

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DÉPARTEMENT 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 :**

*ADDAR Selma & DJOUADI Zina*

***Thème***

***Amélioration et suivi des conditions de conservation d'un  
fromage frais mariné dans l'huile de pin d'Alep***

**Soutenu le :** 20 / 09 / 2021

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr MAHDJOUB.M</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme MEDBOUA.C</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mr REMINI.H</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme SAHRAOUI.Y</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Boumerdes</i>	<i>Co-Promotrice</i>

***Année Universitaire : 2020/2021***

# *REMERCIEMENTS*

*En premier lieu et avant tout je tiens à remercier DIEU le  
tout puissant  
De nous avoir donné le courage, la patience et la force pour  
réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous  
Nos professeurs qui ont contribués à notre formation  
Nous désirons exprimer notre profonde et vive  
reconnaissance*

*A notre encadrant Docteur Mr REMINI Hocine  
Qui a mis tout son compétence à notre disposition  
Pour ces directives et conseils judicieux et pour  
Son suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous tenons à présenter nos remerciements à notre Co-  
promotrice Mme SAHRAOUI Yasmine et  
Pour son aide, et ses conseils précieux,  
Nous remercions infiniment Mr MAHDJOUB Malek  
d'avoir accepté de juger*

*Et présider notre travail. Nous exprimons nos vifs  
remerciements à*

*L'examinatrice Mme MEDBOUA Chafia.*

*Nous tenons aussi a remercié l'équipe de laboratoire 3BS  
(Biothématique, Biophysique, Biochimie et scientométrie)  
de l'université de Bejaïa*

*Surtout Mme ADEL Khadidja*

*Pour leur gentillesse et leur aide durant la période que nous  
avons passé*

*Dans le laboratoire.*

*Nos derniers remerciements vont à tous ceux qui ont  
contribué de près ou*

*De loin pour l'aboutissement de ce travail*



*DÉDICACES*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à toute ma famille, qui m'ont été la source d'encouragement et d'assurance durant mes séjours à l'université en particulier à :*

*A ceux qui m'ont donné la vie, symbole de beauté, et de fierté, de sagesse et de patience. A mes chers parents.*

*A mes frères FATEH et DAOU et ma sœur SIHAM, chacun a contribué à sa manière à la réalisation de ce travail.*

*A ma chère KARIMA qui m'a toujours encouragé et m'a aidé pour ma réussite.*

*A mon mari RAZIK ce travail est le tien car tu as été présent toujours à mes côtés. Ton soutien sera toujours pour moi un second souffle,*

*Sois rassuré de mon amour.*

*A ma chère copine et binôme ZINA.*

*A tous ceux et celles que je n'ai pas cité nommément*

*Je ne pense pas moins à vous.*

*SELMA*

## *Dédicace*

*Je remercie le bon dieu pour sa bonté et sa fidélité.*

*Que ce travail témoigne de mes respects :*

*A mes parents :*

*Grace à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices,*

*Ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma*

*Considération et mes profonds sentiments envers eux,*

*Je prie le bon dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant*

*Qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*Merci de m'avoir soutenue tout au long de mes études.*

*Merci à mes très chères sœurs **FADHILA, KARIMA, OURIDA** et mes frères*

***FARES, TOUFIK** pour leurs encouragements.*

*Mercie à ma chère copine et binôme **SELMA**.*

*Merci à tous mes chers amis.*

**ZINA**

# *SOMMAIRE*

## **TABLE DES MATIERES**

### **LISTE DES FIGURES**

### **LISTE DES TABLEAUX**

### **LISTE D'ABRIVIATION**

### **INTRODUCTION** 01

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE I : LE PIN D'ALEP**

I. Description botaniques de pin d'Alep .....	02
II. Classification.....	04
III. Répartition géographiques .....	05
III.1. Répartition dans le monde .....	05
III.2. Répartition dans l'Algérie .....	05
IV. Intérêt économique de <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	06
V. Propriétés thérapeutiques et usage traditionnel .....	06
VI. Métabolisme de pin d'Alep .....	07
VI.1. Métabolites primaires .....	07
VI.2. Métabolites secondaires .....	07
VI.2.1. Définition .....	07
VI.2.2. Classification .....	07
VI.2.2.1. Les composés phénoliques .....	08
VI.2.2.2. Alcaloïdes .....	08
VI.2.2.3. Terpenoides .....	08
VII. L'huile essentielle de pin d'Alep .....	09
VII.1. Définition .....	09
VII.2. Composition chimique de l'huile de Pin d'Alep.....	09
VII.3. Propriétés pharmacologiques de l'huile de Pin d'Alep.....	09
VII.4. Conditionnement de l'huile .....	10
VII.5. Stockage et conservation .....	11

## **CHAPITRE II : LAIT ET FABRICATION DU FROMAGE**

### **I. Généralité sur le lait**

I. Définition .....	12
II. Composition .....	12
III. Les facteurs influençant la composition de lait .....	13
IV. Microbiologie du lait cru .....	13
IV.1. Flore originelle .....	13
IV.2. Flore de contamination .....	13
V. Principales activités microbiennes dans le lait .....	14

### **II. Généralité sur le fromage**

I. Historique .....	14
II. Définition .....	14
III. Composition .....	14
IV. Les différents types de fromage frais .....	15
V. Les étapes de fabrication de fromage frais .....	17
V.1. Préparation du lait .....	17
V.2. Coagulation .....	17
V.3. Egouttage .....	17
V.4. Salage .....	18
V.5. Conservation .....	18

### **Partie pratique**

## **CHPITRE III : MATERIEL ET METHODES**

I. Cadre de l'étude et l'échantillonnage.....	19
II. Matériel et équipement .....	19
III. Echantillonnage.....	19
III.1. Technique de prélèvement.....	20

III.2. Préparation de milieu de culture.....	20
III.3. Préparation de la solution mère et de la dilution décimale.....	21
IV. Les Analyses physico- chimiques du lait cru de vache .....	21
IV.1. L'acidité titrable .....	20
III.2. Test d'ébullition .....	22
III.3. Détermination de la teneur en matière sèche .....	22
III.4. Test de lactofermentation .....	22
IV. Les analyses microbiologiques du lait cru de vache.....	23
V. Fabrication de fromage frais .....	25
V.1. Acidification du lait de vache .....	25
V.2. Caillage .....	25
V.3. L'égouttage .....	25
V.4. Salage .....	26
V.5. La Conservation et la marinade du fromage frais dans l'huile de pin d'Alep.....	26
VII. Les analyses microbiologiques de fromage .....	26

## **CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSIONS**

I. La fabrication de fromage frais marinée dans l'huile de Pin d'Alep .....	28
I.1. Analyse de lait cru de vache .....	28
I.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique de lait cru .....	28
I.1.2. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru .....	29
I.2. Analyse de lait pasteurisé.....	30
I.2.1. Résultats des analyses microbiologique de lait de vache pasteurisés .....	30
I.3. Les résultats des analyses bactériologique du fromage frais selon le suivi cinétique J0, J3, J7, J15 et J21 .....	31

<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>33</b>
--	-----------

### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **ANNEXES**

### **RESUME**

# Listes des figures

figure	Titre	Page
01	Arbre de Pin d'Alep	02
02	Différentes parties de pin d'Alep	03
03	Répartition de Pin d'Alep dans le monde	05
04	Répartition de Pin d'Alep en Algérie	05
05	diagramme expérimentale de fabrication du fromage	17

# Listes des tableaux

<b>tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Composition moyenne de lait de vache	12
II	Valeur nutritionnelle moyenne des fromages frais	15
III	Les matières premières utilisés dans la fabrication de fromage frais	19
IV	les matériels et les milieux de cultures utilisés durant la partie expérimentale	20
V	Résultats de l'analyse physicochimique de lait cru	28
VI	Résultats de l'analyse microbiologique de lait cru de vache	29
VII	Résultats de l'analyse microbiologique de lait pasteurisé	30
VIII	Résultats de l'analyse microbiologique de fromage Avant marinade dans l'huile de pin d'Alep J0	31
IX	Résultats de l'analyse microbiologique de fromage Après marinade dans l'huile de pin d'Alep jours 3, 7, 15 et 21	31

# Liste d'Abbreviations

<b>AFNOR</b>	Agence Française de Normalisation.
<b>Cn</b>	Caséine.
<b>Dm</b>	dilution mère
<b>E. coli</b>	<i>Escherichia Coli.</i>
<b>EPT</b>	Eau Peptoné Tamponée
<b>G</b>	gramme.
<b>GN</b>	Gélose Nutritive.
<b>J.O.R.A</b>	Journal Officiel de la république Algérienne.
<b>L</b>	litre
<b>MI</b>	millilitre.
<b>MS</b>	matière sèche.
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de Sodium.
<b>Nbre</b>	nombre.
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus.</i>
<b>SFB</b>	Bouillon au sélénite.
<b>SS</b>	gélose <i>Salmonella Shigella.</i>
<b>TSE</b>	Eau physiologie stérile.
<b>VRBL</b>	gélose violet red bile lactose.

# *INTRODUCTION*

### Introduction

Le fromage frais c'est un produit fabriqué à base de lait, qui renferme, en plus de sa teneur en eau, plusieurs autres nutriments tel que les protéines, les glucides, les vitamines et les matières grasses ce qui le rend sujet à différents types d'altérations microbiennes (**Mahaut et al, 2000**).

Une altération de la qualité hygiénique du fromage frais met en cause la santé du consommateur. Cette altération est généralement invisible, elle est due à un développement de microorganismes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires de gravités diverses. Une autre altération de la qualité marchande du fromage frais modifie ses caractéristiques organoleptiques (rancissement, altération du goût) ; bien que non dangereuse pour le consommateur, elle rend ce produit non commercialisable (**Bouix et Leveau, 1984**).

Malgré l'amélioration des techniques de conservation des aliments, la nature des conservateurs alimentaires reste une des questions les plus importantes pour la santé publique (Burt, 2004). L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer une bonne conservation des aliments ; beaucoup d'attention a été accordée aux composés d'origines naturels (**Hsieh et al, 2001; Alzoreky et Nakahara, 2003**).

Aujourd'hui, la science confirme les différentes vertus des plantes médicinales et leurs extraits bruts ; dont les domaines d'application sont très variés et qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments (**Aprotosoie et al, 2010**). D'autre part, Ces plantes possèdent des profils de composition chimique différents, permettant de les employer comme agents naturels de conservation des aliments (**Holleyet et Patel, 2005**). Cela évitera les effets toxicologiques indésirables de nombreux conservateurs synthétiques limités dans plusieurs pays.

