

République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université BLIDA-1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Microbiologie

Sous le thème

**Etude comparative microbiologique et physico-chimique
entre le lait fermenté (L'BEN) traditionnel et industriel**

Date de soutenance

13/09/2020 à 10h15 (Salle des soutenances)

Présenté par :

-Mlle Boualam Nadjia

-Mme Bouchachia Majda Ep Ataa allah

Jury:

- Meklat A.	Professeur/USDB1	Présidente
- Benhouana I.	MCB/USDB1	Examinatrice
- Lounaci L.	MCB/USDB1	Promotrice
- Halouane I.	Chef de laboratoire de CAQUE	Co-promotrice

Année universitaire 2019-2020



Remerciement :

Nous remercions ALLAH le tout puissant pour la force et la patience qu'il nous a données pour mener à bien ce travail.

Nous remercions notre promotrice Dr Lounaci L. pour l'honneur qu'elle nous a fait, de nous avoir encadrer et d'avoir dirigé ce présent travail.

Nous aimerions également exprimer nos remerciements à Pr Mehlal H. d'avoir accepté de présider le jury et à Dr Benhouma J. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous témoignons toute notre gratitude à Mme Halouane J, chef de laboratoire de répression des fraudes (C.A.Q.C.E) de nous avoir accueilli au sein de son laboratoire et de nous avoir initié à la recherche scientifique.

Nous remercions également Mr Zerouali H. Mlle Lakhmi N. et Mme Toubaili K. Ainsi que tout le personnel de laboratoires de nous avoir bien accueillis et guidés tout au long de notre stage.

Nos remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à la personne qui a donné un sens à mon existence, celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite à ma mère. Que ce travail soit pour toi le témoignage de mon infinie reconnaissance pour ton aide précieuse et toutes ces

*À la mémoire de mon père disparu, Mon papa chérie qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, j'espère que du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a
À mon mari Abdelkader qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces dernières années d'étude.*

À tous mes frères Amine, Djamel, Omar et particulièrement Sidahmed, je lui remercie pour l'effort qu'il a fourni pour moi, pour son aide précieuse.

À mes chères sœurs Amina, Khadidja, Boutheyna, Chahrazed et leurs enfants.

À Mon binome Nadja ainsi que sa famille.

À ma meilleur amie Ouassa amina.

Majda



Dédicace :

Grâce à notre bonne volonté, notre acharnement, Dieu tout puissant nous a donné la force et le courage pour la réalisation de ce mémoire.

Je dédie ce travail à mes très chers parents pour toute l'affection qu'ils nous ont donnée, leur soutien moral et financier.

Mes frères Omar Rafik et Zakaria

Mes chères sœurs Amina et Ahlem

Ma belle sœur Amina

Mon adorable binôme et toute sa famille

Ma meilleure amie Lekhal J.

Mes oncles et tantes Mes cousins et cousines

Mes voisins et voisines

A tous mes camarades de la promotion

A Tous nos amis et tous ceux qui nous sont chers.

Nadjia

Liste des figures :

Figure 1: Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.	20
Figure 2: Recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase +.....	22
Figure 3: Organigramme résumant le mode opératoire de la recherche des salmonelles.....	24
Figure 4: Recherche et dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i>	26
Figure 5: Histogramme représente le dénombrement des coliformes totaux pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.	31
Figure 6: Aspect des colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL pour l'unité 5 à la dilution 10^{-2} incubées à 37 °C pendant 24 à 48h.....	31
Figure 7 : Résultats de test de confirmation réalisé sur milieu BLBVB pour l'unité 3 à la dilution 10^{-2} incubés à 37 °C pendant 24h	32
Figure 8: Histogramme représente le dénombrement des coliformes thermotolérants pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.	33
Figure 9: Aspect des colonies des coliformes thermotolérants sur milieu VRBL (SM de l'unité 2 incubée à 44 °C pendant 24 à 48 h).	33
Figure 10: Histogramme représente le dénombrement des staphylocoques à coagulase+ pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.	34
Figure 11: Aspect des colonies des staphylocoques à coagulase + sur milieu BP (SM de l'unité 3 incubée à 37°C pendant 24h).....	35
Figure 12 : Histogramme représente le dénombrement des germes aérobies à 30°C pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.	36
Figure 13: Aspect des colonies des germes aérobies sur le milieu PCA pour l'unité 2 à la dilution 10^{-3} incubés à 30 °C pendant 72h.	36
Figure 14: Histogramme représente le dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.	37
Figure 15: Aspect des colonies des <i>Enterobacteriaceae</i> sur milieu VRBG (SM de l'unité 2 incubée à 37 °C pendant 24h).	38
Figure 16: Histogramme représente la mesure du pH des 2 unités de l'ben industriel et l'ben traditionnel	39
Figure 17: Histogramme représente la mesure de l'acidité titrable pour les 2 unités de l'ben traditionnel et les 2 unités de l'ben industriel.	40
Figure 18: Mesure de l'acidité titrable de l'unité 2 de l'ben traditionnel.	40

Figure 19: Histogramme représente la mesure du taux de la matière grasse pour les 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.	41
Figure 20: Mesure du taux de la matière grasse pour l'unité 1 de l'ben industriel.	42

