbiologique sur la présence des bactéries aérobie et lactiques, de levures et de moisissures. Ils ont rapporté que les levures étaient présentes constamment au début et pendant le stockage, les moisissures ont été de temps en temps retrouvées et les bactéries n'ont été jamais trouvées. Les moisissures appartiennent principalement au genre *Aspergillus* et les levures examinés ont été identifiées comme étant *Conidia Wickerhamii* et *Saccharomyces Cerevisiae*. Ils ont également montré que les microorganismes et les particules solides ont été piégées dans des gouttelettes d'eau suspendus dans l'huile d'olive.

### **IV. Aperçu sur la production de l'huile d'olive**

La production de l'huile d'olive a toujours été concentrée dans les pays du pourtour méditerranéen : Espagne, Italie, Portugal, Grèce, Turquie, Tunisie et Maroc représentant plus de 90% de la production mondiale qui reste relativement stable depuis le début des années 2000 avec une production annuelle située entre 2,4 et 3,2 millions de tonnes ( C.O.I, 2009).

L'oléiculture Algérienne se consente sur les zones Est (Jijel, Sétif et Guelma) et Centre-Est du pays soit les régions de la Kabylie représentés par les Wilayas de Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira. Ces trois principales Wilayas représentent ensemble 44% de la superficie totale de l'oléiculture. Elles présentent à elles seules 180 000 hectolitres d'huiles d'olive en moyenne par an, soit plus de 50% de la production nationale (Mouloud, 2014). D'après les statistiques du ministère de l'agriculture, la production oléicole réalisée durant la campagne 2010-2011 était de l'ordre de 6,1 millions de quintaux d'olive dont 29% pour l'olive de table et 71% pour la production de l'huile, soit 4,3 millions de quintaux. Cette campagne avait enregistré une bonne production ce qui a permis au pays d'être classé septième producteur mondial selon les données du Conseil Oléicole Internationale (COI, 2012). La production a connu une hausse de 97% par rapport à la saison 2009-2010 et une augmentation de 25% par rapport à celle de 2008-2009. Lors de la campagne 2011-2012, la production d'olive a connu une baisse de plus de 35%, soit une production de 3,9 millions de quintaux. Ainsi la production totale d'olives

est très variable selon les années. En effet l'oléiculture Algérienne est soumise à un phénomène d'alternance interannuel qui dépend de plusieurs facteurs naturels et humains (Mouloud, 2014).

### **V. L'activité antimicrobienne de l'huile d'olive**

L'action antimicrobienne de l'huile d'olive est supérieure à celle des autres produits alimentaires tels que le vin, le thé, le café et autres. Des études menées in vivo et in vitro ont démontré que les composés phénoliques contenues dans l'huile d'olive sont les responsables de son activité antimicrobienne, ces composés ont la capacité d'inhiber ou de retarder la croissance de plusieurs bactéries et champignons (Cicerale et al., 2012).

L'huile d'olive est souvent utilisée comme un traitement de surface au cours de la maturation des fromages à pâte dure, elle peut augmenter ou réduire la croissance des moisissures (*Aspergillus parasiticus*), en fonction de la formation d'une croûte lorsque l'huile d'olive est étalée sur la surface du fromage (Wendorff et Wee, 1997).

### **VI. L'huile d'olive et la santé humaine**

- L'un des plus grands défis de santé publique dans le monde est la pandémie d'obésité, Il existe suffisamment d'étude indiquant que l'utilisation d'huile d'olive vierge comme seule graisse culinaire, ingérée de manière modérée et continue, était associée à un indice de masse corporelle réduit (Gaforio et al., 2018).
- L'hypertension est le principal facteur de risque de maladies cardiovasculaire dans le monde, les essais randomisés disponible indiquent que les huiles d'olive vierges réduisent la pression artérielle et donc la charge cardiovasculaire mondiale des maladies et les coûts pharmaceutiques associés (Gaforio et al., 2018).
- Les huiles d'olive vierges ont un potentiel anti-artérioscléreux, favorisant la fonction endothéliale et préservant la pression artérielle, maintenant la fonctionnalité des lipoprotéines et exerçant des effets anti-inflammatoires et antioxydants (Gaforio et al., 2018).
- Des études observationnelles suggèrent que les huiles d'olive spécifiquement vierges peuvent jouer un rôle dans la prévention de cancer du sein post ménopausique et des preuves sur son rôle protecteur contre le cancer colorectal (Gaforio et al., 2018).
- Les vitamines contenues dans l'huile d'olive ont un effet de renouvellement sur les cellules ce qui lutte contre le vieillissement (Gaforio et al., 2018).

- L'huile d'olive est riche en acide gras mono insaturé qui peut être considéré comme une bonne alternative pour le traitement des patients diabète sucré, il améliore le profil lipidique des diabétiques et exerce une action favorable sur le contrôle de la glycémie (Gaforio et al., 2018).
- Contient des vitamines A, D, E et K importantes au développement des os chez l'adulte et l'enfant à travers la fixation des calciférols (Gaforio et al., 2018).
- Améliorent la mémoire et donc réduisent le risque de maladie d'Alzheimer (Ghedira, 2008).
- L'huile d'olive protège l'estomac contre les maladies gastriques (gastrite, entérite) en réduisant les acides gastriques (Jacolot, 1997 ; Charbonier, 1985).

*Chapitre IV*

*Matériel*

*Et*

*Méthode*

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche biomathématique, biophysique, biochimie et scientométrie « L3BS » à l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa.

L'objectif du travail est de fabriquer un fromage frais enrichi avec des graines de Pin d'Alep mariné dans l'huile d'olive et le suivi des conditions de conservation.

## **I. Matériels et équipements**

Les matériels et équipements utilisés dans notre pratique sont présentés dans le tableau suivant (Annexe01).

## **II. Récolte des échantillons**

### **II.1 Lait de vache**

Il s'agit des échantillons du lait (deux lites) dans des bouteilles en plastique acheté à partir d'une boutique laitière à Bejaïa, pour éviter de casser la chaîne de froid on a mis le lait dans une glacière tout au long de chemin au laboratoire, il doit être gardé à une température inférieure à 4 °C pendant le transport qui ne doit pas durer plus d'une heure.

### **II.2 Matériel végétal**

Le matériel végétal choisi pour notre étude « les graines de Pin d'Alep » a été acheté chez un herboriste à Bouira qui sont originaire de la wilaya de Médéa.

#### **II.2.1 Préparation de matériel végétal**

Après triage (élimination des impuretés), les graines de pin d'Alep ont été rincées avec de l'eau de robinet puis déposées sur un tissu propre pour séchage à l'aire libre et à l'abri du soleil dans un endroit sec et ventilé.

Par la suite, les graines séchées doivent être torréfiées dans une poêle pendant 5 minutes, elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Jusqu'à l'obtention d'une poudre plus au moins fine



**Figure 4:** Photographies des graines de Pin d'Alep **A** : graines à l'état naturel,  
**B** : graines broyées (Originale)

### III. Fabrication de fromage frais enrichi avec les graines de pin d'Alep.

#### III.1 Les analyses de lait cru

##### III.1.1. Les analyses physico-chimiques de lait cru

###### III.1.1.1. L'acidité titrable

L'acidité titrable exprime le nombre de grammes d'acide lactique présent dans un échantillon de lait. Elle consiste en une neutralisation par la soude des composants acides en présence de phénolphtaléine indicateur de la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle) (AFNOR, 1993).

L'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ,  $1^{\circ}\text{D} = 0.1 \text{ g d'acide lactique par litre de lait}$ ) (Jean et Dijon, 1993).

**Noter bien** : un lait est considéré comme frais lorsqu'il a une valeur inférieure ou égale à  $18^{\circ}\text{D}$

#### ➤ Mode opératoire

Dans un bécher, on introduit à l'aide d'une éprouvette, 10 ml de l'échantillon (lait) auquel on ajoute 2 gouttes de phénolphtaléine, le tout est titré par une solution NaOH (1N) goutte à goutte jusqu'à l'apparition du virage rose pâle persistant.

➤ **Expression des résultats**

L'acidité titrable, exprimée en degré Dornic (°D), est donnée par la formule suivante :

$$AD = V \times 10$$

Avec : AD : acidité titrable

V(ml) : volume en ml de la solution de NaOH (1 N)

(1 °D = 0,1 g d'acide lactique par litre de lait, 1 °D = 0,1 ml de NaOH).

### **III.1.1.2. Test d'ébullition**

Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséine particulièrement instable, un simple traitement thermique suffit à les précipiter.

➤ **Mode opératoire**

Mettre une quantité de lait et porter à l'ébullition sur une plaque chauffante

➤ **Expression des résultats**

Si le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants il se forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée principalement de calcium, de protéines et de matière grasse). Les laits acidifiés (au 25 °D) coagulent par ébullition (Thieulin et Vuillaume, 1967).

### **III.1.1.3. Détermination de la teneur en matière sèche**

La teneur en matière sèche est le résultat d'une dessiccation, par évaporation d'une certaine quantité de lait puis pesé le résidu.

➤ **Mode opératoire**

- Dans une capsule séchée et tarée, introduire à l'aide d'une éprouvette 10 ml de lait. Dans ce cas, utiliser de préférence une capsule avec couvercle
- Placer la capsule dans l'étuve à  $103 \pm 2$  °C et laisser pendant 3 heures.
- Mettre ensuite la capsule dans le dissecteur pour se refroidir pendant 30 minutes.
- On pèse ensuite à l'aide d'une balance analytique le résidu (AFNOR, 1986).

### **III.1.1.4. Test de lactofermentation**

Lactofermentation est un test mis en œuvre en routine dans certaines filières, pour évaluer la valeur fromagère, Basé sur la coagulation de lait par floculation des protéines, ce test

permet de suivre le comportement de l'écosystème microbien du lait dans des conditions définies (temps, température).

➤ **Mode opératoire**

- Utilisé un tube stérile
- Prélevé aseptiquement 10 ml de lait à l'aide d'une micropipette
- Introduire dans le tube 10 ml de lait et 1 ml de bleu de méthylène, bien mélanger par retournement et non par agitation
- Incuber le tube dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

➤ **Expression des résultats**

- S'il y'a une décoloration (le mélange change de couleur de bleu vers le blanc) ; ce changement veut dire que le lait est contaminé
- S'il y'a pas une décoloration (le mélange garde toujours sa couleur bleu) ; se signifie que le lait est de bonne qualité microbiologique.

### **III.1.2. Les analyses microbiologiques de lait cru**

#### **III.1.2.1. Recherche des Germes aérobies à 30 °C**

La flore aérobie à 30 °C représente l'ensemble des microorganismes qui se développent en présence d'O<sub>2</sub>, cette flore peut comprendre des microorganismes pathogènes pour l'homme mais aussi des micro-organismes d'altération, leurs détections dans les aliments traduit une altération qui a amoindrit la qualité intrinsèque de la denrée (Goût, odeur, aspect) (Bonnefoy et al., 2002).

➤ **But**

Le dénombrement de ces germes à 30 °C reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel (Bonnefoy et al., 2002).

➤ **Mode opératoire**

- A partir des dilutions décimales allant de 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-5</sup> porter aseptiquement 1 ml dans chaque boîte de pétri vide préparée.
- Compléter ensuite avec environ 12 à 15 ml de gélose nutritif (GN)
- Faire un ensemencement en masse et Laisser solidifier sur la paillasse.

➤ **Incubation**

Les boîtes sont incubées couvercle en bas à 30 °C pendant 72 h.

➤ **Lecture**

Trois lectures sont réalisées à interval de 24 heures (24, 48 et 72 h). Les colonies des Germes mésophiles totaux « GAMT » se présentent sous forme lenticulaire en masse.

➤ **Dénombrement**

Selon JORA N°70 du 7 Novembre 2004, Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussée sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivants :

- Retenir pour comptage, les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies, utiliser si nécessaire la loupe à grossissement 1,5 au maximum
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions

➤ **Mode de calcul**

Selon JORA N°70 du novembre 2004

$$\text{Nombre/ml} = \frac{\text{nombre totale de colonie comptées}}{\text{volumeensemencé de l'échantillon}}$$

**NB** : Si les valeurs sont obtenues depuis une dilution décimale, multiplier par l'inverse de facteur de dilution (d).

$$\text{Ou} \quad = \frac{\sum c}{(n1+0,1n2)d}$$

Où :  $\sum c$  : somme totale des colonies comptées

n1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution

n2 : nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution

d : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

### **III.1.2.2. Recherche des coliformes fécaux**

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération, leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait, soit de la mal propreté du matériel de fabrication (Lasnami, 1986).