De même, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle, a incité la recherche au développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et antioxydantes, dans le but de les utiliser comme alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine des industries agroalimentaire (**Alenisan Alqattan et al, 2017**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui consiste à fabriquer un fromage frais mariné dans une huile qui est extrait d'une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle appelée pin d'Alep « *Pinus halepensis Mill* » qui jouera un rôle essentiel en améliorant la durée de conservation de fromage frais en agissant sur la flore d'altération.

# *CHAPITRE I*

## *LE PIN D'ALEP*

## I. Description botanique de la plante

Le pin d'Alep est un arbre toujours vert, de hauteur totale allant de 25 à 27 m, sa longévité ne dépasse pas 150 ans. Au tronc tortueux, irrégulier et branchu (**Seigue, 1985**), il est souvent penché et peu droit avec une cime écrasée, irrégulière et claire, avec des branches assez étalées (**Boutchiche et Boutrighe, 2016**), résiste à la sécheresse et peu tolérant aux sols peu fertiles, et un climat aride (**Bobbou, 2016**). Elle a une longévité importante de 200 à 250 ans, comprend plus de 110 espèces (**Fekih, 2014**). Il se reproduit en général vers l'âge de 8-12 ans (**Chokri, 2005**).



**Figure 01** : arbre de pin d'Alep (**Boutchiche et Boutrighe, 2016**)

### I.1.L'écorce

Des arbres jeunes est lisse et d'un gris argenté ; chez les adultes, elle forme un rhytidome plus ou moins gerçure en écailles minces, larges et aplaties de couleur rougeâtre (figure 02) (**Nahal, 1962**).

**I.2. Bourgeons** cylindro-conique, 7-8 mm, non résineux (**Maire, 1952**).

### I.3.Aiguilles

Très fines inférieure à 1mm ; mesurent 5 à 10 cm de long ; réunies par deux, rarement par trois dans une gaine ; regroupées en pinceaux à l'extrémité des rameaux ; de couleur verte jaunâtre (**Nahal, 1962**), ces pseudophylles sont persistantes (**Maire, 1952**).

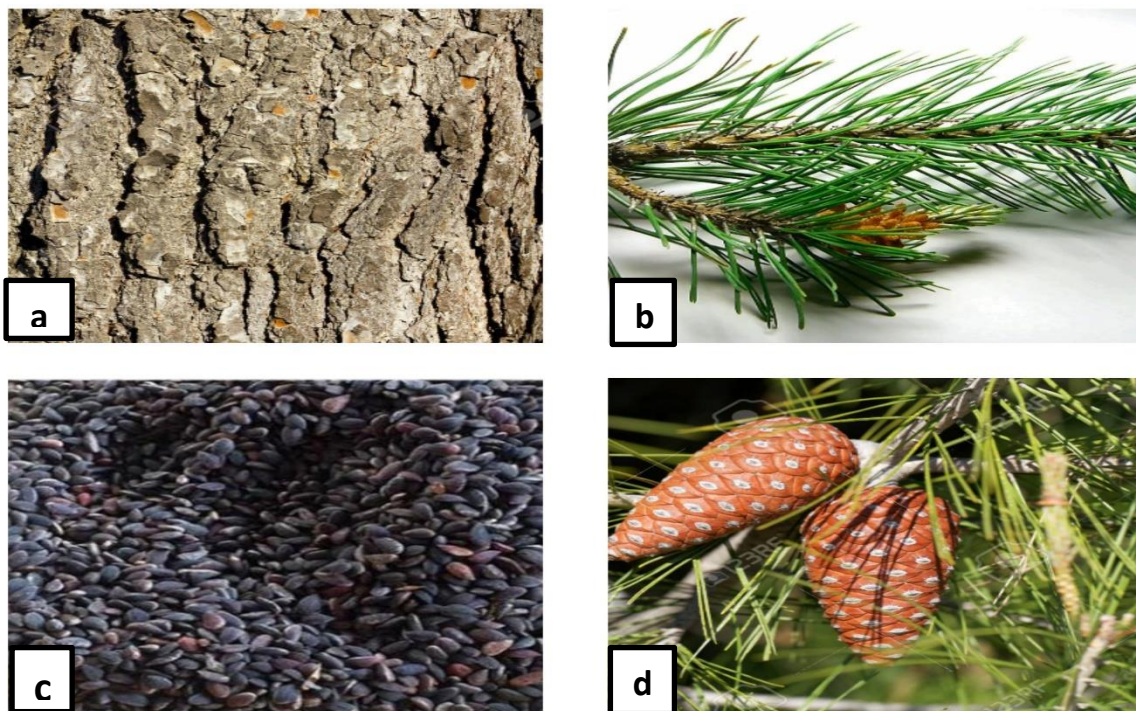
**I.4 Les cônes mâles :** de 6 à 7 cm rassemblent à des chatons dressés produisent une grande quantité de pollen jaune orangé dispersé par le vent (Nahal, 1986).

**I.5. Les cônes femelles :** Ligneux ovoïdes coniques à écailles dure, pédonculés, isolés ou par paires, ils mûrissent au cours de la deuxième année et laissent le plus souvent échapper leurs graines au cours de la troisième année. Le cône doit avoir subi de forte chaleur qui détruit les joints de résine entre les écailles pour s'ouvrir.

Ce dernier renferme des graines mates de 7 mm de taille, brun gris sur une face et gris moucheté de noir sur l'autre (Kadik, 1987). Munie d'une aile allongée 4fois plus longue qu'elle, qui facilite leurs dissémination rapide (Nahal, 1962).

### I.6. Les graines

C'est des graines non comestibles, mais dans la région du Maghreb toutefois appelée « zougou » sont utilisées dans plusieurs préparation culinaire. Les graines sont ovoïdes bombés à trois angles de petite tailles de 5 à 7 mm à aile longue, brun gris sur une face et gris moucheté de noire sur l'autre (Boutchiche et boutrighe, 2016).



**Figure 02:** Les différentes parties de Pin d'Alep : a- l'écorce, b- les feuilles, c- les graines, d- les chatons (Boutchiche et Boutrighe, 2016).

## II. Classification

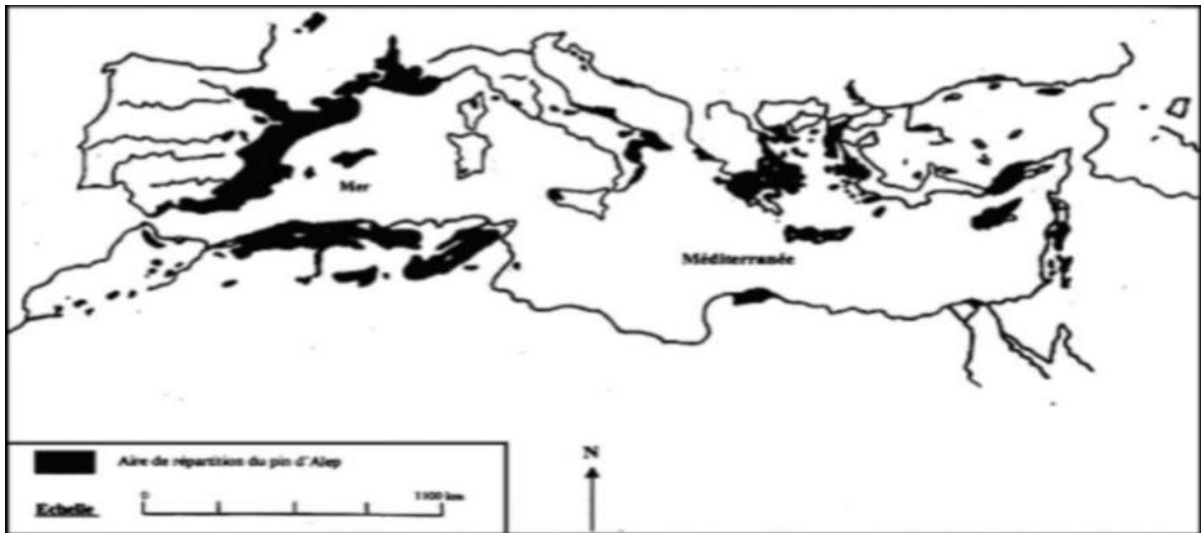
La position systématique du taxon selon l'approche morphologique est décrite comme suivant (Seladji, 2014) :

<b>Règne</b>	: Plante
<b>Embranchement</b>	: Spermaphytes (phanérogame)
<b>Sous-embranchement</b>	: Gymnospermes
<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>Pinus</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Pinus halepensis Mill</i>

## III. Répartition géographique du pin d'Alep

### III.1. Dans le monde

L'aire de répartition du pin d'Alep est limitée au bassin méditerranéen dont il occupe plus de 305 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, Palestine et Turquie) jusqu'à l'Europe méridionale méditerranéen (Grèce orientale, Croatie, Italie du nord, est de la France et Espagne orientale (Djerrad et al, 2015).



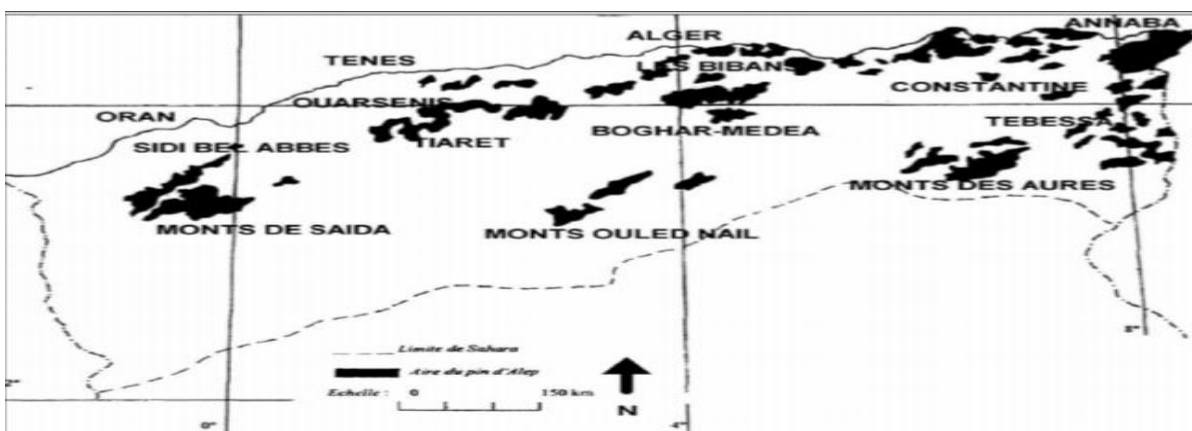
**Figure 03 :** Répartition du pin d'Alep dans le monde (BOUCEDDI, 2016)

### III.2. Dans l'Algérie

Le pin d'Alep est fréquent dans la surface forestière de l'Algérie, avec 35% de couverture (Bentouati, 2006).