Liste des tableaux

Tableau I : Valeurs nutritionnelle du lait de vache	4
Tableau II: La qualité nutritionnelle de l'ben traditionnel et industriel	9
Tableau III: Propriété physico-chimique de l'ben.....	10
Tableau IV : Les modifications de l'ben au cours de stockage	13
Tableau V: Type, nombre et région des échantillons analysés	14
Tableau VI: Résultats du dénombrement des coliformes totaux (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel	30
Tableau VII: Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel	32
Tableau VIII: Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase+ (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel	34
Tableau IX: Résultats de dénombrement des germes aérobies (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.....	35
Tableau X: Résultats de dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.....	37
Tableau XI: Résultat de la mesure du pH des 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel testées.....	38
Tableau XII: Résultat de la mesure de l'acidité titrable pour les 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.	39
Tableau XIII: Résultat de la mesure de la matière grasse des 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.	41

Liste des annexes

Annexe I : Les normes utilisées dans la fabrication du l'ben

Annexe II : La composition selon Codex Alimentarius norme pour les laits fermentés

Annexe III : Composition des diluants

Annexe IV : Composition des milieux de culture

Annexe V : Produits et réactifs utilisés dans l'analyse physicochimique

Annexe VI : Matériel non biologique

Annexe VII : Journal Officiel de la république Algérienne

Liste des abréviations :

°D: Degré Dornic

AFNOR : Association Française de Normalisation

BP: Baird Parker

FAO: Food and Agriculture Organization

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

MG : Matière Grasse

MGLA : Matière Grasse Laitière Anhydre

MKTTn : Muller-Kauffmann au Tétrathionate-novobiocine

ONIL : Office National Interprofessionnel de Lait

PCA: Plate Count Agar

PE : Prise d'Essai

pH : potentiel d'Hydrogène

Ppm : Partie par million

RVS : Rappaport-Vassiliadis avec Soja

SM : Solution Mère

TSE : Tryptone Sel Eau

UFC : Unité Formant Colonies

VRBG : Violet cristal Rouge neutre Bile Glucosée

VRBL : Violet cristal Rouge neutre Bile Lactosée

XLD : Xylose Lysine Désoxycholate

Résumé

Ce travail est porté sur l'étude et la comparaison de la qualité microbiologiques et physicochimiques de deux types de l'ben : traditionnel et industriel provenant de la région de Mouzaia à Blida. Notre but est de comparer la qualité des deux produits pour guider le consommateur au bon choix en préservant sa santé.

Un échantillon de l'ben traditionnel et 01 échantillon de l'ben industriel ont fait l'objet de cette étude. Cinq unités de chaque échantillon ont servis à l'analyse microbiologique et deux unités pour l'analyse physicochimique. Les différentes manipulations ont été effectuées dans le laboratoire de répression des fraudes « CAQUE » à Beni Mared Blida.

Les résultats obtenus suite aux analyses microbiologiques ont révélé l'existence d'une grande différence entre l'ben industriel et l'ben traditionnel, ce dernier présente une charge variable de la flore de contamination avec présence abondante de coliformes thermotolérants, indicateurs d'une contamination fécale mais absence totale de germes pathogènes, contrairement à l'ben industriel qui est considéré de bonne qualité microbiologique.

Sur le plan physicochimique il n'existe pas une différence significative entre l'ben traditionnel et industriel, sauf que l'ben traditionnel est plus acide que l'ben industriel.

A la lumière de ces résultats, on peut conclure que la qualité sanitaire de l'ben industriel est meilleur que celle du l'ben traditionnel. Ce qui peut être plus rassurant pour le consommateur de ce produit.

Mots clés : analyse microbiologique, analyse physicochimique, comparaison, l'ben traditionnel, l'ben industriel.

Abstract

This study is focused on the microbiological and physicochemical comparison quality of two types of l'ben: traditional and industrial from the region of Mouzaia in Blida. Our aim is to compare the quality of these two products in order to guiding the consumer for the right choice while preserving his health.

One sample of the traditional l'ben and 01 sample of the industrial l'ben were the subject of this study. Five units of each sample are used for microbiological analysis and two units for physicochemical analysis were performed in the "CAQUE" fraud control laboratory in Beni Mared Blida.

Obtained results are following that the microbiological analyzes carried out revealed the existence of a big difference between the industrial l'ben and the traditional l'ben, the latter presents a variable load of the flora of contamination with abundant presence of thermotolerant coliforms indicators of faecal contamination but total absence of pathogenic germs, unlike the industrial l'ben which is considered of good microbiological quality.

Physicochemically there is not a significant difference between the traditional and industrial l'ben, except that the traditional l'ben is more acidic than the industrial l'ben.

In the light of these results, it can be concluded that the sanitary quality of industrial l'ben is better than that of traditional l'ben. Which can be more reassuring for the consumer of this product.

Keywords: microbiological analysis, physicochemical analysis, comparison, traditional l'ben, industrial l'ben.

ملخص

يركز هذا العمل على دراسة ومقارنة الجودة الميكروبيولوجية والفيزيائية الكيميائية لنوعين من اللبن: التقليدي والصناعي من منطقة موزاية بالبلدية. هدفنا هو مقارنة جودة المنتجين وتوجيه المستهلك إلى الاختيار الصحيح مع الحفاظ على صحته.

كانت عينة من اللبن التقليدي وعينة من اللبن الصناعي موضوع هذه الدراسة. تم استخدام خمس وحدات من كل عينة للتحليل الميكروبيولوجي وتم استخدام وحدتين للتحليل الفيزيائي الكيميائي في مخبر قمع الغش في بني مراد البلدية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد التحليلات الميكروبيولوجية التي تم إجراؤها وجود فرق كبير بين اللبن الصناعي واللبن التقليدي، حيث يقدم هذا الأخير قيم متغيرة من البكتيريا الملوثة مع وجود وفرة من بكتيريا القولون المقاومة للحرارة التي تعتبر مؤشر التلوث البرازي، ولكن الغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض، على عكس اللبن الصناعي يعتبر ذات جودة ميكروبيولوجية جيدة.