➤ **Mode opératoire**

- Leur recherche se fait en milieu solide sur gélose VRBG par la technique de double couche,

- à partir des dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ ), verser aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de pétrie vide
- Compléter avec environ 12 ml de gélose VRBG fondue.
- Faire ensuite, des mouvements circulaires et de va- et - vient en forme « 8 » pour bien mélanger le gélose et l'inoculum
- Laisser solidifier les boîtes sur la pailleuse puis couler à nouveau une couche fine environ 4 ml de gélose VRBG.

Cette couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations.

➤ **Incubation**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 44 °C pendant 24 à 48 h

➤ **Lecture**

Les coliformes fécaux apparaissent sous forme de petites colonies de couleur rouge cerise avec 5 mm de diamètre.

### **III.1.2.3. Recherche de *Staphylococcus aureus***

L'étude des *Staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur car ils sont les seuls à produire éventuellement une entérototoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Guiraud, 1998).

➤ **Mode opératoire**

- A partir des dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ ) transféré aseptiquement 1 ml d'échantillons à la surface de milieu Baird Parker coulé préalablement (2 boîtes pour chaque dilution)
- À l'aide d'un étaleur en verre (râteau)ensemencé la totalité de volume
- Attendre 15 minutes avant de placer les boîtes de pétri retournées dans une étuve à 37 °C pendant 24 à 48 heures

➤ **Lecture**

Les colonies caractéristiques : colonies noires, brillantes, convexes, entourés d'une zone transparente qui peut être translucide. Après 24 h peut apparaître dans cette zone transparente un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

Les colonies non caractéristiques : colonies noires brillantes, convexes ou gris noirâtre ayant parfois un aspect mat et une texture sèche, dépourvues de zone transparente (JORA N°70, 2004).

### **III.1.2.4. Recherche des Salmonelles**

La recherche de *Salmonella* et leur identification permet de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non (Leveau et Bouix., 1993), car les *Salmonelles* sont des agents des toxi-infections alimentaires en raison de leur fréquence (Ait Abdelouahab, 2008).

#### ➤ **Mode opératoire**

La recherche des Salmonelles comporte les étapes suivantes :

- Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide
- Enrichissement en milieu sélectif liquide
- Isolement

#### ➤ **Jour 1 : Pré-enrichissement**

Ensemencement de 1 ml de SM dans de l'eau peptonée tamponnée à la température ambiante puis incubé à 37 °C pendant 18 h

#### ➤ **Jour 2 : Enrichissement**

L'enrichissement doit s'effectuer sur le milieu sélectif à savoir :

- Le milieu de Sélénite - Cystéine (SFB).

L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir de milieu de pré

Enrichissement de la façon suivante :

- introduire 10 ml de milieu Sélénite cystéine dans un tube stérile.
- Ajouter 1 ml de milieu de pré-enrichissement
- Le tube de Sélénite-cystéiné (SFB) sera incubé à 37 °C pendant 24 h.

#### ➤ **Jour 3 : Isolement**

Le tube SFB sert pour l'isolement sur le milieu gélosé sélectif « Hektoen ou SS »

- Prélever 1 ml d'échantillon à partir du milieu d'enrichissement sélectif (SFB).
- Déposer au bord de la boîte et ensemençé à l'aide d'un étaleur en verre (râteau)
- incubés à 37 °C pendant 24 h.

➤ **Lecture**

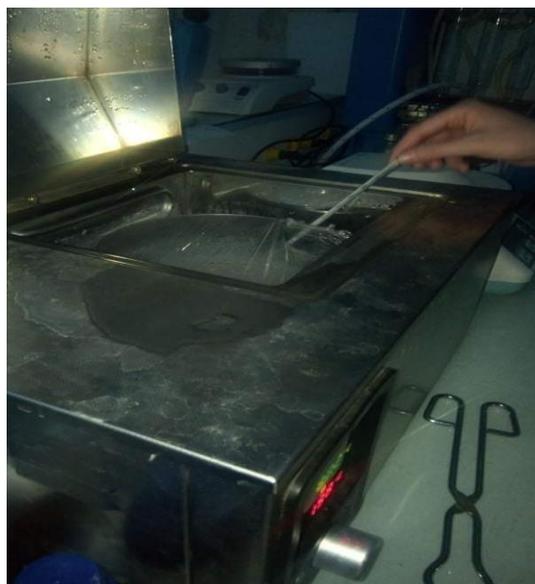
Les Salmonelles se présentent sous forme des colonies bleue verdâtres à centre noir Sur gélose Hektoen, et des colonies incolores avec ou sans centre noir sur milieu SS (*Salmonella shigella*)

- ✚ **Noter bien :** Les différentes analyses microbiologiques ont révélé une mauvaise qualité de lait cru destiner à la fabrication fromagère, ce qui nécessite une pasteurisation afin de réduire les taux des flores pathogènes.

**Qu'est-ce qu'une pasteurisation ?**

La pasteurisation est un traitement thermique modéré, qui entraîne une destruction de nombreuses formes végétatives des micro-organismes banaux et celle des tous les micro-organismes pathogènes (Guiraud, 1998).

Le lait de vache est chauffé dans un bain-marie jusqu'à une température de 72 °C pendant 15 secondes, avec un refroidissement immédiat à 6 °C



**Figure 5 :** La pasteurisation de lait cru dans bain marie à température (72 °C/ 15 s)

(Originale).

- ✚ **Noter bien** : Après pasteurisation de lait toutes les analyses microbiologiques précédentes sont à refaire pour confirmer l'efficacité de ce traitement sur la qualité de lait

## **III.2 La fabrication du fromage frais**

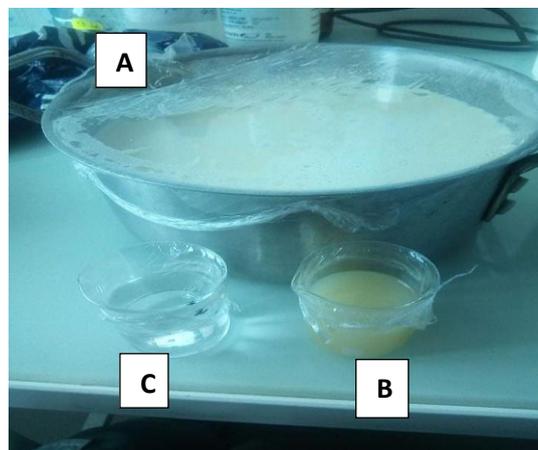
### **III.2.1. Protocole de fabrication**

A sa réception, le lait de vache subi immédiatement des analyses physico-chimiques et microbiologiques, une pasteurisation est réalisée après transfert du lait dans un récipient de deux litre (figure 5)

#### **III.2.1.1. Acidification du lait**

L'acidification du lait est réalisée par les bactéries lactiques qui se trouvent à l'origine dans le lait cru, Ces bactéries consomment le lactose pour produire de l'acide lactique.

Après pasteurisation, la flore autochtone est détruite, l'acidification est donc réalisée par l'ajout de deux pots de yaourts nature pour deux litres de lait avec un chauffage jusqu'à 45 °C, ainsi que 45 ml de jus de citron et 45 ml de vinaigre blanc en laissant reposer environ 30 minutes.



**Figure 6** : Etape d'acidification du lait cru. **A** : Lait pasteurisé, **B** : le jus de citron, **C** : le vinaigre blanc (Originale).

**III.2.1.2. Emprésurage**

L' emprésurage est réalisé avec 100 µl de présure : enzymes qui permet d'accéléré le processus de caillage sur un demi litre de lait, un chauffage jusqu'à 60 °C a été remplacé en raison de l'absence de présure

**III.2.1.3. Caillage de lait**

Pendant cette étape le lait se transforme en un gel lisse appelé coagulum (caillé) qui se sépare de petit lait (lactosérum) immédiatement après chauffage à 60 °C

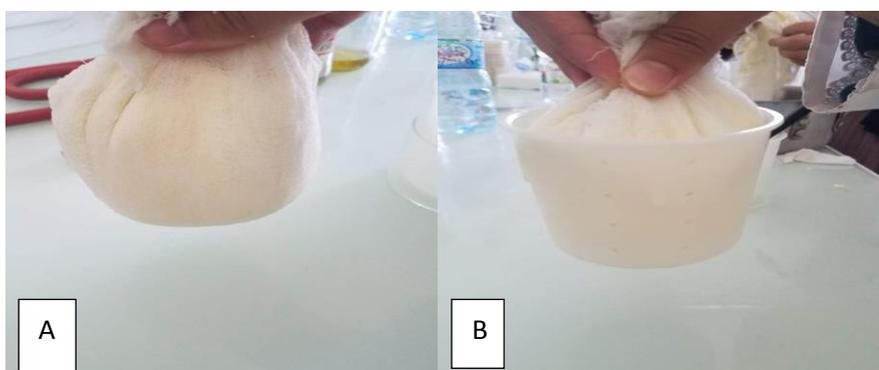


**Figure 7:** L'étape de caillage de lait (Originale).

**III.2.1.4. L'égouttage**

Le caillé est égoutté immédiatement après chauffage à l'aide d'une couche de gaz stérile pour l'évacuation le maximum de lactosérum, par la suite le fromage est moulé dans les fesselles perforées et laisser reposer au réfrigérateur pendant 2 h

Après 2 heures de repos, 2 ml de la crème liquide légère est rajouté par 150 g de fromage pour donner une texture onctueuse au fromage



**Figure 8 :** L'égouttage de fromage A : à l'aide des gaz stérile

**B :** moulage de fromage (Originale).

### III.2.1.5. L'enrichissement du fromage frais avec les graines de pin d'Alep

Après broyage, les graines de pin d'Alep sont ajoutées au fromage à raison de 3 g par 100 g de fromage frais, et à l'intérieur de la zone de stélisation de bec benzène, On a mélangé le tout avec une cuillère stérile.



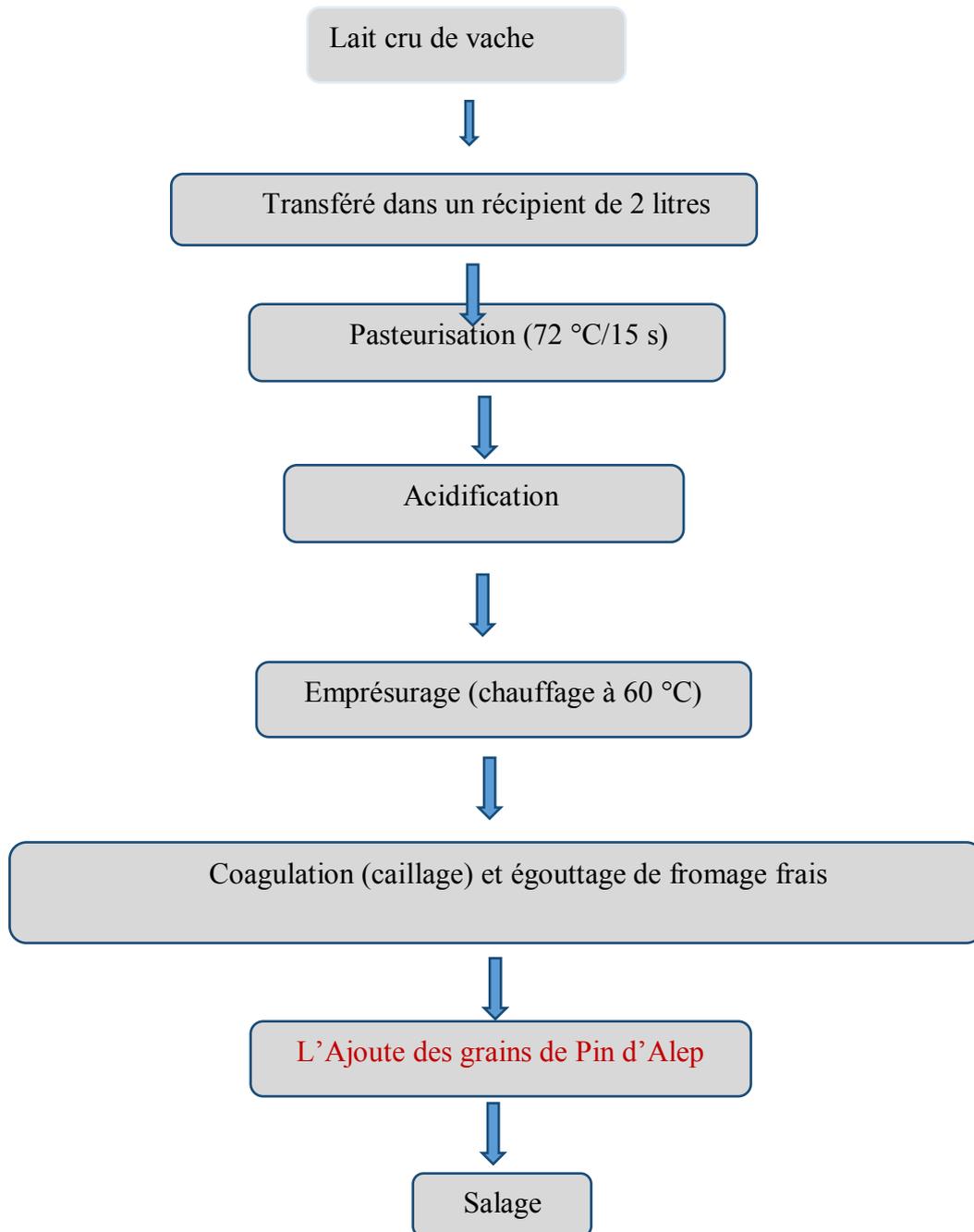
**Figure 9** : L'enrichissement du fromage frais avec les graines de pin d'Alep (Originale).