Il existe dans toutes les variantes bioclimatiques avec une prédominance dans l'étage semi-aride, où il localisés principalement dans les régions suivantes :

- La région de Tbessa, les plateaux constantinois et les Aurès.
- La région d'Algérie (les forêts de Médéa, monts de Bibans).
- Les forêts de monts de Saïda, de mascara, de sidi bel Abbes et de Telagh.
- L'atlas saharien ; la région de Djelfa (mont d'Ouled Nail).



**Figure 04:** Répartition du pin d'Alep en Algérie (Bentouati, 2006) ; (MIZERAL, 2014)

#### IV. Intérêt économique de *Pinus halepensis* Mill

Ecologiquement, *Pinus halepensis* Mill est l'espèce forestière la plus importante dans de nombreux pays méditerranéens. Il est utilisé généralement dans des programmes de reboisement des sols dégradés, cas de la « ceinture verte » dans le sud de l'Algérie, où 1 million de hectares ont été plantés de pin d'Alep il y a plus de 20ans (**Lahouati, 2000; Maestre et Cortina, 2004**).

Le bois du pin est utilisé en construction, industrie, menuiserie, bois et pâte à papier, pour l'étagage des mains, la construction navale et la charpenterie (**Maestre et Cortina, 2004**).

Le pin est utilisé aussi dans le domaine cosmétique grâce à sa richesse en acide gras, vitamine E, polyphénols et antioxydants naturelles. Les grains de pin sont utilisés dans le domaine agroalimentaire (la pâtisserie) (**Cheikh-Rouhou et al, 2006**).

Le pin d'Alep donne environ 3 kg de résine (la gemme) par arbre et par an; la gemme pure contient 20 à 24% d'essence de térébenthine et 75 à 80 % de cellophane, elle a aussi des usages médicaux (**Kadik, 1987**).

#### V. Les propriétés thérapeutiques et usage traditionnel

Les rameaux feuillés de *Pinus halepensis* Mill renferment une huile essentielle riche en pinière, puissant antiseptique apprécié en cas d'affection respiratoire, dépuratifs en décoction, balsamique et amère (appréciés alors en cas d'inflammation intestinale) (**Boullard, 2001**).

L'huile de pin est utilisée en aromathérapie dans les massages de la peau; dans le soulagement de problèmes gastro-intestinaux comme les ulcère de l'estomac.

Cette huile se compose également comme un inhibiteur de l'apathie, un stimulant de l'absorption de protéines, ainsi comme un produit naturel dans le traitement des maladies cardio-vasculaire parce qu'elle contient l'acide pinolénique; qui régule le taux des lipides totaux du sang, en réduisant la consolidation des plaquettes, ce qui aboutit à une diminution de la pression sanguine. Aussi elle contient des antioxydants qui sont bénéfiques à l'organisme tout en entier (**Kadri, 2013**).

L'huile essentielle est utilisée dans le traitement de la leishmaniose qui est une maladie infectieuse causée par différentes espèces de parasite protozoaire du genre leishmania (**Dahham et al, 2015**).

La décoction des bourgeons, de l'écorce et des cônes matures ou jeunes ainsi que la poudre des résines et des cônes verts sont utilisées pour le soulagement de l'asthme, la bronchite et la toux (**Kizilarслан et Sevgi, 2013**).

Selon la tradition kabyle trois cuillérées à soupe de résine pilée et tamisée, incorporées à un pot de miel pure de 500g, constituent le traitement complet de la bronchite (**Hammiche, 2015**).

## **VI. Métabolisme de pin d'Alep**

### **VI.1. Les métabolites primaires**

Le métabolisme primaire des graines de *Pinus halepensis* Mill représente tous les processus de bases, comme la croissance ou la respiration qui est vitaux pour la plante (la machinerie moléculaire de la cellule). Les métabolites primaires sont Localisés dans toutes les parties de l'organisme avec de grande quantité (acide nucléiques, protéines, lipides et d'hydrate de carbone) (**Diallo et al, 2000**).

### **VI.2. Les métabolites secondaires**

#### **VI.2.1. Définition**

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albert Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (**Yezza et Bouchama, 2014**).

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures. et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Yezza et Bouchama, 2014**).

#### **VI.2.2. Classification**

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils

présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique (Aref et Heded, 2015).

### VI.2.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Anderiantsitohaina, 2002).

Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (Waksmundzka et Sherma, 2011), allant de simple molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Mumper, 2010).

Ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec d'autre fonction (éther, ester, hétéroside). Avec un ou plusieurs résidus sucré lié ou ils peuvent également être liés avec d'autre composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autre phénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

### VI.2.2.2. Les alcaloïdes

Le terme « alcaloïde » a été introduit par W. Meisner au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, la définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winter Stein et Trier en 1910. un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance: jeunes feuilles, jeunes racines, puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (Mauro, 2006).

### VI.2.2.3. Les terpénoides

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe : « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008).

Le terme trapénoïde est attribué à tous les composés possèdent une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaissa, 2011).

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huile extrait de plantes (huile essentielle) par le moyen de la distillation (Malcky, 2005).

## VII. L'huile essentielle de pin d'Alep

### VII.1. Définition

L'huile essentielle agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques. Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substance odorante, volatiles, de consistance huileuse, très concentré, offrant une forte concentration en principe actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles. On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction (Nogar et Ehrhart, 2008).

### VII.2. Composition chimique de l'huile de pin d'Alep

L'huile de pin d'Alep contient 65,5% de monoterpènes dont les principaux sont : myrcène (15,2% à 32,0%),  $\alpha$ -pinène (12,2% à 24,5%),  $\beta$ -caryophyllène (7,0% à 17,1%), terpinolène (1,8% à 13,3%), 2-phényl éthyle isovalérate (4,8% à 10,9%), terpinène-4-ol (1,0% à 8,2%) et le sabinène (1,5% à 3%) (Wolff *et al*, 1998).

### VII.3. Les propriétés pharmacologiques de l'huile de pin d'Alep

Plusieurs études pharmacologiques ont confirmé que l'huile de pin d'Alep présente un large éventail d'activités biologiques associées à sa composition chimique.

#### VII.3.1. Activité antimicrobienne

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles molécules bioactives antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des molécules utilisées pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques, par conséquent, l'huile de pin d'Alep possède un potentiel antiseptique naturel efficace, comme il peut être utilisé dans la conservation des aliments (Kechkar, 2008).

#### VII.3.2. Activité anti-oxydante

Des recherches expérimentales L'activité antivirale des composés phénoliques agissent contre les virus (le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2) par leurs effets sur les enzymes responsables de leurs réplication (**Bylka et al, 2004**).

Suggèrent que les composés phénoliques sont parmi les Substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers par L'intervention de plusieurs mécanismes :

- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses
- Induction de l'apoptose et l'inhibition des processus d'angiogenèse (**Ren et al, 2003**).

### **VII.3.2. Activité antivirale**

L'activité antivirale des composés phénoliques agissent contre les virus (le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2) par leurs effets sur les enzymes responsables de leur réplication (**Bylka et al, 2004**).

### **VII.3.3. Activité antiallergique**

Les flavonoïdes inhibent les enzymes responsables de la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (**Marfak, 2003**).

### **VII.3.4. Anti-inflammatoire**

Les polyphénols possèdent des propriétés anti inflammatoires, capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (**González-Gallego et al, 2007**).

## **VII.4. Conditionnement de l'huile**

C'est la mise sous emballage des huiles pour assurer leur conservation et leur transfert depuis l'usine de fabrication jusqu'aux consommateurs (**LINDEN, 1994**).

Le conditionnement doit permettre une excellente conservation jusqu'au moment de l'emploi.

De plus, il doit être d'une inertie totale vis-à-vis de l'aliment (**APFELBAUM, 1999**).

Les emballages plastiques les plus employés sont (**BEAUFRAND, 1979**) :

- Le polyéthylène haute densité (PEHD).
- Le polyéthylène basse densité (PEBD).
- Le polyéthylène téréphtalate (PET).

### **VII.5. Conservation et stockage**

Bien que certaine huile se conservent le plus longtemps, en raison de leur faible acidité et de leur patrimoine antioxydant, cette conservation n'est pas infinie, du moins en ce qui concerne ses qualités organoleptiques. Il convient donc de respecter les règles suivant : La température de stockage doit être relativement basse. Il faudra donc utiliser des systèmes tendant à éviter les sources de chaleur, mais sans recourir aux systèmes de refroidissement. La température optimale se situe entre 15 et 25°C. L'absence de radiations, et en particulier de radiations ultraviolettes, qui sont à l'origine de la formation des radicaux qui déclenchent les réactions d'auto-oxydation. Le matériau des récipients doit être inattaquable, à cet effet, les meilleurs matériaux sont l'acier inoxydable de qualité alimentaire et le fer iso vérifié (**François, 1974**).

*CHAPITRE II*

*LAIT ET*

*FABRICATION DE*

*FROMAGE FRAIS*

## I. Généralité sur le lait cru

### I. Définition :

Le lait est un liquide blanc opaque de saveur légèrement sucré sécrété par les glandes mammaires de la femme et celle des mammifères femelles destinés à l'alimentation humaine (Alais, 1975).

Le premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, tenue à Genève en 1908 a défini le lait comme étant le produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Goursaud, 1985).

Selon (Deforges et al, 1999), le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent ; notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

### II. Composition :

Le lait est reconnu depuis longtemps comme un aliment bon pour la santé : Source de calcium.

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

Constituants	Composition g/l	constituants	Composition g/l
<b>Eau</b>	905	<b>Constituants divers</b> Vitamines, enzymes, gaz dissous	Traces
<b>Glucides (lactose)</b>	49	Extrait sec totale	127
		Extrait sec non gras	92
<b>Protides</b>		<b>Sels</b>	
Caséine	34	D'acide citrique	9
Protéine soluble (globuline, albumine)	27	D'acide phosphorique (P2O3-)	2
Substances azotée non protéiques	2,5	Du chlorure de sodium (Na Cl)	2,6
	1,5		

### III. Les facteurs influençant la composition de lait

Selon (COULON, 1994) cité par (POUGHEON, 2001). La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs.