من الناحية الفيزيائية الكيميائية لا يوجد فرق كبير بين اللبن التقليدي والصناعي، إلا أن اللبن التقليدي أكثر حموضة من اللبن الصناعي.

في ضوء هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أن الجودة الصحية للبن الصناعي أفضل من الجودة الصحية للبن التقليدي. الأمر الذي يمكن أن يطمئن المستهلك أكثر من هذا المنتج.

الكلمات المفتاحية: التحليل الميكروبيولوجي، التحليل الفيزيائي الكيميائي، المقارنة، اللبن التقليدي، اللبن الصناعي.

Sommaire

I. INTRODUCTION	1
II. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
II.1. Définition de « l’ben »	3
II.1.1. L’ben traditionnel :	3
II.1.2. L’ben industriel :.....	3
II.2. Les matières utilisées dans la fabrication de l’ben :.....	3
II.2.1. Le lait	3
II.2.1.1. Le lait crû	5
II.2.1.2. La poudre de lait.....	5
II.2.2. L’eau	5
II.2.3. La matière grasse laitière anhydre (MGLA).....	5
II.3. L’intérêt nutritionnel du l’ben	6
II.4. Le procédé de fabrication du l’ben traditionnel.....	6
II.5. Le procédé de fabrication du l’ben industriel	7
II.5.1. La réception du lait crû	7
II.5.2. La préparation du lait	7
II.5.3. Le développement de la fermentation	8
II.5.4. Le conditionnement et le stockage.....	9
II.6. La qualité nutritionnelle de l’ben	9
II.7. Les propriétés physico-chimiques de l’ben	9
II.8. Les propriétés microbiologiques de l’ben	10
II.8.1. Les caractéristiques des différents genres des ferments lactiques	10
II.8.1.1. <i>Streptococcus sp.</i>	10
II.8.1.2. <i>Leuconostoc sp.</i>	10

II.8.1.3. <i>Lactobacillus sp.</i>	10
II.8.1.4. <i>Lactococcus sp.</i>	11
II.8.2. Le rôle des ferments lactiques.....	11
II.9. La flore microbienne indésirable.....	11
II.9.1. La flore d'altération	11
II.9.2. La flore pathogène	12
II.10. Les modifications de l'ben au cours du stockage	13
III. MATERIEL ET METHODES	14
III.1 Matériel.....	14
III.1.1 Matériel non biologique.....	14
III.1.2 Matériel biologique.....	14
III.1.2.1 Echantillonnage.....	14
III.2. Méthodes microbiologiques	15
III.2.1.Préparation de la solution mère et les dilutions décimales	15
III.2.2.Analyses microbiologiques.....	15
III.2.2.2Analyse microbiologique de l'ben traditionnel.....	16
III.2.2.1Analyse microbiologique de l'ben industriel.....	25
III.3 Méthodes physicochimiques	27
III.3.1.La détermination du pH.....	27
III.3.2. Détermination de l'acidité titrable	27
III.3.3.Détermination du taux de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique (norme AFNOR, 1980).....	28
IV. RESULTATS ET DISCUSSION.....	30
IV.I. Résultats	30
IV.1.1.Analyses microbiologiques	30
IV.1.1.1.L'ben traditionnel	30
IV.1.1.2. L'ben industriel.....	35

IV.1.2. Analyses physico-chimiques de l'ben traditionnel et industriel.....	38
IV.1.2.1. Mesure de pH.....	38
IV.1.2.2. Mesure de l'acidité titrable	39
IV.1.2.3. Mesure de la matière grasse.....	40
IV.2. Discussion	43
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES :	47
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	49
VII. ANNEXES.....	56

I. Introduction

Le corps humain a toujours besoin à un apport calorique pour le bien être en raison de ces besoins. Le lait est un partenaire important de notre alimentation quotidienne et joue un grand rôle dans le régime alimentaire des pays consommateurs. Il représente une source importante d'éléments minéraux, glucides, protéines et lipides (**Senoussi, 2008**).

Cette richesse du lait cru lui rend un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant des mauvaises conditions d'hygiène de la traite ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux.

En effet, le rêve de tout producteur de lait est de garantir une longue conservation du produit au cours du stockage. Cependant, toute interruption de la chaîne du froid, risque de dégrader la qualité du produit. Dans l'optique d'augmenter sa durée de conservation, le lait peut subir de nombreuses transformations (**Vignola, 2002**).

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments. La découverte de leur action sur le lait a été probablement accidentelle et leur utilisation fut perpétuer sous forme de levains naturels (**Chammas et al., 2006 ; Zamfir et al., 2006**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arôme et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production des acides organiques (acides lactiques et acétiques), qui font baisser le pH dans le milieu, et par la synthèse de bactériocines qui renforce cette conservation (**Bekhouche et Bouhalouf, 2005**).

Les besoins algériens en lait sont très importants, en particulier relativement au pays voisins. L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb (**Cherfaoui, 2003**).

Les algériens consomment plus que la moyenne mondiale en matière de lait. En effet l'Office National Interprofessionnel de Lait (ONIL) a déclaré que la consommation annuelle de lait en Algérie est de 5 milliards de litres, dont 3,5 milliards de litres est importé sous forme de poudre de lait subventionnée transformée par les laiteries en lait en sachet (**ONIL, 2018**).