### III.2.1.6. Le salage

C'est une étape qui conditionne l'aspect, le goût et la conservation de fromage par diminution d'activité d'eau, cette étape s'effectue après les 1<sup>er</sup>s et 2<sup>eme</sup> retournements de fromage par saupoudrage à la main de sel fin alimentaire (salage à 1%).



**Figure 10** : Le salage du fromage frais après le 1<sup>er</sup> retournement (Originale).



### III.2.2. Les analyses microbiologiques de fromage frais après fabrication j0

#### III.2.2.1. Préparation des dilutions décimales

- La solution mère (SM) égale  $10^{-1}$  dont, nous introduisons aseptiquement 1 g de fromage à l'aide d'une spatule stérile dans un tube contenant 9 ml de l'eau physiologique (TSE) bien homogénéisé à l'aide d'un vortex.

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une micropipette 1ml de la SM dans un tube à vis contenant au préalable 9 ml de même diluant ; cette dilution est  $10^{-2}$  ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-5}$ .

A partir de cette série de dilution décimale, les analyses microbiologiques du fromage sont résumées dans le tableau VII

**Tableau VII:** les analyses microbiologiques du fromage frais j0

Flore	Milieu de culture	Ensemencement et incubation
<i>Staphylococcus aureus</i>	Isolement sur gélose Baird Parker.	Ensemencement de 1ml d'échantillon ( $10^{-2}, 10^{-3}$ ) en surface et incubation à 37 °C/ 24-48 h, (2 boîte de Pétri par dilution)
<i>Escherichia coli</i>	Gélose VRBG	Ensemencement de 1ml d'échantillon ( $10^{-2}, 10^{-3}$ ) en double couche et incubation à 44 °C/24-48, (2 boîtes de Pétri par dilution)
<i>Salmonelles</i>	- Pré-enrichissement dans l'eau peptonnée tamponnée - Enrichissement sur bouillon sélénite de sodium-cystine - Isolement sur gélose Hektoen et SS.	- transférer 1 ml de SM dans l'eau peptonnée tamponnée et incubé à 37 °C /18 h - transférer 1ml de solution de pré-enrichissement et incubé à 37 °C /24 h - Ensemencement 1 ml de solution d'enrichissement en surface et incubé à 37 °C / 24-48 h.

### III.3. La conservation du fromage frais enrichi avec les graines de pin d'Alep dans l'huile d'olive

L'huile d'olive utilisé dans cette étude est une huile vierge 100 % Bio Cette huile est choisie vue sa pureté et son faible taux d'acidité.

Suivant le protocole de fabrication, le fromage frais qui a été enrichi avec les graines du Pin d'Alep, doit être coupé en dés et immergé dans l'huile d'olive contenue dans des bocaux en verre stérile (50% huile / 50% fromage), Ces derniers sont étiquetés et conservés au réfrigérateur à 6 °C. Les analyses de fromage sont mises en surveillance après 3, 7,15, 21 jours.



**Figure 11** : Le marinade du fromage dans l'huile d'olive

### **III.4 les analyses de fromage frais**

#### **III.4.1. Les prélèvements**

Ces prélèvements sont pris au terme de la période de conservation dans l'huile d'olive (3, 7, 15,21 jours)

➤ **Mode opératoire**

- Un cube de fromage est prélevé aseptiquement, puis laissé s'égoutter, dont 1 g est homogénéisés dans 9 ml de tryptone- sel stérile (eau physiologique) à l'aide d'un vortex
- Une série de dilutions décimales est réalisées à partir de cette solution mère à fin d'effectuer le dénombrement des différentes flores.

#### **III.4.2. Les analyses microbiologiques de fromage frais**

Les analyses microbiologiques sont réalisées dans le but de s'assurer de l'absence d'une éventuelle contamination durant les différentes étapes de fabrication, et d'évaluer l'effet bio conservateur de l'huile d'olive sur le fromage frais.

A base de série des dilutions décimales réalisées, le dénombrement des différentes flores est indiqué dans le tableau IX

**Tableau VIII** : Les analyses de différentes flores de fromage frais.

Flore	Milieu	Incubation
<i>Escherichia coli</i>	Gélose GN	37 °C / 24-72 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker	37 °C / 24-48 h
<i>Salmonelles</i>	Gélose SS et Hektoen	37 °C /24-48 h

*Chapitre V*

*Résultat*

*Et*

*Discussion*

## I. Les Analyses de lait cru

### I.1. Résultats d'analyses physico-chimiques

Les différents résultats des analyses physicochimiques du lait de vache cru obtenus sont résumés dans le tableau IX.

**Tableau IX:** Résultats des analyses physico-chimiques du lait de vache cru

Lait	Lait cru	Normes
<b>Paramètre</b>		
<b>Acidité titrable</b>	33 °D	<18 °D (JORA, 1998).
<b>Matière sèche</b>	12%	12% (FAO, 1995).
<b>Lactofermentation</b>	Gel homogène avec décoloration totale.	Caillé homogène (Lemire, 2007), avec couleur bleu non dégradé (eyrard, 1943).
<b>Ebullition</b>	Aucune floculation	Aucune floculation (pien, 1971).

#### I.1.1. L'acidité titrable

La valeur moyenne de l'acidité titrable de lait cru analysé dépasse la norme « 18 °D » fixée par le JORA (1998), avec une valeur de « 33 °D » (tableau IX).

Selon Maiwore et al. (2018), cette acidité élevée serait due à une concentration microbienne importante apportée lors de la traite et à un manque de système de réfrigération car, lorsque le lait n'est pas refroidi immédiatement et que la température ambiante est élevée, il peut s'acidifier. Une acidité élevée obtenue serait due non seulement à l'activité des bactéries lactiques mais aussi par celle des autres microorganismes qui ont un pouvoir fermentaire élevé.

L'acidité du lait peut être un indicateur de la qualité du lait au moment de la livraison, elle permet d'apprécier la quantité d'acide produit par les bactéries ou les éventuelle fraudes (Aggad et al., 2009). Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Aggad et al. (2009) dans

l'ouest Algérien avec une valeur maximale de « 20 °D », et supérieur aussi aux valeurs obtenues par Bachtarzi et al. (2015) à Constantine (Est Algérien) avec une valeur maximale de « 20,5 °D ».

### **I.1.2. La matière sèche**

La teneur en matière sèche du lait cru analysée est de 12%, cette valeur est conforme à la norme fixé à 12% par la FAO (1995) (tableau IX).

La teneur en matière sèche du lait varie en fonction du stade de lactation. Ainsi, elle diminue durant le mois suivant le vêlage, puis augmente suite à l'accroissement de taux de matière grasse et azotée (Debouz et al., 2014).

Nos résultats Sont en accord avec ceux de Siddig et al. (2016), qui a enregistré une valeur similaire (12.69%) et proche de valeur trouvé par Siboukeur (2007) (11.3%) et ceux de Dhartiben et al. (2016) qui a enregistré une valeur de (12.76±0.29%).

### **I.1.3. La lactofermentation**

C'est un test intéressant pour détecter la présence des germes indésirables, il permet d'apprécier la qualité du lait à divers étapes (traite, conservation, fermentation et caillage).

Selon la norme fixé par Lemire (2007), l'aspect de notre résultat (figure 12) est classé dans la catégorie « B » nommé « gel homogène » qui représente des laits ayant probablement une légère présence d'éléments inhibiteurs de réaction enzymatique (trace d'antibiotiques, d'assainisseurs, de pesticide...). L'utilisation de ce type de produit est destiné pour le marché du « lait de consommation », les préparations culinaires et les produits de consommation « frais » (donc non adapté pour l'affinage de longue durée) car la stabilité de l'aliment transformé n'est pas garantie (possibilités de développement des germes indésirables).

Dans notre étude, le test de lactofermentation est associé, dans le même tube, à l'épreuve de la réductase (décoloration) du bleu de méthylène, pour confirmer les résultats obtenus par lactofermentation. Une décoloration totale est observée après incubation de l'échantillon à 37 °C/24 h, preuve d'une présence des germes indésirables.

Les germes présents dans le lait consomment l'oxygène dissout et le bleu de méthylène se décolore quand le milieu s'appauvrit en oxygène. Selon Eyrard (1943), les germes aérobies

mal adaptés au lait et les germes anaérobies strictes seront des faibles réducteurs, au contraire des anaérobies facultatifs. C'est-à-dire que les germes du groupe des entérobactériacées sont beaucoup plus réducteurs que les ferments lactiques vrais.



**Figure 12** : Résultats du test de lactofermentation et réductase du bleu de méthylène, **A** : avant incubation, **B** : après incubation (Originale).

#### **I.1.4. Le test d'ébullition**

Les résultats de l'ébullition du lait montrent une absence de floculation et de grumeaux.

Selon Pien (1971), ce test permet d'évaluer l'aptitude du lait à subir un traitement thermique sans déstabilisation. Un lait qui forme des grumeaux ne pourra pas supporter des températures nécessaires pour l'élimination des germes (pasteurisation).

#### **I.2. Les résultats d'analyses microbiologiques**

L'interprétation des résultats a été faite en les comparant aux valeurs définies par la réglementation Algérienne, norme fixée par le journal officiel (J.O.R.A.) N°39 du 2 juillet 2017 (Annexe 2).

Les résultats des analyses microbiologiques de lait analysés exprimés en UFC/mL sont présentés dans le tableau X.

**Tableau X** : La charge des différentes flores dénombrées dans le lait cru de vache  
(Annexe 2).

Flores	Lait	Lait cru	Limite microbiologique	
			m (UFC/mL)	M (UFC/mL)
Germes aérobies à 30 °C		8,5.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>6</sup>
Coliformes fécaux		2,8.10 <sup>5</sup>	5.10 <sup>2</sup>	5.10 <sup>3</sup>
Staphylococcus aureus		Absence	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Salmonella		Présence	Absence	

D'une manière globale, la qualité microbiologique de lait cru analysé peut être considérée comme non satisfaisante par comparaison à la norme JORA N°39/2017.

### I.2.1. Les germes aérobies à 30°C

L'énumération de la flore aérobie montre une contamination importante de lait cru avec un taux de (8,5.10<sup>6</sup> UFC/mL) (tableau X), cette valeur dépasse le seuil critique d'altération fixée par la norme Algérienne (J.O.R.A., 2017) à (3.10<sup>6</sup> UFC/mL), ce qui signifie que la qualité microbiologique de lait analysée est non satisfaisante en terme de germes aérobies.

La flore aérobie nous renseigne sur la qualité hygiénique de lait cru, c'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. Selon Ameur et al. (2011), en Algérie le lait cru présente un taux de contamination microbienne très élevé (entre 10<sup>5</sup> et 10<sup>7</sup> UFC/mL).