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus, ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stades de lactation, état sanitaire... soit au milieu et à la conduite d'élevage (facteurs saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs sont à interpréter.

La composition du lait est variable elle dépend bien entendu du génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais l'âge, la saison, stade de lactation, l'alimentation sont des facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait (POUGHEON et GOURSAUD, 2001).

### IV. La microbiologie de lait cru

Le lait, même provenant d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normale renferme de nombreux germes dont le développement rapide est assuré par sa température à la sortie de la mamelle (35°C) ainsi que par sa richesse en eau et en glucides.

Les microorganismes de lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes : la flore indigène ou originale et la flore de contamination, cette dernière est subdivisée en deux classes : la flore d'altération et la flore pathogène (Guiraud, 1998; Fredot, 2006).

#### IV.1. Flore originelle :

Le lait contient peu de microorganismes, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactique, lactobacilles (Guiraud, 2004).

Ces micro-organismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs (Larpen, 1996).

#### IV.2. Flore de contamination

Le lait au cours de traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes.

Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à un autre et suivant l'âge du lait (**Bourgeois et al, 1996**). Elle se compose d'une flore d'altération et d'une flore pathogène.

## V. Principales activités microbiennes dans le lait

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levure, moisissures et bactéries. Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions de milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur, la consistance ou la texture et l'apparence. Parmi ces activités on peut citer (**Kim et al, 1982**) :

**L'acidification** : c'est une production d'acide lactique à partir du lactose par les ferments lactiques lors de leur croissance (**Bourgeois et al, 1996**).

**Protéolyse** : c'est la dégradation des protéines du lait par deux enzymes distincts : les protéases et les peptidases avec formation de peptide, dont certains donnent des mauvais goûts aux produits laitiers (**Frederikson, 1996**).

**La production du gaz** : certaines bactéries (hétéro fermentaire, bactéries tellurique) au cours de leur croissance produisent des gaz. Dans le cas de certains fromages on peut assister à l'apparition d'un défaut d'aspect, dû à la production du gaz, associé ou non à un défaut de goût (**Schmidt et al, 1994**).

## II. Généralité sur le fromage

### I. Historique

Grâce à des découvertes archéologiques qu'il a été fabriqué du fromage depuis les origines de l'élevage, il y a environ huit mille ans, dans le croissant fertile. L'homme s'aperçut que le lait qu'il entreposait coagulait et, qu'une fois séparé de son sérum, le coagulum devenait une masse compacte qui pouvait sécher, et donc se conserver et être transporté. L'acidification spontanée à l'origine de la coagulation entraînant du fait de sa lenteur une remontée de la crème à la surface, les laits fermentés, le petit lait aigre, et le beurre furent sans doute les premiers produits laitiers, Les laits de brebis et de chèvre furent apparemment les premiers laits transformés, les ovins et les caprins ayant été les premiers animaux domestiqués (**Fox et Mc Sweeney, 2004**).

## II. Définition

Le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum, caséines ne dépasse pas celui de lait. On obtient le fromage par coagulation complète 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 (CAROLE et VIGNOLA, 2002).

## III. Composition :

Le fromage est très riche de sa composition, en protéines, en peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (Walther et al, 2008).

**Tableau II:** valeur nutritionnelle moyenne des fromages frais (Richonnet, 2015).

Composition	Valeur nutritionnelle
Eau	79g
Energie (Kcal/100g)	118
Glucides (g/100g)	4
Lipides (g/100g)	17
Acides gras saturé (AGS) (g/100g)	12
Protéines (g/100)	9
Sodium (mg/100g)	520
Calcium (mg/100g)	95
Phosphore (mg/100g)	140

## IV. Les différents types de fromages

Les fromages sont classés en grandes catégories selon différents critères tels que l'espèce animale, la teneur en eau et la technologie de fabrication. Selon ce dernier critère, les fromages sont classés en sept grandes catégories (Hamada et Debbakh, 2014 ; Djafri et Djaout, 2015).

Fromage frais ou pâte fraîche ; les pâtes molles à croute lavée ou à croute fleurie ; persillées ; les pâtes pressées cuites ou non cuites ; les pâtes dures (cheddar) ; les pâtes filées ; le fromage fondu.

### **IV.1. Fromages frais ou à pâte fraîche**

Ce sont des fromages à égouttage obtenus par centrifugation ou filtration, non affinés. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique (**Luquet, 2005**). Leur humidité est élevée (70 à 75%).

Ils sont obtenus avec des laits pasteurisés et sont conservés à froid. (Exemple: Petit Suisse.)

### **IV.2. Fromage à pâte molle**

D'après (**Patric et al, 2000**), ce sont des fromages obtenus par la présure, qui subissent un affinage après fermentation lactique, mais dans la pâte n'est ni cuite ni pressée. L'égouttage est lent et réalisé par un simple découpage et éventuellement un brassage.

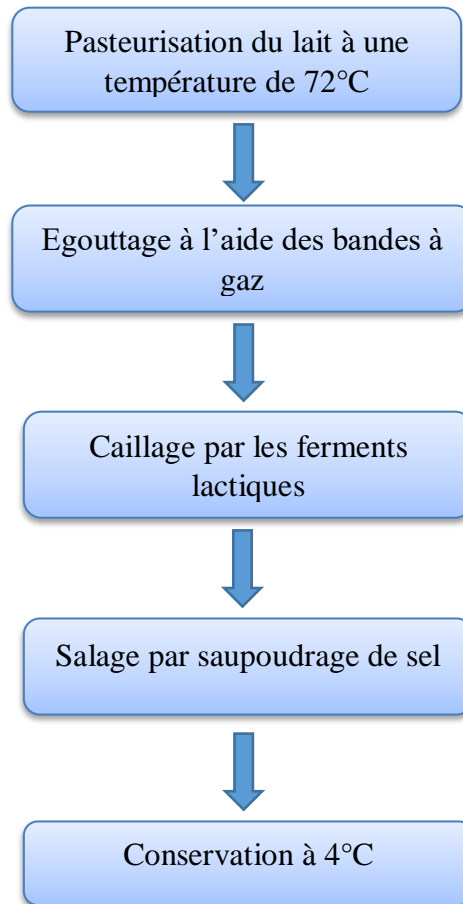
Leur humidité est moyenne (50 à 55%). Leur conservation est améliorée par le froid.

### **IV.3. Fromages 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 non cuites) ou faible (35 à 40% pour les pâtes cuites ou très brassées), leur conservation est améliorée par le froid (**Syndifrais, 2011**).

## **V. fabrication de fromage frais**

Les fromages frais sont des fromages non affinés, leur fabrication comprend trois étapes essentielles, à savoir, la pasteurisation du lait, le caillage et l'égouttage spontané.



**Figure 05:** diagramme expérimentale de fabrication du fromage (Luquet, 1985).

### V.1. Pasteurisation du lait :

Pasteurisation de lait pendant quelques minutes permette notamment de déduire les germes pathogènes (Veisseyre, 1979).

### V.2. Caillage :

C'est la coagulation du lait tiède en présence de ferments lactiques et d'une enzyme de coagulation (Lenoir et al, 1983).

### V.3. Egouttage :

L'égouttage est la séparation du caillé du lactosérum. Il se fait par centrifugation, dont le principe repose sur la différence de densité entre le lactosérum et le caillé maigre (Gouedranche et Camier-Ca, 2001).

#### V.4. Salage

C'est une opération d'enrichissement de la pâte en chlorure de sodium (Na Cl) à des doses de 1 à 2% (Eck, 1990).

Le salage complète l'égouttage du fromage soit par saupoudrage de sel soit par saumurage en favorisant le drainage du lactosérum. Il apporte ainsi le goût caractéristique du fromage et il agit sur l'activité de l'eau qui influence sur le développement des micro-organismes (Eck et Gillis, 2006).

#### V.5. Conservation :

Le fromage peut être conservé dans un endroit frais (0°C et 2°C) tout au plus une journée. Pour une période plus longue, il est préférable de le ranger au réfrigérateur, dans le terroir à légumes ou dans un contenant en plastique hermétique afin d'éviter que les odeurs se répandent. Les pâtes fraîches peuvent être conservées dans le contenant original et sa saumure.

En somme, l'important est de conserver le fromage dans un endroit sombre, humide et pas trop froid. Dans tous les cas, il vaut mieux tenir compte de la date de péremption et des instructions de conservation indiquées sur l'étiquette du fromage (Dossou et al, 2006).

*CHAPITRE III*  
*MATÉRIEL ET*  
*MÉTHODES*

## I. Cadre de l'étude et l'échantillonnage

Notre étude expérimentale a été menée durant la période s'étalant de Mars à Mai 2021, au niveau de laboratoire de recherche 3BS (Laboratoire Biothématique, Biophysique, Biochimique et scientométrique) à l'université Abed Rahman Mira de Bejaia ; dont l'objectif, consiste dans un premier temps, à fabriquer un fromage frais à partir de lait de vache cru collecté à partir des vaches saines par les fermiers fournisseurs ,acheté au niveau d'un magasin de la laiterie non loin de l'université de Bejaïa ; ensuite mariné ce fromage frais dans l'huile de pin d'Alep et étudier l'effet de ce dernier sur la durée de conservation du produit fini(fromage frais) par le suivi de l'évolution de la qualité microbiologique et physicochimique.

## II. Matériel et équipements

### II.1. Matériel biologique

- ✓ Matériel végétale objet de notre étude est l'huile de pin d'Alep, Environ 4 flacons de 10 mL ont été achetés au niveau d'une Herboristerie de la Wilaya de Bouira.
- ✓ Les différentes matières premières utilisées dans la fabrication de fromage frais sont représentées dans le tableau suivant :

Matières premières	Caractéristiques
Lait de vache cru	2 litres
Pots de yaourt	2 pots
Le vinaigre blanc	45 mL
Jus de Citrons	45 mL

**Tableau III :** Les matières premières utilisés dans la fabrication de fromage frais.

### II.2. Matériel non biologiques

Le matériel et les équipements utilisés dans notre pratique sont présents dans le tableau ci-après.