En raison de ces besoins, l'innovation de nouvelles technologies permettant à cet aliment d'être transformé, donnant ainsi naissance à de nombreux produits dérivés (l'ben, yaourt, raïb...etc) (**Senoussi, 2008**).

Notre travail a pour objectifs d'étudier la variabilité de la composition microbiologique et physicochimique de l'ben traditionnel et industriel afin de comparer la qualité des deux types de l'ben.

II. Etude bibliographique

II.1. Définition de « l'ben »

Le lait acidifié, appelé selon les différents zones géographiques : Laban ; L'ben ; Ayran, est un produit de grande consommation au long de saison chaude. Il peut être fabriqué à partir de la poudre de lait de vache ou de lait frais d'origine bovine ou caprine. Il est obtenu par un caillage lactique plus ou moins long, allant de 3h à 18h, selon le caillage, le produit obtenu est d'aspect identique mais de gout et de flaveur très différente (**Luquet, 1986**). C'est un produit liquide de saveur piquante et agréable qui contient un peu d'alcool et d'acide lactique dus à la transformation des éléments de base (**Boudier, 1990**). Ce type de lait fermenté fera l'objet de notre étude.

II.1.1. L'ben traditionnel :

C'est un lait fermenté, préparé traditionnellement et généralement à partir du lait des chèvres, des brebis ou des vaches (**Oteng-Gyang, 1984**).

II.1.2. L'ben industriel :

Il est produit à l'échelle industrielle à partir de lait pasteurisé fermenté. L'acidification est provoquée par ensemencement des ferments lactiques mésophiles. Le lait qui sert à la préparation du l'ben est reconstitué. Il subit une pasteurisation à 84°C pendant 30 secondes, puis refroidi à 22°C et ensemencé de levain lactique (*Streptococcus cremoris* ; *Streptococcus lactis* et *Streptococcus diacetylactis* , *Leuconostoc dextranicum*, *Leuconostoc citrovorum* et *Leuconostoc mesenteroides*) (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

II.2. Les matières utilisées dans la fabrication de l'ben :

II.2.1. Le lait

Le lait est la matière première utilisée dans la fabrication du l'ben. Il est défini comme une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites (**FAO/OMS, 2000**).

En termes microbiologique, le lait est un véritable support pour la croissance microbienne. La flore microbienne du lait est divisée en deux types : des microorganismes existent initialement dans le lait tandis que les autres sont des contaminants de ce produit et peuvent être pathogène (**Vacheyrou et al., 2011 ; Quigley et al., 2013**).

Du point de vue physicochimique, le lait représente une émulsion de matières grasses dispersées dans l'eau, comprenant en suspension des protéines et à l'état dissous des glucides, des minéraux et des autres constituants en quantité minimes telles que les vitamines (**Mathieu, 1998; Perreau, 2014**).

Le tableau ci-après résume les différents composés du lait de vache.

Tableau I : Valeurs nutritionnelles du lait de vache (Lebeuf Y. et al., 2002).

Composants	Teneur
Eau	87,5 %
Glucides	38% de la matière sèche (lactose 50g/l)
Protéines	3,3g/100g de lait (82% de Caséines et 18% Lactosérum)
Matière grasse	3,3 %
Minéraux	0,7 %
Vitamines	0,16 mg de Riboflavine 0,36 µg de Vitamine B12

La teneur énergétique du lait de vache oscille habituellement entre 650 et 720 Kcal/L (**Renner et al., 1989**).

Les caractéristiques et les compositions de chacune des phases constituantes du lait sont très variables car elles dépendent de nombreux facteurs inhérents au mammifère (espèces et race). A son état physiologique (stade de lactation, gestation), à son état sanitaire et à la conduite du troupeau (**Croguennec et al., 2008**).

En général, le lait de vache contient une population importante des bactéries lactiques qui comprend : les *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Enterococcus* spp. Un certain nombre d'autres microorganismes peuvent être présents dans le lait en proportions importantes. Ceux-ci comprennent les bactéries psychotropes ; tel que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Aeromonas* spp. , qui fleurissent pendant le stockage du lait (**Quigley et al., 2013**).

II.2.1.1. Le lait crû

Le maintien du lait dans des citernes propres et la conservation dans le réfrigérateur juste après la traite peuvent retarder l'augmentation de la charge microbienne initiale et éviter la multiplication des micro-organismes dans le lait entre la traite à la ferme et le transport vers l'usine de transformation (**Adesiyun, 1994 ; Bonfoh *et al.*, 2003**).

II.2.1.2. La poudre de lait

Les poudres de lait sont des produits résultant de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres de lait en trois groupes:

Poudre de lait écrémé ($MG \leq 1,2\%$) ; sa fabrication nécessite un écrémage du lait cru à 50-60°C avec des séparateurs centrifugeurs, la crème obtenue se transforme en beurre

Poudre de lait entier ($MG \geq 26\%$) ; obtenue par l'élimination de l'eau du lait entier, par un processus d'évaporation et de séchage.

Poudre de lait partiellement écrémé ($1,3\% \leq MG \leq 25,9\%$) ; sa fabrication est similaire à celle de la poudre de lait écrémé (**Vignola, 2002**).

II.2.2. L'eau

Selon **Bylund (1995)**, l'eau doit être dépourvu de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable $CaCO_3 < 100$ mg/l. Une teneur excessive en matière inorganique menace l'équilibre des sels du produit reconstitué ou recombinaison ce qui pose des problèmes au niveau de la pasteurisation. Trop de cuivre ou de fer dans l'eau peut introduire des goûts atypiques à cause de l'oxydation de la matière grasse.