Nos résultats témoignent d'un manque de respect des bonnes pratiques de production au niveau de la traite et de la collecte de lait cru (Amhoury, 1998), ainsi que le non-respect de la chaîne de froid, des délais de livraison à la laiterie et le mal nettoyage de matériel en contact avec le lait qui devient propice à la formation des biofilms microbiens susceptible de contaminer le lait (Ameur et al., 2011). Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Bachtarzi et al. (2015) (28,8.10<sup>6</sup> UFC/mL) à Constantine et Labioui et al. (2009) avec (2,6 à 12.10<sup>6</sup> UFC/mL) au Maroc.



**Figure 13 :** Les résultats des germes aérobies à 30 °C sur milieu GN (originale)

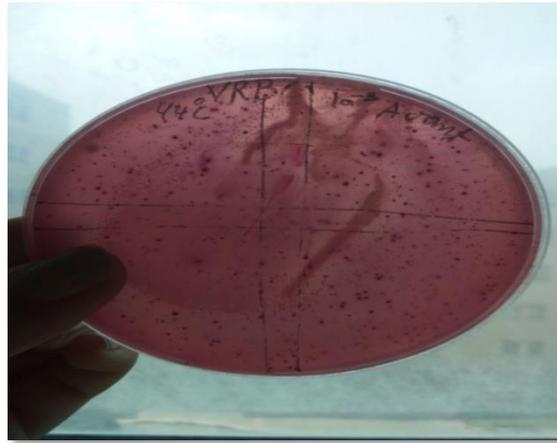
### I.2.2. Les coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes fécaux réalisées sur milieux VRBG, montre un taux relativement élevé ( $2,8 \cdot 10^5$  UFC/mL) (tableau X) en comparant avec la norme Algérienne fixée à ( $5 \cdot 10^3$  UFC/mL) (J.O.R.A., 2017).

La recherche des microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit, leur abondance dans le lait cru reflète une négligence des simples règles d'hygiène dans certaines exploitations au cours de la traite et de récolte du lait. Les principaux vecteurs des coliformes fécaux sont la peau des trayons souillée par les fèces et la non désinfection des mamelles avant la traite. En dehors de la source fécale, la contamination de lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *Escherichia coli* ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage, ils peuvent donc entraîner des toxi-infection alimentaires (Aggad et al., 2009).

Mocquot et Guittonneau. (1939), ont démontré que les souches appartenant à l'espèce *Escherichia coli* sont les plus fréquentes dans les excréments des vaches laitières, il contamine le lait par contact direct avec le pis.

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Afif et al. (2008) ( $2,1 \cdot 10^3$  UFC/mL) dans la région de Talda au Maroc, ils se rapprochent des résultats obtenus par Bachtarzi et al. (2015) ( $36,7 \cdot 10^4$  UFC/mL) à Constantine, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par Ounine et al. (2004) ( $1,99 \cdot 10^6$  UFC/mL) dans la région de Gharb au Maroc.



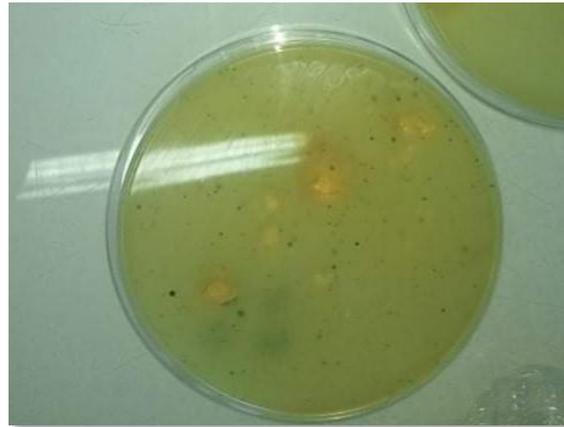
**Figure 14 :** Les résultats de dénombrement des coliformes fécaux sur milieu VRBG (originale).

### I.2.3. *Staphylococcus aureus*

Répondant aux exigences de la réglementation Algérienne (J.O.R.A, 2017) sur le choix des colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* (colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente), le lait cru analysé ne contient pas de *Staphylococcus aureus*, Par contre d'autres *Staphylocoques* sont présentes avec un taux de  $1,9.10^3$  UFC/mL, c'est des colonies dite « non caractéristiques » (colonies noires avec un aspect mat et une texture sèche) (figure 15).

La recherche de *Staphylococcus aureus* permet de prévoir si l'aliment présente un risque pour le consommateur car ils peuvent produire des entérotoxines, cause d'intoxication alimentaire (Aggad, 2009).

Selon Grillet et al. (2006), la présence des *Staphylocoques* dans le lait cru se traduit par une contamination endogène causé par une vache atteinte d'une mammite non détectée ou porteuse sain d'une autre maladie, mais aussi par une contamination exogène issu de la non propreté des personelles de la traite. Nos résultats sont en accord avec ceux de Afif et al. (2008) ( $0,8$  à  $5.10^3$  UFC/mL) dans la région de Talda au Maroc, ils sont inférieurs à ceux obtenus par Bachtarzi et al. (2015) ( $37,5.10^2$  UFC/mL) à Constantine, mais restent largement inférieurs à ceux obtenus par Mennane et al. (2007) ( $1,2.10^6$  UFC/mL) au Maroc.



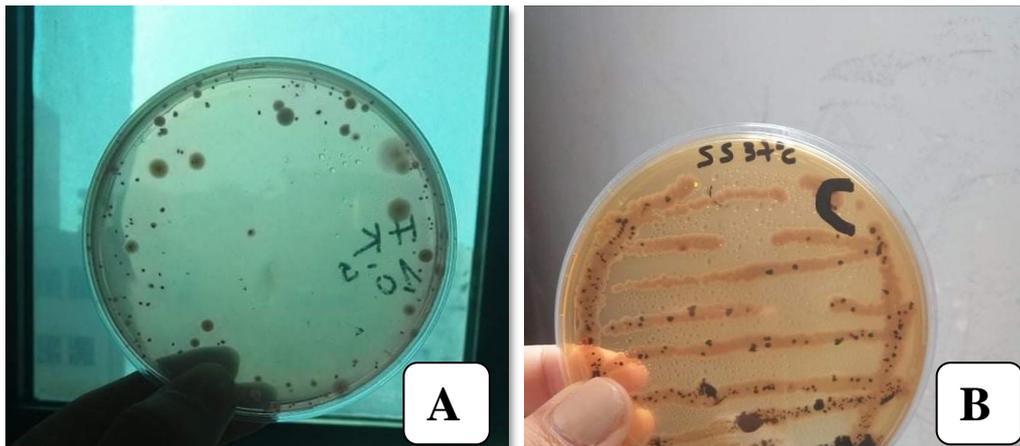
**Figure 15 :** Les résultats de dénombrements des *Staphylocoques* sur milieu Baird Parker (Originale).

#### **I.2.4. Les Salmonelles**

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène a montré une contamination après isolement sur milieu SS (colonies noires) et sur Hektoen (colonies bleu vertes) (figure 16). De ce fait, l'analyse ne respecte pas la norme Algérienne (J.O.R.A., 2017) qui exige une absence totale des salmonelles.

La recherche de la contamination aux Salmonelles dans les aliments destinés à la consommation humaine revêt une importance toute particulière en raison de l'ubiquité du germe causal et la fréquence des processus morbides qu'il provoquent (intoxication ou maladies spécifiques) (Farkhondeh et al., 1974).

Selon Maïworé et al. (2018), la principale source de contamination serait l'excrétion fécale, par la dissémination des bactéries dans l'environnement, puis la contamination de la peau des mamelles, du matériel de la traite et enfin le passage dans le lait. Nos résultats sont contradictoires avec ceux de Mennane et al. (2007) au Maroc et ceux de Souaibou et al. (2009) au Bénin avec une absence totale des salmonelles dans les échantillons de lait analysés.



**Figure 16 :** Les résultats de l'isolement des salmonelles, A : sur milieu Hektoen, B : sur milieu SS (Originale).

Afin de réduire le taux de la flore totale du lait qui surpasse la norme algérienne, JORA n°39 (2017), une pasteurisation a été mise en place. La pasteurisation réduit au maximum les activités biologiques d'un produit tout en évitant de modifier ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles. Un barème de (72 °C/15 s) est choisie pour traiter 2 litres de lait cru de vache dans un bain marie.

### I.3. Effet de la pasteurisation sur la qualité microbiologique du lait

**Tableau XI :** La charge des différentes flores dénombrées dans le lait de vache pasteurisé.

Flores	Lait	Lait pasteurisé	Limite microbiologique	
			m (UFC/mL)	M (UFC/mL)
Germes aérobies à 30 °C		Abs	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes fécaux		Abs	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>		Abs	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i>		Abs	Absence	

Abs : absence

Les résultats obtenus après pasteurisation (tableau XI) ont révélé une absence totale des groupes indicateurs d'hygiène (germes aérobies et coliformes fécaux).

Pour la flore aérobie nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus au Burkina Faso, cité par Sissao et al. (2015) avec ( $18.10^3$  UFC/mL). Ils sont en accord avec ceux apportés par Aggad et al. (2009) dans l'Ouest algérien par l'absence totale des coliformes fécaux dans le lait pasteurisé.

L'analyse microbiologique des groupes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Salmonella*) n'a pas montré une contamination, ce qui est conforme à la réglementation Algérienne (JORA N°39, 2017). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sissao et al. (2015) au Burkina Faso.

Ces résultats montrent l'efficacité du barème de pasteurisation (temps/température) qui permet d'éliminer les germes indésirables dans le lait cru et prouve aussi leur caractère thermosensible. Pour cela le lait obtenu après pasteurisation est un lait propre à la consommation et peut être utilisé dans la fabrication fromagère.

## **II. Analyse de fromage frais**

Les analyses microbiologiques du fromage frais ont été réalisées à J0 (jour 0, après le démoulage). Cela est nécessaire afin d'estimer le taux initial des flores microbiennes présente au stade de fabrication, avant de procéder à la conservation dans l'huile d'olive vierge.

### **II.1. Résultats des analyses microbiologiques du fromage frais enrichi avec les graines de pin d'Alep fabriqués à J0**

L'analyse microbiologique de fromage frais (figure 17), a révélé une absence totale de l'ensemble de germes recherchés (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*). La qualité est donc considéré comme satisfaisante.

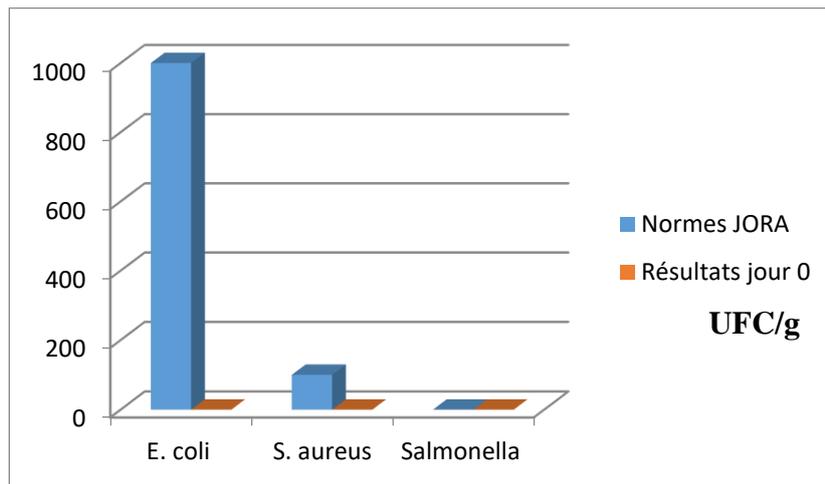


Figure 17 : Les résultats obtenus après analyses microbiologiques du fromage et comparaison à la norme Algérienne (JORA N°39, 2017).

## II.2. Suivi de la qualité microbiologique du fromage frais mariné dans l’huile d’olive vierge lors de la période de conservation

Le fromage frais est directement mariné dans l’huile d’olive vierge, le suivi des conditions de conservation (dans des bocaux en verre (figure 11, page 38) au réfrigérateur à 6 °C) à été réalisé pendant 21 jours (tableau XII).