**Tableau IV :** les matériels et les milieux de cultures utilisés durant la partie expérimentale

Matériel	Milieux de cultures et réactifs
-Thermomètre	-Na-OH
-Balance de précision	- Phénolphtaléine
-Etuve (30, 37 et 44 °C)	-Bleu de méthylène
-Autoclave	- sélénite
-Bain-marie	-tellurite de potassium
-Plaque chauffante agitatrice	-Eau physiologique
-Réfrigérateur	- Gélose nutritive
-Erlenmeyer	-Baird Parker
- Boite de pétrie	- <i>Salmonella</i> et <i>Shigella SS</i>
-Tube à essai	-Milieu Chapman
-Flacon	-Milieu Hektoène
-Bicher	
-Spatule	
- Anse de platine	
- Entonnoir	
- Etiquette	
-pot de fromage	
-Bandes à gaz	
-Vortex	

### III.1. Techniques de prélèvement

Les prélèvements pour les analyses microbiologiques, doivent s'effectuer aseptiquement à partir de lait de vache par une micropipette stérile, et à partir de fromage par une spatule stérile. Le prélèvement pour les analyses physico-chimiques nécessite de prendre des échantillons de lait cru aseptiquement.

### III.2. Préparation des milieux de culture

En fonction des besoins et de germes à rechercher, les milieux de culture sont

Préparés suivant le mode opératoire indiqué sur l'étiquette de la boîte de chaque milieu de culture. Pour préparer un milieu, on pèse la quantité voulue qu'on mélange avec l'eau distillée dans les proportions indiquées sur le protocole de préparation de chaque milieu de culture. Ce mélange est chauffé et bien homogénéisé dans une erlenmeyer, le tout fait par un agitateur magnétique. La stérilisation du produit se fait à l'autoclave (121 °C pendant 15 min) et le milieu ainsi préparé est conservé dans un réfrigérateur à 4 °.

La composition de chaque milieu de culture est présentée dans (L'ANNEXE 01).

### III.3. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Au laboratoire, l'échantillon subit un traitement permettant d'obtenir les dilutions décimales selon la norme AFNOR. Dans un flacon stérile sont introduits 1ml de lait auxquels sont ajoutés 9 ml d'eau physiologique stérile (voir ANNEXE 01). La solution ainsi obtenue constitue la suspension mère (SM) à  $10^{-1}$ . En prélevant 1 ml de la SM qu'on ajoute à 9ml d'eau physiologique contenus dans un tube, on réalise la dilution  $10^{-2}$ . Ainsi de suite on réalise des dilutions ( $10^{-3}$ ...  $10^{-8}$ ).

## IV. Les Analyses physico- chimiques du lait cru de vache

Avant d'aborder la fabrication du fromage, il est important de connaître ses qualités physico-chimiques et microbiologiques.

### IV.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 du lait ou en degré DORNIC (°D).  $1\text{ °D} = 0.1\text{ g d'acide lactique par litre de lait}$  (Jean et Dijon, 1993).

**N.B** : un lait est considéré comme frais lorsqu'il a une valeur inférieure ou égale à 18°D.

### Mode opératoire

Dans un bécher, on introduit à l'aide d'une pipette, 10 ml de l'échantillon (lait) auquel on ajoute 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine, le tout est titré par une solution NaOH (1/N) goutte à goutte jusqu'à l'apparition du virage rose pâle.

### Expression des résultats

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

$$AD = V \cdot 10$$

Avec: AD: acidité titrable

V : 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).

## IV.2. Test d'ébullition

Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséine (Cn) particulièrement instable, dès lors 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 protéides et de matière grasse). Les laits acidifiés (au 25°D) coagulent par ébullition (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

## IV.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 du résidu.

### Mode opératoire

Dans la capsule séchée, introduire 10ml de lait. Dans ce cas, utiliser de préférence une capsule avec couvercle, Placer la capsule dans l'étuve à 103 °C et laisser pendant 3 heures. Mettre ensuite la capsule dans le dissecteur pour se refroidir pendant 30 minutes. Peser le poids (**AFNOR, 1986**)

### Expression des résultats

**Mode de calcul:** 
$$\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

## IV.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

- Avoir préalablement prélevé de façon aseptique un échantillon de lait à l'aide d'un contenant stérile de volume à 10ml.
- Travail en condition stérile (bec bunsen)
- Régler l'étuve à 37 °C, ou moins 1 h avant son utilisation.
- Mettre 20 ml de lait dans un tube stérile en verre si possible.
- L'ajout de 1ml de bleu de méthylène.
- Placer le tube dans l'étuve à 37 °C pendant 24h.

### Expression des résultats

Après la période d'incubation si' il y a décoloration de bleu de méthylène cela signifie que notre échantillon de lait contient des germes.

## V. Les analyses microbiologiques du lait cru de vache

Les analyses microbiologiques ont pour but une appertisation quantitative ou qualitative de la flore de contamination d'un produit à un moment donné. De façon générale, l'objectif de contrôle microbiologique est de garantir une sécurité hygiénique et un niveau organoleptique bien déterminé (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

### V.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'oxygène cette microflore peut comprendre des micro-organismes pathogènes pour l'homme mais aussi des micro-organismes d'altération, leur détection dans les aliments traduit une altération qui amoindrit la qualité intrinsèque de la denrée (goût, odeur, aspect) (**Bonnefoy et al, 2002**).

### Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri.
- Ensemencer en surface 20 ml de gélose GN.

- Les boîtes seront incubées à 30 °C pendant 72 h avec lecteur chaque 24 h, les colonies des germes se présentent sous forme lenticulaire en masse, le dénombrement se fait seulement sur les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies.

## V.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 au lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication (LASNAMI, 1986).

### Mode opératoire

A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porté aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de pétri vide, cette opération doit être effectuée en deux séries pour chaque dilution.

Ensemencé en double couche environ 15 ml de gélose **VRBL**, et incubé les boîtes à 37°C pour la première série dont la recherche des coliformes totaux et à 44 °C pour la deuxième série dont la recherche des coliformes fécaux pendant 24 heures.

### La lecture

Les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies de couleurs rose rouge avec 5 mm de diamètre, le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution et exprimés en nombre de germes par ml ou g de produit.

## V.3. Dénombrements des *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 entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Guiraud, 1998).

### Mode opératoire (JORA, 2015. N°14)

- A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri.
- Ensemencer en surface de gélose **BP**.
- Les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24 h avec lecteur.

### Lecture

Les Staphylocoques forment des colonies noires et produisent sur ce milieu opaque :

- Un halo clair autour de la colonie qui correspond à une zone de protéolyse (éclaircissement du jaune d'œuf).
- Des zones opaques qui peuvent apparaître plus tardivement dans le halo clair, Elles sont dues à l'action de lipases

#### V.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

Un volume de 1 ml de lait est ajouté à 9 ml de bouillon au sélénite et incubé 24 h 37 °C. Après l'incubation effectuer les isollements en striés à la surface dans le milieu sélectif **Hektoen** et retourner les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 24h.

##### Lecture

Les salmonelles se présentent sous forme des colonies bleues vertes au centre noir sur gélose **Hektoen**,

### VI. Fabrication de fromage frais

Après avoir fait des analyses physicochimique et microbiologique pour le lait de vache cru, il repart dans un récipient de 2 L pour subir plusieurs étapes suivantes (voir L'ANNEXE 03) :

#### VI.1. Pasteurisation du lait de vache

Le lait a été chauffé à une température de 72°C pendant 15 minute afin de détruire toute sorte de germes pathogènes, suivi directement d'un refroidissement à 6°C maximum.

#### VI.2. Caillage

Au cours de cette étape, le lait se coagule et se transforme en un gel appelé coagulum (caillé), qu'on a obtenu avec l'ajout de 2 pots de yaourt nature pour 2 litre de lait passé au chauffage jusqu'à la température de 45°C puis on a rajouté de 45 ml de jus citron et de 45 ml de vinaigre blanc.

#### VI.3. L'égouttage

Le caillé est égoutté à l'aide des bandes à gaz stérile et transféré dans des moules en plastique perforés pendant 7 à 12 h selon l'état de la pâte, avec des retournements à 2 h d'intervalle afin d'accomplir l'égouttage, cette étape permet de séparer le caillé et lactosérum.

#### **VI.4. 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>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> retournements par saupoudrage à la main de sel fin alimentaire (salage à 1%).

#### **VI.5. La Conservation et la marinade du fromage frais dans l'huile de pin d'Alep**

Après avoir conditionné les échantillons dans les pots, le fromage frais est coupé en dés et conservé au réfrigérateur à 4°C dans des boîtes en plastiques contiennent l'huile de Pin d'Alep, de telle sorte que ce dernier recouvre toute la surface de fromage dans une période de 21 jours pour assurer la protection et l'enrichissement de produit fini, Cependant cela permet d'éviter toute sorte de contamination ce qui favorise une durée importante de conservation de fromage.

### **VII. Les analyses microbiologiques de fromage frais**

Homogénéiser 1 g de fromage avec 9 ml d'eau physiologie stérile (TSE) à l'aide du vortex. Cette suspension correspond alors la dilution mère (dm) (la dilution 1/10 où) à partir de cette dilution préparer les dilutions décimales jusqu'à la dilution  $10^{-3}$ .

#### **VII.1. *Salmonella***

Les Salmonelles sont dénombrées sur milieu solide SS en surface après leur enrichissement dans un bouillon au sélénite SFB. Les milieux SFB et SS sont incubés à 37 °C pendant 24 h.

**Pré-enrichissement :** 1g de fromage à analyser sont introduits dans un flacon contenant 9ml d'eau peptone tamponnée préalablement stérilisé. La préparation est homogénéisée sur vortex et incubée à 37°C pendant 16 à 20 heures.

**Enrichissement :** A partir du milieu eau peptone, 1ml sont inoculés dans des flacons de bouillon au sélénite cystéine SFB, l'incubation se fait à 37°C.

-Chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur milieu gélosés Hektöen ou Gélose SS.  
Puis incubation à 37 °C pendant 24h.

### **VII.2. Dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Ensemencé par la solution mère et les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ .

Ensemencement en surface par étalement sur le milieu Baird Parker puis incubation à 37°C pendant 24 heures à 48 heures.

### **VII.3. Recherche d'*Escherichia coli***

Inoculer 1 ml du produit à analyser ou de ses dilutions décimales dans des boites de pétri stériles.

Couler environ 15 ml de milieu (VRBG) préalablement fondu et refroidi à 44°C.

Bien homogénéiser, laisser refroidir sur une surface fraîche et parfaitement horizontale.

Couler une seconde couche (environ 4ml) de ce milieu maintenu à 44 °C et laisser solidifier à nouveau.

Après solidification parfaites, retourner les boites et incuber à 44 °C pendant 24 h pour la recherche et le dénombrement des coliformes thermo tolérants.

#### **VII.3.1. Lecture**

Après 24 heures d'incubation dénombrer les colonies typiques coliformes sur des boites comprenant entre 15 et 150 colonies.