II.2.3. La matière grasse laitière anhydre (MGLA)

Dans la majorité des cas, les usines de reconstitution utilisent des huiles de beurre ou des matières grasses laitières anhydres (MGLA). Cette dernière ne peut être obtenue qu'à partir du lait frais, par le stade crème ou beurre non mûri alors que les huiles de beurre sont fabriquées à partir du beurre de stockage. La MGLA et les huiles de beurre ont une composition voisine, le taux d'humidité maximale est de 0,1%, la teneur en matière grasse minimale est de 99,8%, les acides gras libres sont au maximum de 0,3%, la teneur maximale en cuivre est de 0,05ppm, la teneur maximale en fer est de 0,2 ppm (**Cherrey, 1980**).

II.3. L'intérêt nutritionnel du l'ben

Le lait fermenté a des avantages technologiques, tels que : l'amélioration du goût, de l'arôme, de texture et de la stabilité du produit. De nombreux effets bénéfiques résultent des bactéries lactiques, notamment des effets nutritionnels et thérapeutiques (**Drouaut, 2001**).

Les produits laitiers fermentés sont reconnus comme source importante de protéines digestibles, vitamine A, Calcium (67%), fer (6%), cuivre, zinc, magnésium (15-20%) et de phosphore (39%) (**Debry, 2001 ; Martin, 2003**).

Le dosage du « Ca^{2+} » et du « Mg^{2+} » solubles dans les laits fermentés montre que quel que soit la souche bactérienne utilisée, on observe une augmentation de la solubilité de ces minéraux, donc de leur biodisponibilité. La biodisponibilité des sels minéraux, permet une meilleure assimilation du calcium que dans le lait (**Duplus et al., 1994**).

Les avantages nutritionnels comprennent une amélioration de la digestibilité des protéines et de la matière grasse, suite à la libération des acides aminés et des acides gras par les bactéries lactiques. L'homogénéisation rend également la matière grasse du lait plus digeste et la teneur en vitamines hydrosolubles augmente (B1, B2, B6 et acide folique) à partir de la synthèse des bactéries lactiques (**Feiuet, 1998**).

II.4. Le procédé de fabrication du l'ben traditionnel

L'ben traditionnel est un lait fermenté, apprécié par les consommateurs pour son goût frais, acide et son arôme incomparable. Ces caractéristiques sont principalement liées à l'activité des bactéries lactiques de type mésophile. La préparation du l'ben se fait avec la coagulation acide du lait raib dans un intervalle de temps de 24 à 72h selon la saison. Le raib peut être consommé en tant que tel ou soumis à l'écémage pour obtenir le l'ben et le beurre frais. Le barattage est effectué manuellement dans la peau d'une chèvre ou brebis appelé chekoua. La peau est traitée pour former un sac imperméable avec des différentes ouvertures. L'écémage est effectué la matinée. La chekoua est à moitié pleine de raib et agitée vigoureusement pendant environ une demi-heure. La formation de l'agrégation des globules de gras (beurre), nécessite généralement l'ajout de l'eau, qui peut être chaude ou froide selon la température du lait, le beurre frais est enlevé en un seul morceau. Le liquide résiduel à la fin de ce processus est appelé « l'ben ». Actuellement le barattage manuel traditionnel est remplacé par l'utilisation de machines électriques permettant de réduire l'effort physique et d'augmenter l'hygiène (**Claps et Morone, 2010**).

II.5. Le procédé de fabrication du l'ben industriel

II.5.1. La réception du lait crû

Lors de l'arrivée des citernes du lait cru à l'unité laitière et avant la réception, un échantillon est prélevé pour estimer sa qualité physico-chimique (**JORA, 1993**). Le lait cru peut être utilisé directement pour fabriquer le l'ben à base 100% lait cru ou recombinaison avec le lait en poudre (entier et écrémé) pour fabriquer le l'ben reconstitué, le choix de ces deux variétés de l'ben dépend de la quantité disponible en lait cru.

II.5.2. La préparation du lait

Cette opération comprend les étapes suivantes :

a) La reconstitution

Les opérations de reconstitution ou de recombinaison sont à distinguer selon qu'il s'agit d'addition d'eau à une seule ou plusieurs matières premières déshydratées, poudre de lait entier avec poudre de lait écrémé et pour obtenir un lait de matière grasse désirée. La température recommandée est de 35 à 45°C. A cette température, la poudre possède une meilleure mouillabilité et dissolvabilité (**Avezard et Lablee, 1990**).

b) Le préchauffage

Le lait est préchauffé à une température (63 à 65°C/15s) inférieure à la température de pasteurisation, pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries (**Gosta, 1995**).

c) Le dégazage

Cette opération a pour but de permettre une meilleure homogénéisation et d'éliminer une partie des odeurs caractéristiques des laits reconstitués. Le dégazage se fait généralement à 75°C avec une chute de température de l'ordre de 8 à 10°C (**Avezard et Lablee, 1990**).

d) La standardisation

La standardisation peut se faire en cuve ou en continu. Il s'agit de mélanger du lait écrémé, du lait entier ou encore de la crème dans les proportions calculées pour en arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange (**Vignola, 2002**).

e) L'homogénéisation

Elle présente l'avantage de stabiliser l'émulsion de la matière grasse uniformément dispersée dans tout le liquide, en plus, elle donne au lait une saveur caractéristique et une texture plus douce et plus onctueuse pour la même teneur en matière grasse dans le lait, en plus réduire sa sensibilité à l'oxydation de la matière grasse (**Vignola, 2002**). L'homogénéisation se fait entre 60 et 70°C et à une pression de 100-250 bars (**Gosta, 1995**).

f) La pasteurisation

Elle se fait dans un échangeur à plaque à une température 90°C/30s (**Cheftel, 1976**).

g) Le refroidissement

Le lait ainsi pasteurisé est ramené à la température d'ensemencement des bactéries lactiques mésophiles, entre 22 et 26°C.