Tableau XII : Résultats des analyses microbiologiques de fromage frais mariné dans l’huile d’olive vierge pendant 21 jours de conservation à 6 °C.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>
<b>J3</b>	Abs	Abs	Abs
<b>J7</b>	Abs	Abs	Abs
<b>J15</b>	Abs	Abs	Abs
<b>J21</b>	Abs	Abs	Abs
<b>Norme JORA</b>	<b>m : 10<sup>2</sup> UFC/g</b>	<b>m : 10 UFC/g</b>	<b>Absence dans</b>
<b>N°39 (2017)</b>	<b>M : 10<sup>3</sup> UFC/g</b>	<b>M : 10<sup>2</sup> UFC/g</b>	<b>25g</b>

**II.2.1. *Escherichia coli* :**

Les résultats de dénombrement obtenus sur le milieu VRBG ont révélé une absence totale d'*Escherichia coli* tout au long de la période de la marinade du fromage frais dans l'huile d'olive vierge (tableau XII). Ces valeurs sont inférieures au seuil critique d'altération ( $10^3$  UFC/g) fixé par le JORA N°39, (2017). La marinade de fromage présente donc une bonne qualité hygiénique, qui serait le résultat du traitement thermique subit (pasteurisation) et des bonnes conditions d'hygiène lors de sa fabrication.

L'absence des coliformes dans les marinades lors de la conservation pourrait être due à l'activité antimicrobienne des graines de pin d'Alep utilisés. En effet, des extraits des graines de pin d'Alep testées par Salim et al. (2018), ont révélé un pourcentage d'inhibition de 20 à 80% pour *Escherichia coli*.

La marinade dans l'huile d'olive assure une bonne protection et bonne conservation microbiologiques du fromage frais contre les germes indésirables. Selon Furneri et al. (2004), le fruit et les feuilles de l'olivier (*Olea europaea L.*) contiennent des composés phénoliques responsables des mécanismes chimiques de défense contre les attaques de microbes et d'insectes. Les résultats de Medina et al. (2006), ont montré une activité bactéricide vis à vis d'*Escherichia coli*.

**II.2.2. *Staphylococcus aureus***

Le suivi de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Baird Parker a montré une absence totale de ce germe pathogène durant toute la période de conservation (tableau XII). Ces valeurs sont inférieures aux limites maximales ( $10^2$  UFC/g) établie par le JORA N°39, (2017).

Selon Salim et al. (2018), l'activité antimicrobienne des extraits des graines de pin d'Alep, testé pour l'élimination de *Staphylococcus aureus* a montré un pourcentage de 20 à 95% d'inhibition.

Selon Bisignano et al. (1999), les polyphénols d'olive présente une haute activité contre *Staphylococcus aureus*, qui est un microorganisme largement étudié en raison de sa capacité à produire des entérotoxines et sa résistance exceptionnelle aux composés phénoliques naturels. Furneri et al. (2004), ont montré la bonne activité antimicrobienne des composés phénoliques (oleuropéine et hydroxytyrosol) contre *Staphylococcus aureus*. Les

résultats in vitro de Medina et al. (2006), ont révélé que *Staphylococcus aureus* ne peut pas survivre après une heure de contact avec les huiles d'olive. Ainsi Obied et al. (2007), ont observé des diamètres d'inhibition de 20 mm sur *Staphylococcus aureus*, indiquant la grande sensibilité de cette souche vis-à-vis des composés phénoliques contenant dans l'huile d'olive.

D'après Amarti et al. (2008), les composées phénoliques de l'huile d'olive peuvent causer des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassium, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires.

### **II.2.3. *Salmonella***

Suite à leur élimination par la pasteurisation, aucune Salmonelle n'a été détractée durant toute la période de conservation (tableau XII), ce qui est conforme à la norme établie par le JORA N°39, (2017). Cette absence est la résultante d'un traitement thermique efficace, du respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de fabrication fromagère et de l'effet antibactérienne exercée en présence des graines de pin d'Alep dans la composition du fromage.

Furneri et al. (2004), ont démontré une bonne activité antimicrobienne de composés phénoliques (oleuropéine et hydroxytyrosol) contenant dans l'huile d'olive contre des souches bactériennes de *Salmonella sp.* Les résultats de Medina et al. (2006), ont révélé que l'espèce *Salmonella enterica* ne peut pas survivre après une heure de contact avec les huiles d'olive.

# *Conclusion*

### Conclusion

A travers cette étude, nous avons pu évaluer le degré de contamination d'un fromage frais, fabriqué à base des graines de pin d'Alep mariné dans l'huile d'olive vierge, dont le but est de mettre en évidence l'effet antimicrobien et protecteur exercé en présence des graines de pin d'Alep et la marinade d'huile d'olive vierge.

L'étude des caractéristiques physicochimiques du lait cru de vache destinée à la fabrication fromagère n'était pas satisfaisante pour l'acidité titrable (33 °D) et pour le test de lactofermentation additionné de réductase du bleu de méthylène, ce qui favorise la prolifération des germes et l'altération de la qualité du lait. Les résultats obtenus dans l'étude microbiologique confirment cette altération, dont la charge moyenne des germes aérobies, coliformes fécaux, staphylocoques est respectivement  $8,5.10^6$  UFC/mL,  $2,8.10^5$  UFC/mL,  $1,9.10^3$  UFC/mL, avec une présence des salmonelles.

A l'issu de ces résultats la fabrication d'un fromage frais au lait pasteurisé a été réaliser. Le lait utilisé pasteurisé et analyser, s'avère de qualité conforme aux normes Algériennes par une absence totale des germes aérobies, coliformes fécaux, Staphylocoques et Salmonelles.

Le fromage frais enrichi avec les graines de pin d'Alep est mariné dans l'huile d'olive vierge avec un suivi des conditions de conservation sur une période de 21 jours. L'effet antimicrobien et bioconservateur des graines du pin d'Alep et de l'huile d'olive vierge, est observés le long de cette période, montrés par les résultats des analyses microbiologiques effectués régulièrement qui ont révélé une absence totale des germes recherché (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*).

En perspective, il serait intéressant de compléter ce travail avec d'autres études afin d'améliorer la compréhension de la nature des molécules responsables de l'effet antimicrobien et conservateur, qui se trouvent dans la composition des graines de pin d'Alep et dans l'huile d'olive vierge. Ainsi améliorer la durée et les conditions de conservation des fromages frais via l'enrichissement et la marinade avec d'autres ressources phytogéniques.

*Références*  
*Bibliographique*

## Références bibliographiques

- Afif, M. Faïd et M. Najimi(2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Review in Biology and Biotechnology Bioalliance Canada -Maroco*, 7(1).p 2-7.
- AFNOR. (1993). Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers: analyses physicochimiques .Paris , 4<sup>e</sup> éd. p581.
- AFNOR. (1986). Association française de Normalisation.
- Aggad .H, Mahouz, F, AHMED Ammar, Y, KIHAL, M. (2009). Evolution de qualité hygiénique du lait dans l'OUEST Algérien.
- Ait Abdelouahab,(2008). Microbiologie alimentaire 3<sup>ème</sup> édition Ben aknoun (Alger) .p 22.
- Alais C ,Linden G., (1997). Abrégé de biochimie Alimentaire. (Masson, Éd.).p248.
- Alais c et al ., (1997). Abrégé biochimie alimentaire.Masson. Paris.p 168.
- Amarti et al ., (2008). composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *thymus copitatus* et de *thymus bleicherianus* du Maroc phtothérapie. 6 .p 342-347.
- Ameur Abderrahmane, Rahal. Karim, Bouyoucef Abdallah. (2011). Evaluation du nettoyage des Franks réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha. *Revue nature et biotechnologie*, N 6. p 80-84.
- Amhourri. F, Saidi. A, Hamama. M,Zahar. (1998). Qualité microbiologique du lait cru cas de la région d'Errachidia. 18(1). p 31-35.
- Arref M et al ., (2015). contribution à l'étude phytochimique, les avtivités biologiques ( Antioxydantes et antibactérienne) d'une plante médicinale . 59.
- Attia H et al ., (2000). Acidification chimique directe du lait ,corrélation entre la mobilité de matériel micellaire et micro et macrostructure des laits acidfies. *science des aliments*, 20. p289-307.
- Bachitarzi. N, Leila Amourache et Gamra Dehkal. (2015). Qualité du lait cru destiné à la fabrication d'un fromage à pâte molle type cammbert dans un laitrie de Constantine (Est Algerien). *international journal of innovation and scientific research*, 17(1).p34-42.
- Badis A et al ., (2005). Caractérisation phynotypique des bacteries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales" Arabia et Kabyles". *science et technique*, 23.p 30-37.
- Baker M,Picard J.F,Timbal J., (1982). larousse des arbres ,des arbustes et des arbrisseaux de l'Europe occidentale. Dans G. Germain, & larousse (Éd.), *larousse des arbres, arbustes* (p. 330). Paris.
- Bennefoy et al ., (2002). microbiologie et qualité dans ls industries agro-alimentaire aquitaine Doine,Paris . p248.

- Bentouati A et Bariteau M., (2005). une sylviculture pour le pin d'Alep des Aurès ( Algérie). (4).p 315-321.
- Bentouati A , (2006). croissance , productivité et aménagement des forêts de pin d'Alep dumassif d'ouled yagoub. p116.
- Berroukche, A., Amara, S., Halimi, S., Benyamina, F. (2014). Evaluation of the leave and bud decoctions *Pinus halepensis mill* effects on the induced-phenol renal toxicity in wistar rats. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*,6(2),197-207.
- Bisignano et al ., (1999). in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *journal of pharmacy and pharmacology*, 51.p971-974.
- Bobbou A-S, (2016). Contribution à l'étude d'inventaire de peuplement de Pin d'Alep de la forêt de Sig ( foret de Moulay Ismail). tlemcen.p55.
- Boullard, ( 2001). plantes médicinales du monde croyance et réalité. (Stem, Éd.).p 638.
- Bourgeois CM, Larpent JP., (1996). Microbiologie Alimentaire. Ed: Tec et Doc.,Lavoisier.Paris.p 523.
- Boutchiche F, Boutrige E.,(2016). Caractérisation morphologique de la chenille processionnaire (*Thaumetopopoeapithyocompa*) et son hôte au niveau de wilaya de Tlemcen,Univ Tlemcen. p79.
- Brenes et al ., (2006). antimicrobial activity of olive oil. *Agro food industry hi-tech*, 18, 6-8.
- Brulé G et al ., (1997). la micelle de caséine et la coagulationdu lait in le fromage.3 ème.p 7-41.
- C.O.I. (2003). *classification des huiles d'olive Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grigon d'olive*. Récupéré sur <http://www.internationaloliveoil.org/>.
- C.O.I. (2015). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux gigons d'olive .
- C.O.I. (2019). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux gigons d'olive .
- Carole L ,Vignola., (2002). science et technologie du lait ,transformation du lait. *presses internationales polytechnique*.Canada.p54-55.
- Chahed A, (2007). Prévalence et caractérisation de souches d'*Escherichia coli* O157 productrices des shigatoxines Isolées de denrée alimentaire d'origine Animal. 19(181). p25-29.
- Charbonier,(1985, 12 1). Recenti acquisizioni sul Valor Biologies dell'olio di oliva in francia. *congr national diteopia Roma (italie) 8*.
- Challot, A. (1992). Introduction du thème"Incendie"des journées pin d'Alep. Forêt méditerranéenne.
- Cheikh Rouhou et al ., (2006). chemical composition and lipid fraction characteristics of Aleppo pine (*Pinus halpensis*) seeds cultivated in tunisia. *Food science and technology international*, 12(5).p 407-415.