Les coliformes forment des colonies roses rouge ayant un diamètre supérieure ou égale à 0,5 mm avec ou sans zone de précipitation de la bile.

*CHAPITRE IV*  
*RÉSULTATS ET*  
*DISCUSSIONS*





## I. La fabrication de fromage frais marinée dans l'huile de Pin d'Alep

### I.1. Analyse de lait cru de vache

#### I.1.1. Résultats de l'analyse physicochimique de lait cru

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau V** : Résultats de l'analyse physicochimique de lait cru.

Paramètres	Acidité titrable	Ébullition	Lactofermentation	Matière sèche
Photographie des résultats				
Réaction	33°D	+	-	12%
Norme	<18°D	Ne coagule pas	Coloration bleue	12%
(+ ) réaction positive, (-) réaction négative, °D degré Dornic,				

Les résultats obtenus mettent en évidence que **la matière sèche** et **le test d'ébullition** sont conformes à la norme de réglementation exigée par **AFNOR**, par contre **l'acidité titrable** dépasse la limite, et le test de **lactofermentation** montre une décoloration de bleu de méthylène, ce qui veut dire que le lait cru est d'une qualité physico-chimique non satisfaisante et donc non conforme à la réglementation nationale.

### I.1.2. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru

Les résultats des analyses microbiologiques du lait cru exprimé en UFC/mL, le tableau ci-dessous représentent la charge des différents germes recherchés dans le lait cru.

**Tableau VI : Résultats des analyses microbiologiques de lait cru de vache**

Les germes	Normes (UFC/ml)	Lait cru
<b>Germes aérobies à 30°C</b>	$3 \times 10^6$	$8,5 \times 10^6$
<i>Staphylococcus</i>	$10^3$	$1,9 \times 10^3$
<b>Coliformes fécaux</b>	$5 \times 10^3$	$2,8 \times 10^5$
<i>Salmonella</i>	Absence	+

Selon la norme Française XPV08-102, chaque boîte retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies.

Le nombre de microorganismes par ml de produit est calculé par la formule suivante :

N : nombre des microorganismes.

n : nombre de colonies comptées.

$$N = \left( \frac{n}{v} \right) \times \frac{1}{d}$$

v : volume de solution.

d : dilution.

#### **Germes aérobie à 30°C**

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance compris entre +20 C° et +45 C°. (**Bonnefoy et al, 2002**). C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques.

Selon la réglementation nationale (**J.O.R.A, 1998**) une charge supérieure à  $3 \times 10^6$  UFC/ml signifie une contamination importante, nos résultats présents dans le tableau V montrent une valeur dénombrée supérieure à  $3 \times 10^6$  UFC/ml ce qui signifie la présence d'une contamination.

#### ***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* sont des espèces très pathogène pour la santé humaine, au cours de la recherche de cette flore la présence d'une coagulase indique sa présence dans l'échantillon analysé.

Les résultats des analyses du lait cru ont détecté la présence des souches non spécifique de *Staphylococcus*, absence des souches spécifique *staphylococcus aureus*, la détection de cette flore signifie la présence de la contamination dans la matière première utilisée.

### ***Coliformes fécaux***

La présence des coliformes fécaux dans les résultats présenté dans le tableau V est un indicateur d'une contamination qui est non conforme aux normes exigé par le (J.O.R.A n°35,1998).

### **Salmonelles**

La recherche des Salmonelles dans le lait cru étudié a révélé leur présence dans tous les échantillons analysés comme c'est présenté dans le tableau V, ce qui est non conforme aux normes selon le (JORA, 2017).

Nous pouvons dire que le lait cru révèle la présence de tous les germes pathogènes tels que les **germes aérobies, les coliformes fécaux, et des souches non spécifiques** de *Staphylococcus* qu'ils étaient présents à des taux plutôt élevés ceci est dû probablement au non-respect des bonnes pratiques hygiéniques et sanitaire au moment de la traite et pendant la manipulation.

D'après les résultats qu'on a obtenus, la matière première (lait cru de vache) est de mauvaise qualité microbiologique. C'est pourquoi les experts recommandaient l'établissement d'une législation rendant obligatoire le traitement thermique type pasteurisation qui permet la destruction des microorganismes.

## **I.2. Analyse de lait pasteurisé**

### **I.2.1. Résultats des analyses microbiologiques de lait de vache pasteurisés :**

**Tableau VII:** Analyse microbiologique de lait pasteurisé

<b>Les germes</b>	<b>Normes</b>	<b>Lait cru</b>
<i>Coliforme fécaux</i>	$5 \times 10^3$	absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^3$	absence
<i>Salmonella</i>	Absence	absence

<b>Germes aérobies à 30°C</b>	3×10 <sup>6</sup>	absence
-------------------------------	-------------------	---------

Dans notre travail les germes recherchés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale de produit fini et reflètent le respect ou non-respect des bonnes pratiques d'hygiène. D'après la pasteurisation nous infectons la totalité des germes, donc nous pouvons dire que le lait pasteurisé est de bonne qualité microbiologique et ceci conformément à la réglementation nationale. Ce qui nous emmène à valider l'échantillon du lait pasteurisé pour la fabrication du fromage.

### I.3. Les résultats des analyses microbiologiques du fromage frais selon le suivi cinétique J0, J3, J7, J15 et J21

**Tableau VIII :** Avant marinade dans l'huile de pin d'Alep J0

<b>Germes</b>	<b>Norme</b>	<b>Essai 1</b>	<b>Essai 2</b>
<i>Escherichia coli</i>	5×10 <sup>3</sup>	absence	absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>3</sup>	absence	absence
<i>Salmonella</i>	Absence	absence	absence

**Tableau IX:** Après marinade dans l'huile de pin d'Alep jours 3, 7, 15 et 21

<b>Germes</b>	<b>Normes</b>	<b>J 3, 7, 15, 21</b>
<i>Escherichia coli</i>	5×10 <sup>3</sup>	absence
<i>Salmonella</i>	Absence	absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>3</sup>	absence

La recherche des germes (*Salmonelles*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) montre une absence totale dans la variété de fromage frais soit ou sans marinade dans l'huile de pin d'Alep.

Les résultats négatifs que nous avons obtenus alors sont conformes aux normes du journal officiel algérien (**JORA n°35,1998**).

L'absence des germes dans l'échantillon est probablement dû à des conséquences de l'utilisation de la matière première après pasteurisation de la qualité microbiologique satisfaisante et de respect des règles d'hygiène durant des opérations de préparation de fromage frais.

Cependant, cette absence peut être renforcée par l'inhibition induite par les bactéries lactiques, et par la production des substances inhibitrice par l'huile de pin d'Alep contre ces germes, pour cela on peut dire que notre produit est validé à la consommation.

*CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES*

Les résultats de notre étude ont permis de révéler la bonne qualité organoleptique qui répond à la norme recommandée par le journal officiel de la république algérienne de produit fini (fromage frais) fabriqué à base du lait cru de vache utilisé une fois analysé (analyses physicochimiques et microbiologiques), et ainsi que l'efficacité des molécules bioactives présentant dans l'huile de pin d'Alep qui ont permis d'avoir un potentiel antimicrobien, qui a favorisé une durée importante de conservation de notre fromage frais après l'avoir mariné pendant 21 jours. Cela rend cette huile comme agent naturel dans la conservation des aliments.

A l'avenir, il serait opportun de compléter notre présent travail par d'autres études plus approfondies notamment :

- Optimisation de la concentration nécessaire en huile sans altérer la qualité organoleptique du produit fini.
- Evaluation des molécules bioactives présentes dans l'huile responsable des propriétés anti-oxydantes, antibactériennes qui améliorent la durée de vie de produit fini.
- Etude toxicologique sur le produit avant sa commercialisation.
- Réalisations des tests sur d'autres plantes aromatiques individuellement et en combinaisons (en réalisant des plans mélanges)

*RÉFÉRENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Aprotosoie AC., Spac AD., Hancianu M., Miron A., Tanasescu VF ET Dorneanu V., Stanescu U, 2010.** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare Mill.*). FARMACIA, 58 (1). pp. 46-54.
- Alenisan M.A., Alqattan H.H., Tolbah L.S ET Shori A.B, 2017.** Antioxidant properties of dairy products fortified with naturel additives: A review. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, 24(1), p101-106
- Alais C, 1975.** Sciences du lait. Principes des techniques laitiers. Edition Sepaic, Paris.
- Alais C., Linden G ET Miclo L, 2008.** Biochimie alimentaire, Dunod 6<sup>ème</sup> édition. Paris. Pp :86-88.
- AFNOR, 1986.** Association française de normalisation.
- Ait Abdelouahab, 2008.** Microbiologie Alimentaire 3<sup>ème</sup> édit° Ben Aknoun (Alger), 22p.
- APFELBAUM M., FORRA C ET NILLUSP, 1999.** Aliment diététiques et technologies particulières, lipides d'assaisonnement in Diététique et nutrition. Ed Masson, Paris: 459p, 336p.
- Aref M ET Heded M, 2015.** Contribution à l'étude photochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibacterienne) d'une plante médicinale Cleome Arabica L (Région d'Oued souf). Universté Echahid hamma Lakhdar d'el-oued faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire. 59p.
- Ayad R, 2008.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum cornutum, Mémoire magister en Chimie Organique, université Mentouri Constantine. P35-39, 40, 47.
- Bouix M ET Leveau J.Y, 1984.** Contrôle Microbiologique, biotechnologie. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 469 p.
- Bobbou A, 2016.** Contribution à l'étude de inventaire de peuplement de pin d'Alep de la forêt de sig (forêt de Moulay Ismail), mémoire, master en foresterie, univ, Tlemcen 55p.
- Badiaga M, 2011.** Etude ethno botanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mai, thèse de doctorat, université de Bamako. 10p.
- Baker J., Grath M ET Jack S, 2000.** Métal hyper accumulator plants a review of thé ecologie and physiologie of biological resource for photoremediation of metal, polluted soils in N.T.G banuelos.editor.phytoremediation of contaminated soil and water Pp246-250.
- BAYLK W., MATHAWSK I ET PILEWSKI N, 2004.** Natural flavonoid as antimicrobial agent. Journal of the American Nutraceutical Association. Pp 24-26.
- BEAUFRAND M ET DEBRY G, 1979.** Technologie industrielle de conservation des valeurs hygiéniques et nutritionnelle des aliments in nutrition métabolique et diététique 2eme édition Flammarion : 319p.
- Benaissa K ET Boulakradeche M.W, 2011.** Optimisation des conditions de dosage par spectroscopie d'absorption atomique (SAAF et SAAET) : Application à la détermination de la

pollution et de la bioaccumulation des métaux lourds, Universités des sciences et de la technologie houari Boumediene (u. s. t. h. b). Pp28/58.