II.5.3. Le développement de la fermentation

Appelée généralement phase d'acidification, elle comporte trois étapes :

a) L'ensemencement

C'est l'inoculation des souches caractéristiques du produit, il doit se faire à un taux suffisamment élevé, pour obtenir une acidification désirée (**Boudier, 1990**).

L'ensemencement se fait par des bactéries lactiques homofermentaires (*Lactobacilles*, *Streptococcus lactis* et *Streptococcus cremoris*), les bactéries lactiques permettent la transformation de plus de 90% du lactose en acide lactique, alors que dans le cas des bactéries lactiques hétérofermentaires (*Leuconostoc*) environ 50% du lactose est converti en acide lactique, le reste donne des produits divers comme le dioxyde de carbone et l'éthanol (**Goursaud, 1985**).

b) L'incubation

La phase d'incubation correspond au développement de l'acidité dans le produit, elle dépend de deux facteurs, la température et la durée. On choisira une température proche de la température de développement des micro-organismes d'ensemencement (**Boudier, 1990**) (**Annexe I**).

II.5.4. Le conditionnement et le stockage

Le lait refroidi passe à la conditionneuse où se fait le remplissage des bouteilles en plastique à un volume d'un litre et qui seront ensuite transférées dans une chambre froide à 4°C - 6°C.

II.6. La qualité nutritionnelle de l'ben

L'obtention reproductible de produit d'excellente qualité gustative, nutritionnelle et sanitaire est le principal problème qui rencontre les industriels et les producteurs artisanaux. En effet, de nombreux paramètres influent sur le bon déroulement de la fermentation : La matière première, dont la qualité varie considérablement en fonction des saisons, de l'origine et de la manière qu'avec ces matières ont été traitées avant leur transformation. Les micro-organismes qui peuvent se développer naturellement ou êtreensemencés (**Renault, 1998**).

L'ben est un produit alimentaire renfermant une qualité nutritionnelle très importante.

Le tableau ci-après résume les plus importants composants du l'ben industriel et traditionnel.

Tableau II: La qualité nutritionnelle de l'ben traditionnel et industriel (**Renault, 1998**).

La composition	L'ben industriel g /100g	L'ben traditionnel g/100g
Protéines	3,7	2,26
Glucides	2,9	2,69
Lipides	4,9	1,8

II.7. Les propriétés physico-chimiques de l'ben

Le tableau (III) résume les propriétés physico-chimiques de l'ben industriel et traditionnel (**Annexe II**).

Tableau III: Propriété physico-chimique de l’ben traditionnel et industriel.

Propriétés	pH	L’acidité (°D)	L’extrait sec totale g/l
L’ben industriel (JORA, 1993).	4,40 à 4,60	75 à 85	109 à 111
L’ben traditionnel (Boubekri et al., 1984).	3,8 à 4.7 (moyenne 4,24)	63 à 110 (moyenne 81.6)	79,8 à 100,5 (moyenne 88.96)

II.8. Les propriétés microbiologiques de l’ben

II.8.1. Les caractéristiques des différents genres des ferments lactiques

Selon **Sutra et Fedirighi (1998)**, les ferments lactiques, comportent quatre genres principaux : *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*.

II.8.1.1. *Streptococcus* sp.

Il est constitué par des Streptocoques homofermentaires. Ce sont des cocci à Gram positif asporulés, groupés par paire ou en courte chaîne. Ces streptocoques jouent un rôle de conservateur dans le lait. *S.thermophilus* est la seule espèce à intérêt industriel et nutritionnel du groupe *Streptococcus* (**Dellaglio et al., 1994**).

II.8.1.2. *Leuconostoc* sp.

Les cellules de *Leuconostoc* sont des cocci en paire ou en chaîne comme les Streptocoques, mais ces bactéries sont hétérofermentaires (**Novel, 1993**). Deux espèces prédominent : *L. dextranicum* et *L. mesentroides* (**Leyral et Vierling, 2007**). Les *Leuconostoc* (*Lactis, cremoris, dextranicum*) ne sont pas nuisibles mais rendent les denrées répugnantes pour le consommateur (**Sutra et Fedirighi, 1998**).

II.8.1.3. *Lactobacillus* sp.

Ce sont des agents de fermentation très utilisés en laiterie, les lactobacilles peuvent acidifier le lait jusqu’à un pH inférieur à 3,5. Ils proviennent aussi bien des produits d’origine animale que végétal en fermentation (lait, ensilage). Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trois groupes : homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts (**Schleifer et Ludwig, 1996**). *L. bulgaricus* est utilisé dans la fabrication des laits fermentés, *L.casei* dans celle de fromage, *L. cremoris* dans celle de la crème et *L. lactis* dans celle du beurre. Ils peuvent jouer un rôle dans l’aromatization (**Nannen et Huntkins, 1991**).

II.8.1.4. *Lactococcus* sp.