- Ciafardini G, et Zullo B.A. (2002a). Microbiological activity in stored olive oil, international journal of Food microbiology,75.111-118.
- Ciafardini G, et Zullo B.A. (2002b). Survival of micro-organisms in extra Virgin olive oil during Storage international journal of Food microbiology, 19,105-109.
- Ciceral S., Lucas I.J. et Keast R.S. (2012). antimicrobia, antioxdant and anti inflamatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *carrent opinion in biotechnolgy*, 23(2).p 129-135.
- Cuq J.L, (2007). Microbiologie Alimentaire.Ed. Science et techniques du langue .Doc univ de Montpllier.p 20-25.
- Dalgleish D.G , (1997). the enzymatic coagulation of milk. *Advanced in Dairy chemistry proteins*.Ed.PF,Fox-blachies AN SON LTD,Scotland.
- Debouz et al ., (2014). Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et de lait camelin dans la wilaya de Ghardaia. *Revue El waahat pour recherche et les études*, 7(2).
- Deforge J et al ., (1999). maitrise de la chaine du froid des produits laitiers réfrigérés. Ed.Tec et Doc.Paris.
- Djerrad, Kadik L , Djouahri A., (2015). chemical variability and antioxydant activities among *Pinus halpensis Mill*. Essentialoils provenances, depending on géographic variation and environmental conditions. *industrial crops and products*, 74(127).p440-449.
- Dosson J et al ., (2006). production et transformation du lait frais en fromage peulh au Benin guide de bonne pratique ,manuel de transformation du lait. p330.
- Eyrard. A, Mlle S. (1943). l'epreuve de la réductase dans le contrôle de la qualité des laits pasteurisés. (INRA, Éd.) 23(229-230).p295-303.
- F.A.O. (1995). Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine.organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture , Rome.
- F.A.O, (2001). *Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles- Annexe IV ,projet de nomre pour les huiles d'olive et les huiles de grigons d'olive*. Récupéré sur Archive de document de la FAO: <http://www.F.A.O.org>
- Fady B, Semerci H et Vendramin GC, ( 2003). Euforgen technical Guide line for genetic conservation and use for Aleppo Pine and Brutia pine. *European forest genetic resources programme*.p 1-6.
- Farkhondeh. A, R. Ghazvinian, Ph.Lachal. (1974). contamination par les *Salmonnella* du fromage Iranien frais non salé mise en vente dans la région de Téhèren. (INRA, Éd.) 54(535-536).p 302-304.
- Fekih N.,(2014). propietés chimiques etbiologiques des huiles essentielles de trois especes du genre pinus poussant en Algerie. (ASJP, Éd.) *journal PhytoChem et BioSub*, 10(3), 59-88.
- Furneri et al ., (2004). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol antimicrobial Agents and chemotherapy. 48(12).p 4892-4894.

- Gaforio JJ, Visioli F, Alarcon-de-la-Lastra C, et al. (2018). Huile d'olive vierge et santé : résumé de la IIIe Conférence internationale sur l'huile d'olive et le rapport de consensus sur la santé, JAEN (Espagne). *Nutriments*.11(9):2039.
- Gastaldi- Bouabid D E., (1994). étude de l'évolution des micelles de caséine au cours de l'acidification mise en évidence un état de transition entre pu 5.5 et ph 5. thèse Doctorat Académie de Montpellier univ de Montpellier II.
- Get,(2002). transformation de produits laitiers frais. (ducagire, Éd.) .p232.
- Ghadira, k. (2008). l'olivier phytothérapie. *6*(2).p 83-89.
- Gillis JC ,ECK., (2006). le fromage. *lavoisier 3ème éd*, 874.
- Gillet N; Grimaud P; Loiseau G; Wesuta M. et Faya B. (2006). Revue Elev.Méd. Vét.Pays;58(4):245-255.Sanitary Quality in the Raw Milk Subsector in Uganda. Qualité sanitaire du lait cru tout au long de la filière dans le district de Mbarara et la ville de Kampala en Ouganda.p251-525.
- Guezal P, (1986). Les pin du groupe halpensis ecologie,végétation écophysiologie.CIHEAM, *option méditerranéennes: série etudes;n.19864*.p11-23.
- Guiraud. (2003). microbiologie alimentaire . *Tec et Doc Dunod paris*, 90-92.
- Guiraud J.P (2003). Microbiologie Alimentaire. (DUNOD, Éd.) .p136-139.
- Guiraud J.P, (1998). microbiologie alimentaire microbiologie des principaux produits laitiers. (DUNOD, Éd.) .p 652.
- Guiraud J.P, (1998). microbiologie alimentaire microbiologie.Paris: Dunod.p561.
- Hamad, S., Hamroun, M. (2017). Etude ethnobotanique des plantes médicinales anti hypertensive auprès des herboristes et guérisseurs de la ville de Tizi Ouzou et Fréha (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Hayaloglu et Farkye., (2011). cheese with added herbs, spices and condiments.
- Hermier J et al .,(1992). les groupes microbes d'intérêt laitier.Ed CEPIL.Paris.p 559.
- Jacalot B, (1997). intérêt nutritionnel de la consommation de 1<sup>er</sup> huile d'olive. *OCL*. 4(5).p 373-4.
- Jean et Dijon.,(1993). au fil du lait ISBN. 21-172.
- Jeantet R et al .,(2008). science des aliments technologie des produits Alimentaires .paris.
- Jihen Missaoui, Dalila Saidane, Ridha Mzoughi and Fabio Minervini. (2019). Fermented seeds ( zougou) from Aleppo pin as a Novel source of Potentially probiotic lactic Acide bacteria. *microorganisms multidisciplinary Digital Publishing Institute ( MDPI)*, 7(12).p709.
- JORA. (1998). Arrêté interministériel du 25 janvier relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. *Ministère du commerce*.

- Kabouya I, (2021). L'Algérie veut acquérir des avions bombardiers d'eau pour lutter contre les incendies, Banque d'Algérie. <https://www.aps.dz/economie/122231-l-algerie-veut-acquerir-des-avions-bombardiers-d-eau-pour-lutter-contre-les-incendies> .
- Kacimi El Hassani,(2015). La dépendance alimentaire en Algérie: importation de lait en poudre versus production local.Quelle évolution méditerranéen. *Journal of social science*, 4(11).p 152-158.
- Kadik B, (1987). contribution à l'étude du pin d'Alep ( *Pinus halpensis Mill*) en Algerie.Ecologie dendrométrie, morphologie. (OPU, Éd.).p580.
- kadri N et al ., (2013). analysis of polar lipid fraction pf pinus halpensis Mill, seeds from North Algeria. *Industriel corps and products*, 51.p 116-122.
- Kadri N et al ., (2014). antiangeogenicactivity of natural lipids, glycolipids and phospholipids fraction of *Pinus halpensis Mill*, seeds. *Industriel corps and products*.p54-56.
- Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfella, S., Sobhi, W., and Barragan-Montero,V. (2015). some physico chemical characteristics of pinus ( *Pinus halpensis*, *pinus pinaster*, and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria,their lipid profils and volatile content. *j.foodchem*.2015.04.138.p184-192.
- Kalua C. M., Allenm S, et Bedgood J.R. (2006). olive oil volatile compound flavordevelopment and quality. *Food cemistry*, 54(20) .p1-12.
- Kizilarvlan C, Sevgi E., (2013). Ethnobotanical uses of genus *pinus L* ( Pinaceae) in turkey, Indian. *indian journal of traditional knowledg*, 12(2).p 209-220.
- la Grander R., Biddle R., Krohn R.L. (2003). the cheese wedge centre for diary research. 3(1).p2-4.
- Labioui, E. Laaroui, A. Benzakour, M. El Yachioui, E. Berny et M. Ouhssine. (2009). Etude physico-chimique et microbiologique de lait crus. *Bull,Soc,pharma*.p7-16.
- Ladjal S., (2012). activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep ( *Pinus halepensis*) de la région de M'sila.p76.
- Lahouati R, (2000). Expérience desplantations en climat Aride, cas de la ceinture verte en Algerie, Direction Générale des forêts,Ministère de l'agriculture.Alger.
- Larpen JP, (1997). Mémento technique de microbiologie 3 ème Ed. *technique et documentation Lavoisier.paris*.p910.
- Lasnami K, (1986). Le dromadaire en Algérie, perspectives d'avoire.Master.INA el harrache,Alger.
- lemire,(2007). organisation : club d'encadrement technique lait biologique l'ENVOL du bas - saint laurent et côte du sud.
- Leveau et Boui X., (1993). microbiologie industrielle :les microorganismes d'interêt industriel TEC et DOC. (p. Lavoisier, Éd.) .p 612.
- Luquet F-M, (1990). lait et produit laitiers vache, brebis et chèvre Tom 2 : les produits laitiers transformation et technologie.Ed. Tec et Doc.Lavoisier.Paris.p 637.

- Maester f.t, Cortina J., (2004). Insights into ecosystem composition and function in a sequence of degraded semi arid steppes , *Restoration Ecology*. (12).p 494-502.
- Mahaut M et al ., (2003). initiation à la technologie fromagère. *technique et Documentation Lavoisier* .p24-102.
- Mahaut M et al .,(2000). Initiation à la technologie fromagère.Ed Tec et Doc. *Lavoisier*.paris.p 194.
- Mahnoune et Ferhoul., (2015). contrôled la preprété hygienique de lait de vache cru avec application de la préparation de fromage frais "petit suisse" . 18.
- Maiworé Justine, Marie-Paul Baane, Alhadji Toudjani Amadou. (2018). influence des conditions de la traite sur les qualité physico-chimiques et microbiologiques du lait cru collecté à Maroua, Cameroun. *Afrique science*, 14(4).p 235-248.
- Mayo, B., Rodriguez, J., Vazquez, L., et Florez, AB. (2021). Microbial interaction with in the cheese Ecosystem and their Application to improve. *Quality and safety foods*, 10(3).p 602.
- Meddour, O., Meddour, R., et Derridj, A. (2010). Les Facteurs favorables aux incendies de forêts en région méditerranéenne. *Revue campus*, p 4-12.
- Medina et al ., (2006). Phenolic compounds in olive oil and other plant oils correlation with antimicrobial activity. *journal of Agricultural and food chmistry*, 54(4).p 4954-4961.
- Mennane. Z, Ouhssine. M, Khedid. K et Elyachioui. M. (2007). Hygienic quality of raw caws milk feeding from waste in two regions in Maroco. *international journal of agriculture and biology*, 9(1).p 46-48.
- Mezali M, (2003). rapport surle secteur forestier en Algerie. *3 ème session du forum des notions unis sur les forêts*.p 9.
- Minor T E et Marth E.H., (1976). staphylococci and their significance in foods. *Elsevier scientific publishing co Amesterdam*.p 297.
- Mocquot G.et Guittonneau G. (1939). Recherche sur pasteurisationdes laits de consommation sur la colimetric appliquée aux contrôle de la pasteurisation des laits et des laitspasteurisés.N 182.p 144-139.
- Nahal I., (1962). étude taxonomique phytogéographique écologique et sylvocole de l'école nationale des eaux et forêts. *19(4)*.p533-627.
- Nahal I., (1986). taxonomie et aire géographique des pins u group halpensis.in option méditerranéennes,série etude CIHEAM 86/ 1.Le Pin d'Alep et le *Pin brutia* dans la sylviculture méditerranéenne.p1-9.
- Nouad G, (2004). l'huile d'olive un créneau pour l'exportation PME. *Magazine*, 23.p 20-21.
- Obied H. K., Bedgood D. R., Prenzler P.D. and Robards, K. (2007). Bioscreening of Australian olive mill waste extracts biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and chemical toxicology*, 45.p1238-1248.
- Ouaouicha A et Chimi H., (2007). Guide du production de l'huile d'olive. (ONUDDL, Éd.) .p36.

- Ounine K., Rhoutaïsse A. et El Haloui N.E. (2004). Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étalles de la région du Gharb Al Awamia. p187-204.
- Owusu-Kwarteng, Fortune Akabanda, Dominic Agyei, et Lene Jespersen. (2020). Microbial Safety of Milk production and fermented Dairy products in Africa. *Microorganisms*, 8(5).p752.
- Pien J, (1971). Définition et contrôle du lait stérilisé. (INRA, Éd.) 51(503-504).p 176-202.
- Psyllakis N., Mirros L., et kiritsakis A. (1980). caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive et les facteurs qui influent sur ces caractéristique olivea. 20.p 553-565.
- Ramet J. P, (1985). la fromagerie et les variétés de fromage du bassin méditerranéens. (é. FAO, Éd.).Production et Santé Animal .p187.
- Ramet J. P., (1997). la préparation du caillé ; la présure et les enzymes coagulantes. (Lavoisier, Éd.) .p101-107.
- Rehab A, Hussein and Amira A, El-Anssary. (2018). plants secondary Metabolites:the key Drivers of the pharmacological actions of Medecinal plants.
- Roissard H. B et Luquet FM " Bactéries lactiques, I, II ". Loriga Chemin saint Georges, F-38410 France.
- Ross P *et al* .,(2002). Preservation and Fermentation: present and future. Int. J. Food. Microbiol. 79. Pp 3 – 16.
- Salim *et al* ., (2018). phytochemical Analysis and antibacterial activity of extracts from Palestinian Aleppo pin seeds Barkand cones. *Asian journal of chemistry*, 31(3).p143-147.
- Siboukeur, O. (2007). etude du lait camelin collecte localement caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques aptitudes à la coagulation . *institut nationalAgronomique El -Harrach ALGER*.
- Siddig *et al* ., (2016). Quality characteristics of white cheese ( jbena-beida) produced using camel, milk and mixture of camel milk and cow milk. *international journal of food science and nutrition Engineering*, 6(3).p 49-54.
- Sissao Mariétou, Vinsoun MillGo et Georges Anicet Ouedraogo. (2015). composition et qualité bactériologique des laits crus et pasteurisés au Brukina Faso. *Afrique science*, 11(1).p142-154.
- Souaïbou F, Kpodékon T. Marc, Sessou Philippe, Youssao Issaka, Boko cyrille, Yèhouenou boniface, Sohounhlouè Dominique.(2009). Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin, Laboratoire de recherche en Biologie Appliquée (LARBA). Ecole polytechnique d'abomey-calavi(EPAC)/UAC-01 Cotonou (Bénin).
- Stenne P, (1973). Procédé de fabrication et aliments protéiques, notamment de fromages. Brevet française n°2232-999.
- Syndi frais, (2011). tout savoir sur le fromage blanc.paris.p 01-20.