**Bennefoy C., guillet F., Leyral G ET Verne-Bourdais E, 2002.** Microbiologie et qualité dans les Industries agroalimentaire Aquitaine Doin, paris 248p.

**Bentouati A, 2006.** Croissance, productivité et aménagement des forets de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) du massif de Ouled Yagoub (Khenchla-Aurès). Thèse doctorat, Univ. Batna, 115p.

**Bouceddi N, 2016.** Contribution à l'étude de l'extention et du comportement du pin d'Alep (*pinus halepensis mill*) dans la chenaie mixte du parc national de thenie-elhad (w. Tissemsilt), mémoire, master en foresterie, uni-tlm, 50p.

**Boullard, 2001 :** Plantes médicinales au monde croyances et réalités ED. Stem. 638p.

**Bourgois C.M ET Leveau J.Y, 1980.** Technique d'analyse de contrôle dans l'industrie agroalimentaire. Volume 3. Ed. technique et documentation. Paris. France. PP. 2011-2019.

**Bourgois C.M., Mescle J.F ET Zucca J, 1996.** Microbiologie alimentaire Aspect /microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome I. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.32p

**Bourgois C.M ET Larpent J.P, 1996.** La fermentation alimentaire. Tome 2. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp4-202.

**BOUTECHICHE F ET BOUTRIGH S, 2016.** Caractérisation morphométrique de la chenille processionnaires (*thaumetopoeapityocamps*) et de son hôte au niveau de la wilaya de Tlemcen. Mém, master en génétique, univ Tlemcen. 79p.

**BOUTONNIER J.I, 2000.** Fabrication du fromage fondu, Technique de l'ingénieur.

**CAROLE ET L ET VINGOLA, 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait Fondation et technologie laitier du Québec. P: 29-407.

**Cheikh-Rouhou S., Hertani B., Besbes S., Blecker L., Derouane ET Attia H, 2006.** Chemical composition and lipid fration charateristics of Aleppo pine (*pinus halepensis* Mill) seeds cultivated in Tunisia food sciences and technology.

**Chokri M, 2005.** Étude de l'effet de l'irradiation sur la conservation de pin d'Alep et sur la mycotoxine. Thèse doctorat. Pp13-17.

**COULON, 1994.** Cité par **POUGHEON, 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse France : 34 (102 pages).

**Dahham S.S., Tabana Y.M., Jabal M.A., Ahmed M.B., Yezza MO ET Madjid AS, 2015.** The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sequiterpene B-caryophyllene from the essential oil of aquilaria crassna. Molecules; 20, pp. 11808-11829.

**DIALLO D., SANOGO R., YASAMBOU H., TRAORE A., COUIBALY K ET MAIGA A, 2004.** Constituents study ziziphusmauritiana Lam (Rhamnaceae), used traditionally to treat diabetes in Mali. Comptes rendue Chimie, 7. Pp 1073-1080.

**Djerrad., Kadik L ET Djouahri A, 2015.** Chemical variability and antioxidant activities among pinus halpensis mill. Essential oils provenance, depending on geographic variation and environnemental conditions. Industrial Crops and products.74: 440-449.

- J.O.R.A, N°35, 1998.** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.
- J.O.R.A, 2017.** Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- Jean ET Dijon, 1993.** Au fil du lait ISBN 2-86621-172-3.
- Dossou J., Hounzgbé A.S ET Soule H, 2006.** Production et transformation du lait frais en fromage peulh au Bénin, guide de bonnes pratiques, Manuel de transformation du lait.330p.
- Eck, 1990.** Le fromage 3eme Edition, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Eck et Gillis J.C, 2006.** Le fromage, Lavoisier, 3eme édition, Paris. P. 874.
- Fekih N., Allali H., Merghache S., Chaib F., merghache D., El Amine M ET Costa J, 2014.** Chemical composition and antibacterial activity of pinus halepanensis miller growing in west northern of algeria.asian Pacific journal of tropical disease 4(2) Pp97-103.
- FRANCOIT R, 1974.** Les industries des corps gras: biochimie, extraction, raffinage, nuisance et réglementation. Paris, lavoisier, P36-53.
- FRANCOIS R, 1974.** Généralité, huilerie in les industries des corps gras. Ed Tec et doc, lavoisier : 32p-192p.
- Fox ET Mc Sweeney, 2004.** Cheese an overview. In cheese: chemistry physics and microbiology general aspect, third édition1:1-8p.
- Ferderikson, 1996.** Fonction et choix des bactéries lactiques en technologie alimentaire. In « bactéries lactiques » Ed. P41-49.
- FREDOT E, 2006.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la Diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14. 397 p
- GONZALEZ-GALLEGOJ., SANCHEZ-CAMPOS S ET TUNON J, 2007.**Antiinflammatory properties of dietary flavonoids. Nutricinhospitalaria, 22 (3). Pp 287-293.
- Gouedranche H ET Benedict, 2001.** Filière de production: production d'origine animale.
- Goursaud J, 1985.** Composition et propriété physicochimique. In : LUQUET F.M., Lait et produits laitiers. 1<sup>ère</sup> éd. Paris : Technique et documentation Lavoisier. VOL. 1, 1-90.
- Guiraud J, 1998.** Microbiologie alimentaire. Ed DUNO, Paris. P4-152. ISBN : 2-10-003666.
- Guiraud J.P. ET Rosec J.P, 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR.95p.
- Hammiche V, 2015.** Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle Phytothérapie.13, pp. 358 – 372.
- Hsieh P.C., Mau JL ET Huang SH, 2001.** Antimicrobial effect of various combinations of plant ext.racts. Food Microbiology, 18, 35-43.
- Holley RA ET Patel D, 2005.** Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials.Food Microbiol. 22(4) pp. 273–292.
- Hamada I ET Debbakh H, 2014.** Synthèse bibliographique sur la microflore du fromage, pp 04.
- Jean ET Dijon, 1993.** Au fil du lait ISBN 2-86621-172-3.

- Kadik B, 1987.** Contribution à l'étude de pin d'Alep (*Pinus halpensis* Mill) en Algérie, Ecologie. Dendrométrie. Morphologie. Ed O.P.U; 580P
- Kadri N., Khettal B., Yahiaoui., Ziadi R., Barragon Monteroa V ET Monteroa S.L, 2013.** Analysis of paler lipid fraction of pinus halepensis mill seeds from North Algeria. Industrial crops and products v (51).pp. 116-122.
- Kızılarlan C ET Sevgi E, 2013.** Ethnobotanical uses of genus Pinus L. (*Pinaceae*) in Turkey. *Indian J Tradit Knowle*.**12**, pp.209-220.
- Kim H., Hardy J., Novak G., Ramet JP ET Weber W, 1982.** Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.
- Krief S, 2003.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- Kechkar M, 2008.** Extraction de Silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire de magister en microbiologie appliquée. Univ Frères Mentouri Constantine., p (30-44).
- Lahouati R, 2000.** Expérience des Plantations en Climat Aride. Cas de la Ceinture Verte en Algérie. Direction Générale des forêt, Ministère de l'Agriculture, Alger.
- Larpent J.P.** (Lait et produit laitiers non fermentes. In microbiologie alimentaire. Tome I. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris PP : 272 - 310.
- Leveau ET Bouix, 1993.** Microbiologie Industrielle, les microorganismes d'Intérêt Industriel Tec et Doc, Lavoisier, paris, 612p.
- Lenoir J., Lamberet G ET Schmidt J, 1983.** L'élaboration d'un fromage : l'exemple du camembert. Pour la science, p30-42.
- LINDEN G ET LORIENT, 1994.** Huiles et graisses végétales in biochimie agro industrielle. Ed M asson :95p.
- Luquet F.M ET Corrieu G, 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques, Edit. Tech. Doc. Lavoisier (Paris). P, 343-408.
- Luquet, 1985.** Lait et produits laitiers vache, chèvre, brebis.
- Mahaut M., Jeantet R ET Brule G, 2000.** Initiation à la Technologie fromagères. TEC and DOC Lavoisier :Paris ; 194p.
- Maestro F.T ET Cortina J, 2004.** Insights into ecosystem composition and function in a sequence of degraded semiard steps. Restoration Ecology, 12, pp. 494-502.
- Maire R, 1952.** Flore de l'Afrique de nord. ED. Encyclopédie biologique paris 129-150p.
- Malecky M, 2005.** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. P 9,13-19, 20,27.
- MARFAK A, 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges. Pp 7- 62.

- Martin ET Andriantsitohaina, 2002.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie*, 51 :304-315.
- Mauro N.M, 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+). anatoxine. Et la (+). Camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.
- Mezeral D.J, 2014.** Ecologie du pin d'Alep (*pinus halepensis*) dans la région du Tlemcen, mémoire, master en biologie, univ. Tlemcen, 85p.
- Mumper R.J, 2010.** Plant phenolic extraction analyses and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15:7313-7352.
- Nahal I, 1962.** Le pin d'Alep. Etude taxonomique phytogéographique écologique et sylvicole. *Annales de l'école Nationale des Eaux et Forêts*. 19(4), pp.533-627.
- Nahal I, 1986.** Taxonomie et aires géographique des pins de groupes halepensis. In : Options méditerranéenne, 1-9p.
- Nogaret Ehrhart, 2008.** Nogaret-Ehrhart A-S. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris 2008.
- POUGHEON ET GOURSAUD, 2001.** Le lait caractéristique physicochimique in DEBRYGG., Lait, Nutrition et Santé, Tec et Doc, Paris : 6 (566 page)
- Patrick F., Timothy P., Timothy M ET Paul L, 2000.** Fundamentals of cheese science. Edit. Copyright by Aspen Publishers.
- REN W., QIAO Z., WANG H., ZHU L ET ZHANG L, 2003.** Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal research reviews*.23 (4). Pp 519-539.
- Richonnet Céline, 2015.** Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris, p254.
- Quezel P, 1986.** Les pins de groupe halepensis Ecologie végétation, Ecophysiologie CIHEAM, Eptions Méditerranéen p11-13
- Seigue, 1985.** Le foret circum méditerranéen et ses problèmes. Ed. Maisonneuve et Larose, paris, 502p.
- Seladji D, 2014.** Composition chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles des racines de trois pinaceae d'Algérie, université abou belkaid Tlemcen. p33.
- Seladji D., Manach C., Morand C ET Rémésy C, 2005.** Dietary Polyphenols and the prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. P45, 287-306.
- Schmidt J.L., Tourneur C ET Lenoir J, 1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières In « bactéries lactiques » Voll II. Ed. Loriga, paris, p37.
- Syndifrais, 2011.** Tout savoir sur le fromage blanc. P 01-20. Paris
- Thiulin ET Vuillaune, 1967.** Elements pratiques d'Analyse et d'Inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 a venue, président Wilson, paris, 71-73-388p.
- Veisserye R, 1979.** Technologie du lait : reconstitution, récolte, traitement et transformation du lait. Ed : La maison rustique. Paris.p709.