Le genre *Lactococcus* correspond au groupe des streptocoques lactique de **Sherman(1937)**. Le *Lactococcus* est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de cocci, sont associées par paires ou en chainettes de longueur variable (**El-Ghaish et al., 2011**). La principale espèce est *L. lactis*. Parmi les *L. lactis*, deux sous espèce et un biovariant prédominant en fermentation laitière : *L. lactis subsp. Lactis (L.lactis)*, *L.lactis subsp. Cremoris (L.cremoris)* et *L.lactis subsp. Lactis biovar. Diacetyllactis (L. diacetyllactis)*. Les souches sont sélectionnées pour leur aptitude à acidifier le lait, à travers leur métabolisme homofermentaire et former des arômes (**Sherman, 1937**).

II.8.2. Le rôle des ferments lactiques

Ce sont des germes qui conditionnent l'évolution ultérieure du lait. Ils jouent un rôle important car :

- Ils possèdent un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des microorganismes pathogènes ou d'altération (**Larpen, 1997**).
- L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leur activité et voies métaboliques (**Hylckama et Huguen, 2007**).
- Les ferments contribuent également à la caractéristique organoleptique, nutritionnelle et sensorielle des produits et à leur sûreté (**Dortu et Thonart, 2009**).
- Ils accroissent la qualité marchande du lait caillé par une fermentation lactique aromatisante (**Badis et al., 2005**).

II.9. La flore microbienne indésirable

Le non-respect des règles d'hygiène lors de la production de l'ben augmente le risque de prolifération des microorganismes (**katinan et al., 2012**).

II.9.1. La flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : les coliformes totaux et fécaux, salmonelle, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, les levures et les moisissures (**Essalhi, 2002 ; Katinan et al., 2012**).

- **Les coliformes**

Les coliformes sont des entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, ils peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale comme les entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique (**Guiraud, 2003**).

II.9.2. La flore pathogène

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'homme (**Brisabois et al., 1997**). Parmi ces germes :

- **Bactéries infectieuses :**

- **Les salmonelles**

Ces entérobactéries ne fermentent pas le lactose, elles sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie et leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et 40°C. Elles survivent aux basses températures et résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 s). Elles sont capables de se multiplier dans une gamme de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique (**Jay, 2000 et Guy, 2006**).

- **Bactéries toxinogènes :**

- **Les staphylocoques**

Ce sont des cocci à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles (**Leyral et Vierling, 2007**). Ils se trouvent assez fréquemment dans le lait et parfois, en nombre important. L'origine de la contamination est l'infection mammaire et peut être plus fréquemment, l'homme. Leurs fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance, ils provoquent par leur production des toxines thermostables, des intoxications de gravité variable pouvant être redoutable chez l'enfant (**FAO, 2007**).

Pour cela, les normes exigent leur absence dans les produits alimentaires (**JORA, 1998**).

II.10. Les modifications de l'ben au cours du stockage

Les modifications du l'ben au cours du stockage sont regroupées sous 3 catégories principales et qui sont : la modification du gout, de l'apparence et de la texture (tableau IV).

Tableau IV : Les modifications de l'ben au cours de stockage.

Les types de modification	Les défauts	Les causes
Le gout	L'acidité excessive (Boudier, 1990 ;Weber, 1994).	-Maturation trop poussée du lait. -Conservation du produit à température élevée.
	L'amertume (Moller, 2000).	-Hydrolyse des caséines.
La texture	Trop liquide (Boudier, 1990).	-Mauvaise incubation (temps trop faible). -La teneur en matière sèche trop faible.
	La texture granuleuse (Boudier, 1990).	-Teneur en matière grasse trop élevée. -Mauvais choix des ferments.
L'apparence	La décantation (synérèse) (Boudier, 1990).	-Température trop élevée pendant le stockage. -La teneur en matière sèche trop faible.
	La production du gaz (Boudier, 1990).	-Contamination par les levures ou les coliformes.

III. Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire de répression des fraudes : Centre Algérien de control de qualité et d'emballage « CACQE » à Beni Mared pendant le mois de Mars 2020 dans lesquels nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques et physicochimiques sur un échantillon de l'ben traditionnel et 01 échantillon de l'ben industriel afin d'étudier la qualité microbiologique et physicochimique de ces produits à consommation humaine.

III.1 Matériel

III.1.1 Matériel non biologique

Les différents équipements, produits et réactifs utilisés dans notre étude sont dressés dans l'Annexe IV, V et VI.

III.1.2 Matériel biologique

Au cours de notre étude, le matériel biologique est composé de l'ben traditionnel et industriel.

III.1.2.1 Echantillonnage

Les échantillons de l'ben traditionnel et industriel ont été prélevés aseptiquement. Un nombre d'unités précis avec un volume de 200mL pour chacune afin de réaliser les tests microbiologiques et physicochimiques (Tableau V).

Tableau V: Type, nombre et région des échantillons analysés.

Type de l'ben	Echantillon	Nombre d'unités pour l'étude microbiologique	Nombre d'unité pour l'étude physicochimique	La région
L'ben traditionnel	1	5	2	Mouzaia
L'ben industriel	1	5	2	Mouzaia

Les échantillons ont été mis dans des flacons stériles en verre et sont soigneusement étiquetés (lieu, date de prélèvement, origine, ...etc.) et acheminés directement au laboratoire dans une glacière à 4°C.

III.2. Méthodes microbiologiques

III.2.1. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

III.2.1.1 Préparation de la solution mère

A. Principe

La suspension mère (première dilution) est une émulsion obtenue après qu'une quantité mesurée du produit analysé a été mélangée avec une quantité neuf fois égale de diluant.