- Tarmo,(2010). Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteur de variabilité .p 17.
- Thieulin et Vuillaume.,(1967). Elément pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs. (p. Wilson.paris, Éd.) *revue générale des questions laitières*, 71.p73-388.
- Varnam A.H, et Sutherland P. (2001). Milk and milk products, technology, chemistry and microbiology. *food products series an aspen publication.New york. 1*.p35-37.
- Veillet, (2010). enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive entre tradition et innovation,thèse doctorat en chimie.France.p 153.
- Vignola C, (2002). science et technologie du lait ,transformation du lait.Ed.Presses internationales polytechnique.Canada.p 3-75.
- Vignola C, (2002). science ettechnologie du lait ,transformation du lait fondation de technologie laitiere de quebec .p 1-15.
- Wendroff, Wee.,(1997). effect of smoke and spice oils on growth of moulds on oil-coated cheeses. *journal of Food protection*, 60.p 153-156.
- Yezza S., et Bouchama S. (2014). index des métabolites secondaire végétaux. p 47.

# *Les annexes*

## Les annexes

### Annexe n°1

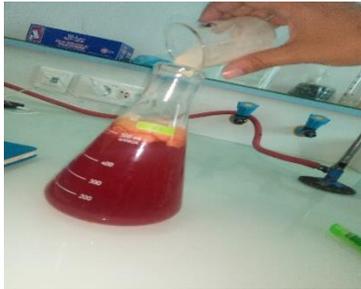
- Appareillages et petit matériel

**Tableau I :** les Appareillages et petit matériels utilisés

Appareillages et petit matériels	Les milieux de culture	Les réactifs
Balance de précision	Gélose GN	Solution NAOH
PH- mètre	Milieu hecktoen	Phénolphtaléine
Etuve (30, 37,44 C°)	Milieu Baird Parker	Bleu de méthylène
Autoclave de stérilisation	Milieu SS	Tellurite de potassium
Congélateur à – 20 C°	Milieu VRBG	
Réfrigérateur +4 C°	Bouillon nutritive :	
Bain marie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau peptonné</li> </ul>	
Agitateur	<ul style="list-style-type: none"> <li>• tamponné</li> </ul>	
Micropipette (1000 µL)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sélénite- cystine</li> </ul>	
Pipette pasteur	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau physiologique</li> </ul>	
Bécher	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Giolitti cantoni</li> </ul>	
Burette graduée à support	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bouillon VBL</li> </ul>	
Eprouvette graduée		
Les embouts jetables		
Bec bunsen		
Les boites de pétri		
Support de tube à essai		
tubes à essais		
Erlenmeyer		
Spatule		
Les bandes à gaze		
Cristallisoir		
Faisselle pour fromage		

## ➤ Préparation des milieux de culture

**A)** peser une quantité de milieu de culture



**B)** mettre le milieu de culture dans un erlenmeyer qui contient l'eau physiologique et un baro-magnétique pour bien mélanger l'eau et le milieu de culture

**C)** placer l'erlenmeyer dans la plaque chauffante et régler la température et le degré d'ébullition



**D)** après l'ébullition verser le milieu liquide dans des flacons en verre

**E)** placer les flacons dans l'autoclave pour la stérilisation ( 121 °C /15 min) .laisser refroidir pour les utilisés.



**Figure 01 :** Protocole récapitulatif de préparation des milieux de culture (photos originales)

➤ **Composition des milieux de cultures.**

**Tableau II** : représente les compositions des milieux de cultures utilisés.

Milieu de culture	Composition	quantité	Milieu de culture	composition	quantité
GN	L'extrait de viande Peptone Gélose Eau	3g 5g 9 à 18 g 1000 ml	Eau physiologique	Chlorure de sodium (NaCl) Eau	8.5g 1000ml
VRBG	Peptone Extrait de levure Glucose Sels biliaires Rouge neutre Cristal violet Agar Chlorure de sodium	7 3 10 1.2 0.03 0.002 12g 5g	Baird Parker	Tryptone Extrait de viande Extrait autolytique de levure Pyruvate de sodium Glycine Chlorure de lithium Agar Emulsion de jaune d'œuf Tellurite de potassium Eau	10g 5g 1g 10g 12g 5g 12 à 22g 47g 3g 1000 ml
Hektoen	Peptone pepsique de viande Extrait autolytique de levure Lactose Saccharose Salicine Sels biliaires Chlorure de sodium Thiosulfate de sodium Citrate ferrique ammoniacal Bleu de bromothymol Fuchsine acide Agar agar	12g 3g 12g 12g 2g 9g 5g 5g 1,5g 65g 40g 13,5g	Gélose SS	Peptone Extrait de viande Sels biliaires Vert brillant Lactose Rouge neutre Thiosulfate de sodium Citrate ferrique ammoniacal Citrate de sodium Agar	5 g 5g 8.5g 0.33mg 10g 25 mg 8.5g 1g 8.5g 15g

**Source** : Biokar Diagnostics

## Annexe n° 2

### Les critères microbiologiques de lait et produits laitiers.

D'après l'arrêté interministériel du 8 chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (J.O.R.A. N°39 du 2/07/2017).

Tableau III : la spécification microbiologique de lait cru et lait pasteurisé.

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>6</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 <sup>2</sup>	5.10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	

Tableau IV : la spécification microbiologique de fromage au lait cru et au lait pasteurisé

Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan de trois classes qui s'expriment de la façon suivante :

- Si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à «m», le résultat de critère microbiologique est satisfaisant
- Si le résultat de l'analyse n'excède pas « M » et si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat supérieur à « m » et comprise entre « 1 » et « c =2 », le résultat du critère microbiologique est acceptable
- Si le résultat de l'analyse excède « M » ou si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat compris entre « m » et « M » et supérieur à « c = 2 », le résultat de critère microbiologique est non satisfaisant.

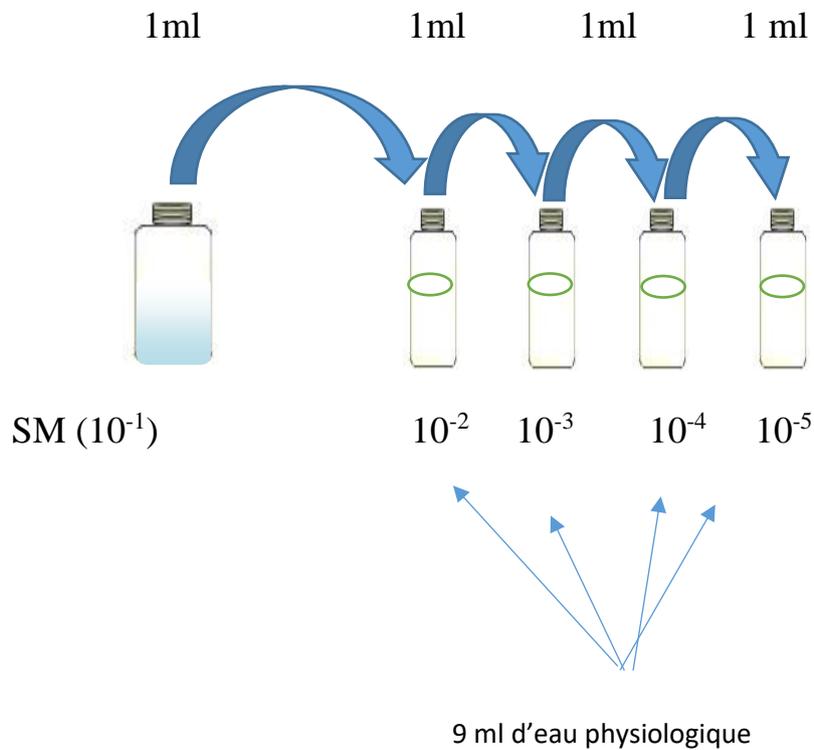
## Annexe n°3

### Les analyses microbiologiques

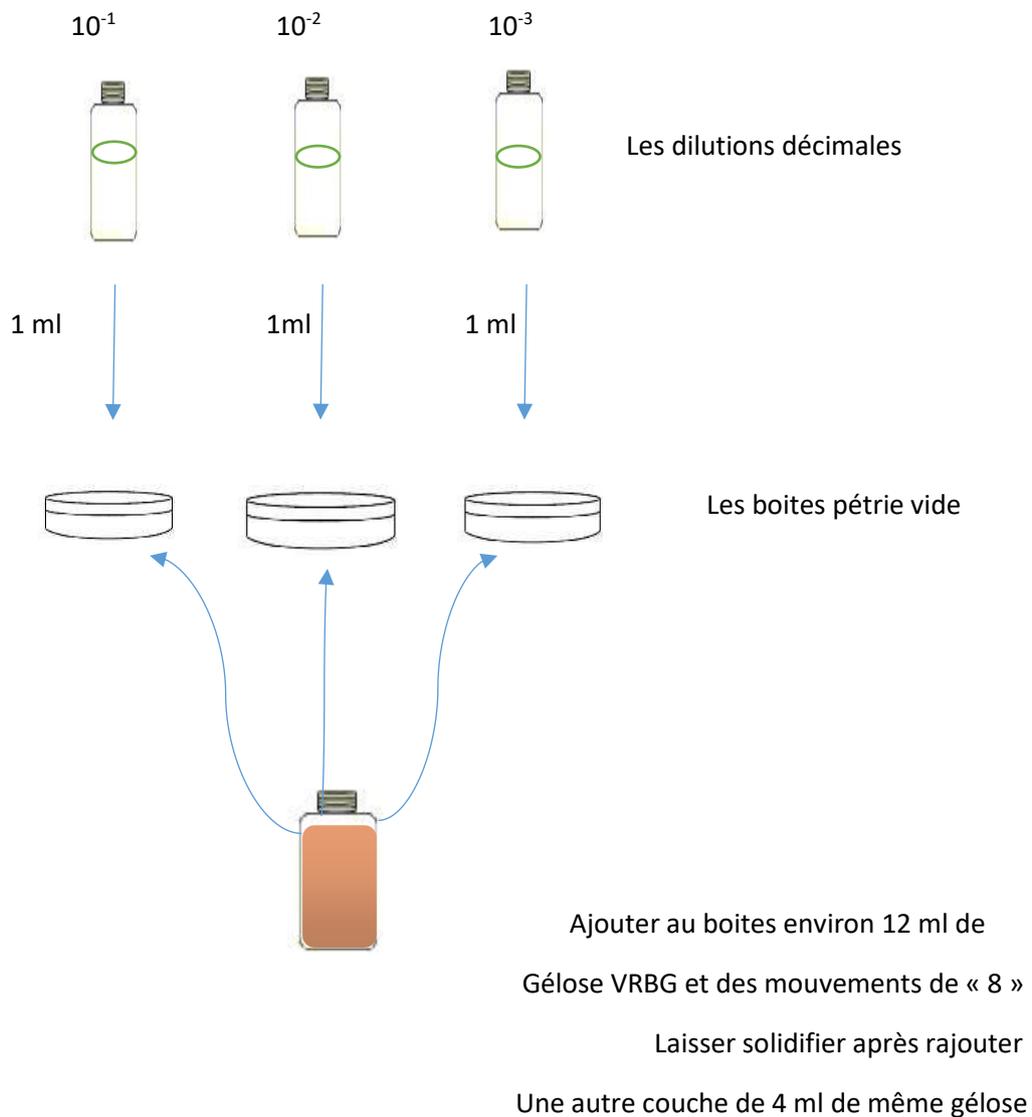
- Préparation de solution mère.