**Waksmundzka ET Sherma, 2011.** Waksmundzka-Hajnos M. ET Sherma J (eds). (2001)  
High performance liquid chromatography in phytochemical analysis CRC Press p 478.

**Wolff R.L., Comps B., Deluc L.G ET Marpeau A.M, 1998.** JAOCS : p45-50.

**Walther J.B, 2008.** Selective self-presentation in computer-mediated communication  
Hyperpersonal dimension of technologie, language and cognitio. Computer in human  
behavior, 23, p2538-2557.

**Yezza S ET Bouchama S, 2014.** Indes des métabolites secondaires végétaux, université kasdi  
marbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences  
biologiques 47 pages.

# *LES ANNEXES*

## ANNEXE 01: composition des milieux de culture, quantités suffisantes pour 1L

**Tableau I :** Milieu Chapmen

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Peptone	10
Extrait de viande de bœuf	01
Chlorure de sodium	75
Mannitol	2,5
Rouge de phénol	0,025
Agar	15

**Tableau II :** Milieu Hektoen

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Mélange de peptone	25
Lactose/Saccharose	12
Salicine	01
Chlorure de sodium	02
Thiosulfate de sodium	01
Citrate d'ammonium	02
Citrate trisodique	1,25
Sels biliaire	1,5
Acides fuschique	0,025
Bleu de bromothymol	0,05

**Tableau III :** Eau physiologique

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Chlorure de sodium	09
L'eau distillée	100 ml

**Tableau IV : Milieu VRBL**

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Peptone	07
Extrait de levure	03
Lactose	10
Chlorure de sodium	05
Mélange de sels biliaires	1,5
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002

**Tableau V : Milieu de Giolitti Cantoni**

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Tryptone	10
Extrait de viande	05
Extrait de levure	05
Chlorure de Lithium	05
Mannitol	20
Chlorure de sodium	05
Glycine	1,2
Pyruvate de sodium	03

**Tableau VI : Gélose nutritive**

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Extrait de viande	01
Extrait de sodium	05
Peptone	05

**Tableau VII:** Milieu Baird Parker

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Peptone	10
Extrait de levure	01
Extrait de viande	05
Chlorure de lithium	05
L-Glycine	12
Pyruvate de sodium	10
Agar	14
Eau distillée	1000 ml

**Tableau VIII :** Milieu SS

<b>Composants</b>	<b>g/l</b>
Peptone	05
Extrait de viande de bœuf	05
Sels biliaires	4,2
Citrate de sodium	10
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate de fer	02
Lactose	10
Rouge neutre	0,025
Vert brillant	0,0003
Agar	12

## ANNEXE 02



Photographie de la préparation des milieux de cultures

## ANNEXE 03

Photographies de la fabrication de fromage frais



A. Pasteurisation



**B. Caillage**



**C. Egouttage**



**D. Salage**



**E. Fromage frais**



**F. Conservation de fromage**





**G. Marinade de fromage frais dans l'huile de Pin d'Alep**





**ANNEXE 04 :**

Les résultats des analyses de lait cru utilisé pour la fabrication de fromage.

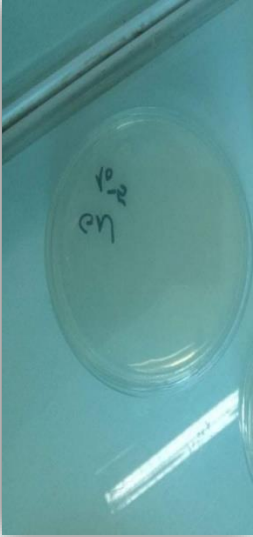



**Tableau IX: Test de lactofermentation**

Lait cru	Lait pasteurisé
	

**Tableau X:** Résultats des analyses microbiologiques de lait cru.

<b>Germe aérobie à 30°C (GN)</b>	<b>Staphylococcus aureus (Baird Parker)</b>	<b>Coliformes fécaux (VRBG)</b>	<b>Salmonelle (SS)</b>
			

**Tableau XI:** Résultats des analyses microbiologiques de lait pasteurisé

<b>Germes aérobie à 30°C</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>Coliforme fécaux</b>	<b>Salmonelle</b>
			

# *RÉSUMÉ*

## **Résumé :**

Notre travail est porté sur l'étude de l'amélioration et suivie des conditions de conservation d'un fromage frais mariné dans une huile qui est extrait d'une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle appelée « pin d'Alep ».

Le fromage fabriqué est ensuite mariné dans l'huile de pin d'Alep dans une période durant 21 jours. Cette fabrication est suivie d'une succession des analyses microbiologiques qui ont été réalisées avant et le 3,7,15,21 jours. Les analyses physicochimiques de lait cru de vache montre le pourcentage de la matière sèche qui est 12%, l'ébullition présente une bonne homogénéisation de lait donc ces deux caractères sont dans les normes, par contre l'acidité est d'une valeur de 33°D supérieur à la norme de 18°D et le test de lactofermentation présente une décoloration de bleu de méthylène qui signifie la présence des germes ,A travers les analyses effectuées montres la présence des germes pathogènes salmonella et des staphylococcus non caractéristique, ainsi que des germes aérobies avec un taux de  $8,5 \times 10^6$  UFC/ml qui est supérieur à la norme présente dans le J.O.R.A(  $3 \times 10^6$  UFC/ml) et les coliformes fécaux avec un taux de  $2,8 \times 10^5$  qui dépasse la limite de  $5 \times 10^3$ . Selon ces résultats nous incités de faire un traitement thermique qui est la pasteurisation au reste nos analyses indiquent une absence totale des microorganismes ce qui signifie la réussite de la pasteurisation .

A partir de ces résultats, nous avons déterminées qu'effectivement la bonne qualité organoleptique de ce fromage et ainsi que l'efficacité des molécules bioactifs présentant dans l'huile de pin d'Alep qui ont permet d'avoir un potentiel anti-microbien qui favorise une durée importante de conservation de fromage.

**Mots clés :** fabrication, fromage frais mariné, organoleptique, conservation, caillé, huile de pin d'Alep

## **Abstract:**

Our work is focused on the study of the improvement and monitoring of conditions of conservation of a fresh cheese marinated in an oil which is extracted from a plant widely used in traditional medicine called "Aleppo pine"

The cheese produced is then marinated in Aleppo pine oil for a period of 21 days. This production is followed by a succession of microbiological analyzes which were carried out before and on days 3, 7, 15, 21. The physicochemical analyzes the percentage of raw cow's milk which shows the percentage of the dry matter which is 12%, the boiling presents a good homogenization of the milk therefore these two characteristics are in the standards, on the other hand the acidity is of a value of 33°D higher than the norm of 18°D and the lactofermentation test shows a discoloration of methylene blue which signifies the presence of germ, further microbiological analyzes show the presence of pathogenic bacteria salmonella and staphylococcus uncharacteristic, as well as aerobic germs with a rate of  $8,5 \times 10^6$  UFC/ml which is higher than the norm present in the J.O.R.A ( $3 \times 10^6$  UFC/ml), fecal coliforms with a rate of  $2,8 \times 10^5$  UFC/ml which exceeds the limit of  $5 \times 10^3$  UFC/ml. According to these results, we are encouraged to carry out a heat treatment, which is pasteurization, according to the rest our analyzes show a total absence of microorganisms which means the success of the pasteurization.

From these results, we determined that indeed the organoleptic quality of this cheese and as well as the effectiveness of the bioactive molecules present in the Aleppo pine oil which made it possible to have an anti-microbial potential which promotes long shelf life of cheese.

**Keyword:** production, marinated fresh cheese, organoleptic, conservation, curd, Aleppo pine oil.

## الملخص

يتركز عملنا على دراسة تحسين ومراقبة ظروف تخزين الجبن الطازج المتبل في زيت يتم استخراجه من نبات يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي يسمى "الصنوبر الحلبي".

يتم بعد ذلك نقع الجبن المنتج في زيت الصنوبر الحلبي لمدة 21 يومًا. يتبع هذا الإنتاج سلسلة من التحليلات الميكروبيولوجية التي أجريت قبل وفي الأيام 3،7،15،21. تظهر التحليلات الفيزيائية والكيميائية لحليب البقر الخام نسبة المادة الجافة التي تبلغ 12٪، ويمثل الغليان تجانسًا جيدًا للحليب، لذا فإن هاتين الصفتين في المعايير، ومن ناحية أخرى تكون الحموضة بقيمة 33 درجة د. أعلى من معيار 18 درجة د ويظهر اختبار التخمر تغير لون الميثيلين الأزرق مما يدل على وجود الجراثيم، من خلال التحليلات التي أجريت تبين وجود البكتيريا المسببة للأمراض السالمونيلا والمكورات العنقودية غير المعهودة، وكذلك الجراثيم الهوائية بمعدل ( $8,5 \times 10^6$  UFC/ml) وهو أعلى من المعيار الموجود في والقولون البرازي بمعدل ( $3 \times 10^6$  UFC/ml) J.O.R.A. والذي يتجاوز حد ( $5 \times 10^3$  UFC/ml)، وفقًا لهذه النتائج دفعتنا إلى القيام بمعالجة حرارية وهي البسترة، تشير تحليلاتنا إلى الغياب التام للكائنات الحية الدقيقة مما يعني نجاح البسترة.

من هذه النتائج، توصلنا إلى أن الجودة الحسية الجيدة لهذا الجبن وكذلك فعالية الجزيئات النشطة بيولوجيًا الموجودة في زيت الصنوبر الحلبي والتي جعلت من الممكن الحصول على إمكانات مضادة للميكروبات مما يعزز العمر الافتراضي الطويل للجبن.

الكلمات المفتاحية: الإنتاج، الجبن الطازج المتبل، الحسية، الحفظ، اللبن الرائب، زيت الصنوبر الحلبي