- Préparation des dilutions décimales

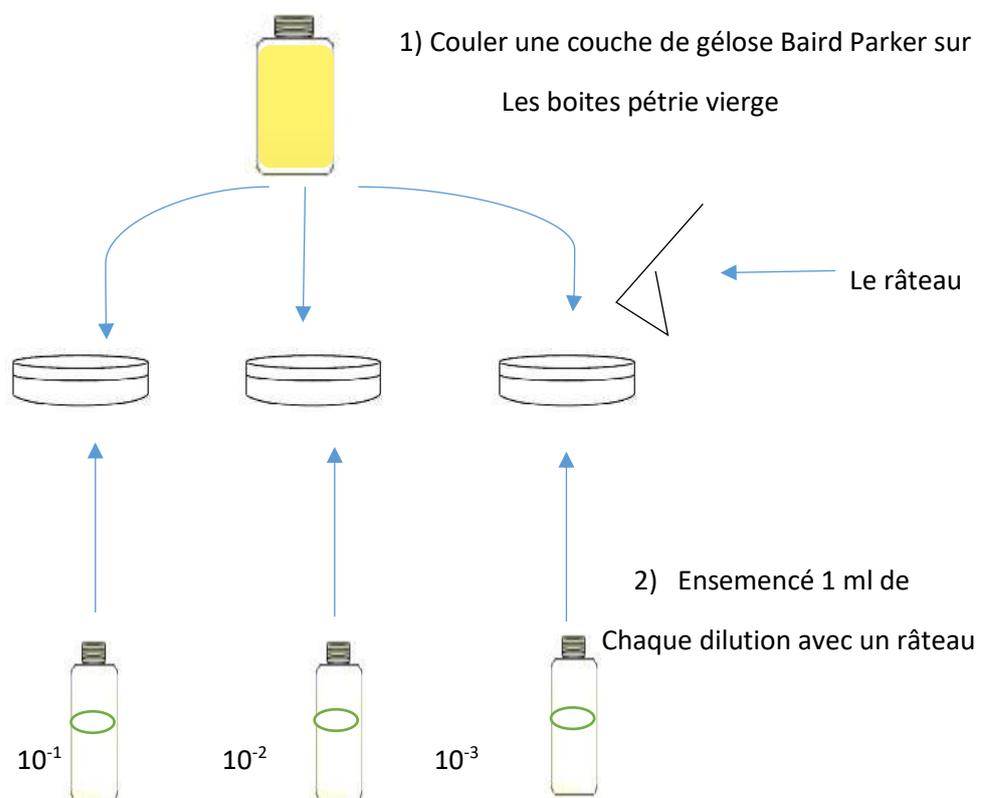


## ➤ Dénombrement des coliformes fécaux



Incubation à 44 °C / 24 -48 h

➤ **Dénombrement des *staphylococcus aureus***



Incubation à 37 °C / 24 – 48 h

## ➤ Dénombrement des salmonelles

### 1) pré- enrichissement



introduire 1 ml de SM  
Dans le tube d'eau peptone tamponné

Incubation à 37 °C / 18 -24 h

### 2) enrichissement



Ajouter 1 ml de solution de pré-  
Enrichissement à 9 ml de  
Sélénite cystéine

Incubation à 37 °C /24 h

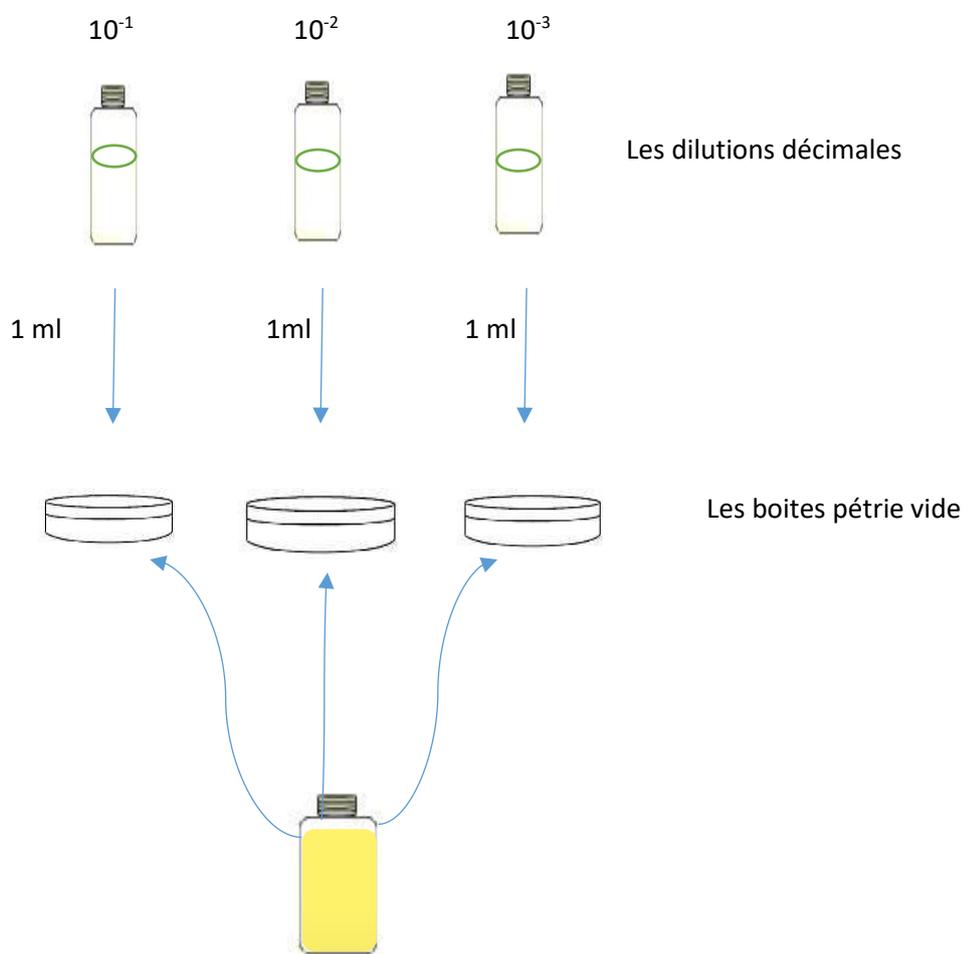
### 3) isolement



Ensemencement 1 ml de bouillon  
Sélénite sur le milieu Hektoen

Incubation à 37 °C / 24 h

➤ **Dénombrement des germes aérobies à 30 °C.**



Ajouter au boites environ 12 à 15 ml

De Gélose GN et faire des mouvements de « 8 »

Incubation à 44 °C / 24 -72 h

## Annexe n°4

### Les étapes de fabrication de fromage frais



A) L'acidification de lait avec jus citron et vinaigre blanc

B) Récupération de Caillage du lait



C) L'égouttage de fromage dans des faisselles

D) L'ajoute des graines au fromage bien égoutté



E) Le salage de fromage

F) la Conservation de fromage dans l'huile d'olive



## Résumé

Le présent travail a été mis dans le but d'améliorer et suivre les conditions de conservation d'un fromage frais enrichi avec les graines de pin d'Alep mariné dans de l'huile d'olive vierge pendant une période de conservation de 21 jours à 6 °C. Ainsi une série d'analyses microbiologiques ont été effectuée à J0, J3, J7, J15, J21. Les analyses physico-chimiques de lait cru montre une Acidité de 33 °D supérieure aux normes qui est de 18 °D, l'ébullition présente un liquide homogène blanc lisse sans grumeaux signifie que la qualité de lait est bonne, le pourcentage de matière sèche est de 12% et une lactofermentation qui est négative. La recherche des germes aérobies et les coliformes fécaux indiquent des taux de (8,5.10<sup>6</sup> UFC/mL, 2,8.10<sup>5</sup> UFC/mL), respectivement. Ainsi que une présence des Staphylocoques avec (1,9.10<sup>3</sup> UFC/mL), et des Salmonelles (des résultats non conformes à la norme Algérienne). Après pasteurisation, les résultats indiquent une absence totale de tous les germes pathogènes susmentionnés, ce qui démontre l'efficacité de pasteurisation. Le fromage frais, enrichi, mariné et fabriqué à partir de lait pasteurisé présente une qualité hygiénique très satisfaisante grâce au composés bioactifs des graines du pin d'Alep et l'huile d'olive vierge qui pourra contribuer à une meilleure conservation de fromage frais.

**Mots clés :** Graines de pin d'Alep, fromage frais, pasteurisation, l'huile d'olive, les analyses physico-chimiques, les analyses microbiologiques, germes.

## Abstract

The present work has been put in order to improve and monitor the conditions of conservation of a fresh cheese enriched with the seeds of Aleppo pine marinated in virgin olive oil for a storage period of 21 days at 6 °C. Thus a series of microbiological analysis were carried out on D0, D3, D7, D15, D21. The physico-chemical analysis of raw milk show an acidity of 33 °D higher than the standards which is 18 °D, the boiling presents a smooth white homogeneous liquid without lumps means that the quality of milk is good, the percentage of dry matter is 12% and a lactofermentation which is negative. Testing for aerobic bacteria and fecal coliforms indicate levels of (8,5.10<sup>6</sup> UFC/mL, 2,8.10<sup>5</sup> UFC/mL), respectively. As well as a presence of Staphylococci with (1,9.10<sup>3</sup> UFC/mL), and *Salmonella* ( results not in accordance with the Algerian standard). After pasteurization, the results indicate a complete absence of all the above-mentioned pathogens, which demonstrates the efficiency of pasteurization. The fresh cheese, enriched, marinated and made from pasteurized milk has a very satisfactory hygienic quality thanks to the bioactive compounds of the the seeds of the Aleppo pine and the virgin olive oil which can contribute to better preservation of fresh cheese.

**Keywords:** Aleppo pine seeds, fresh cheese, pasteurization, olive oil, physic-chemical analysis, microbiological analysis, germs.

## المخلص

العمل الحالي تم تنفيذه من اجل تحسين و مراقبة ظروف حفظ جبن طازج غني ببذور الصنوبر الحلبي و منقوع بزيت الزيتون لمدة 21 يوما على 6 درجة مئوية. حيث تم إجراء سلسلة من التحاليل الميكروبيولوجية في الأيام 0, 3, 7, 15 و 21. تظهر التحاليل الفيزيائية والكيميائية للحليب الخام أن درجة الحموضة تساوي 33 دورنيك، أعلى من المعايير الثابتة التي لا تتجاوز 18 دورنيك، بعد غليان الحليب لاحتضنا بقائه متجانساً وناعماً بدون كتل ما يعني أن جودة الحليب جيدة ، إضافة إلى أن نسبة المادة الجافة تساوي 12% ونتيجة تخمير اللاكتوز كانت سلبية. الاختبارات الخاصة بالبحث عن البكتيريا الهوائية والبكتيريا القولونية البرازية أظهرت وجود ( 8,5.10<sup>6</sup> مل/وت م ) و( 2,8.10<sup>5</sup> مل/وت م ) على التوالي، وكذلك وجود المكورات العنقودية ( 1,9.10<sup>3</sup> مل/وت م ) والسالمونيلا (النتائج لا تتوافق مع المواصفات الجزائرية). بعد البسترة، تشير النتائج إلى الغياب التام لجميع البكتيريا المسببة للأمراض والمذكورة أعلاه، مما يدل على كفاءة البسترة. يتمتع الجبن الطازج الغني، المنقوع والمصنوع من الحليب المبستر بجودة صحية مرضية للغاية بفضل المركبات النشطة بيولوجياً لبذور الصنوبر الحلبي وزيت الزيتون البكر التي يمكن أن تساهم في الحفاظ على الجبن الطازج بشكل أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** بذور الصنوبر الحلبي، الجبن الطازج، البسترة، زيت الزيتون، التحاليل الفيزيائية والكيميائية، التحاليل الميكروبيولوجية، البكتيريا