B. Mode opératoire

10 ml de l'échantillon (l'ben) ont été homogénéisés à l'aide d'un vortex avec 90 ml de Tryptone Sel Eau (TSE). Cette suspension constitue alors la solution mère (SM).

III.2.1.2 Préparation des dilutions décimales

A. Principe

Des solutions obtenues en mélangeant un volume mesuré de la suspension mère avec un volume neuf fois égal de diluant TSE et en répétant cette opération sur les dilutions suivantes, jusqu'à l'obtention d'une gamme de dilutions décimales appropriées pour l'inoculation des milieux de culture.

B. Mode opératoire

- A l'aide d'une pipette stérile, transvaser 1 ml de la suspension mère dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE à une température appropriée.
- Pour une précision optimale, ne pas introduire la pipette dans la suspension mère de plus de 1 cm.
- Eviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile.
- Mélanger soigneusement la prise d'essai et le diluant, en utilisant de préférence un agitateur mécanique pendant 5 s à 10 s, pour obtenir la dilution 10^{-1} . Si nécessaire, répéter ces opérations sur la dilution 10^{-1} et les dilutions décimales suivantes en utilisant pour chaque dilution une nouvelle pipette stérile.

III.2.2. Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique du l'ben est une étape importante qui vise d'une part à conserver les caractéristiques organoleptiques et sensorielles, donc d'allonger sa durée de vie

et d'autre part à prévenir les cas d'intoxication alimentaire liée à la présence des microorganismes pathogènes avant la transmission au consommateur.

L'analyse microbiologique du l'ben consiste à la recherche et /ou le dénombrement d'un certain nombre de microorganismes susceptibles d'être présents. Les analyses effectuées sur l'ben traditionnel sont portées sur :

- La recherche et le dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.
- La recherche et le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.
- La recherche de *Salmonella* sp.

Et les analyses microbiologiques effectuées sur l'ben industriel sont portées sur :

- La recherche et le dénombrement des germes aérobies à 30°C.
- La recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*.
- La recherche de *Salmonella* sp.

III.2.2.2 Analyse microbiologique de l'ben traditionnel

A. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

A.1.Principe

Après réalisation de la solution mère et les dilutions décimales, Le dénombrement des coliformes se fait sur le milieu solide VRBL (Violet cristal Rouge neutre Bile Lactosée) et la confirmation sur milieu liquide bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

Le milieu VRBL estensemencé en masse avec un inoculum de 1 ml de chaque dilution, les boites sont incubées pendant 24 h, à 30°C ou 37°C.

A.2. Mode opératoire

- Prendre des boites stériles.
- Transférer à l'aide d'une pipette stérile dans chaque boite 1ml de l'échantillon à essayer.
- Recommencer, cette opération avec les dilutions qui suivent à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution.

- Couler dans chaque boîte de pétri environ 15ml de VRBL à une température comprise entre 44°C et 47°C.
- Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser se solidifier.
- Ajouter une couche d'environ 4ml du milieu VRBL et laisser se solidifier.
- Retourner les boîtes ainsi préparées et les incuber dans une étuve réglée à 30°C ou 37°C pendant 24H±2h (Figure1).

A.3. Comptage des colonies

Sélectionner les boîtes de Pétri ayant un nombre compris entre 10-150 colonies et procéder au comptage des colonies violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm (parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile).

Ces colonies sont considérées comme des colonies typiques de coliformes et ne nécessitent pas de confirmation.

A.4. Test de confirmation

La confirmation des colonies atypiques (taille plus petites) s'effectue par l'inoculation de 5 colonies atypiques dans des tubes BLBVB et les incuber à 30°C ou 37°C pendant 24 h±2h.

On considère les colonies présentant une formation de gaz dans les cloches de DURHAM comme des coliformes totaux (tenir compte de ces résultats dans le calcul).

A.5.Expression des résultats

Après homogénéisation de la série de dilution décimale de 1/10 préparées à partir de la solution mère, selon la formule suivante :

$$\text{Loi de dilution : } \frac{\text{volumed'inoculum}}{\text{volumetotal}} = \frac{1\text{ml}}{1\text{ml}+9\text{ml}} = \frac{1}{10} \text{ml} = 10^{-1}\text{ml}$$

Lorsque la méthode utilisée nécessite une confirmation, un nombre déterminé **A** (en générale 5) de colonies caractéristiques présumées est confirmé à partir de chacune des boîtes retenues pour le comptage de colonies. Après confirmation, calculé, pour chacune des boîtes, le nombre **a** de colonies répondant aux critères de confirmation à l'aide de la formule suivante :

$$a = \frac{b}{A} \times C$$

Où :

b : est le nombre de colonies répondant aux critères de confirmation parmi les **A** colonies identifiées.

C : est le nombre total de colonies caractéristiques présumées comptées sur la boîte.

Et le nombre de bactérie par ml est calculé selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum a}{V \times 1, 1 \times d}$$

Où :

$\sum a$: est la somme des colonies répondant aux critères de confirmation comptées sur les deux boîtes retenues de deux dilutions successives.

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

B. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants

B.1.Principe

Le principe consiste à ensemencer en profondeur un milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre et au lactose (VRBL) avec une quantité déterminée de l'échantillon à essayer ou avec les dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

B.2. Mode opératoire

Le mode opératoire est similaire à celui de la mise en évidence des coliformes totaux sauf que la température d'incubation est élevée à 44 °C pour les coliformes thermorésistants (Figure 1).

B.3.Comptage des colonies

Après la période d'incubation spécifiée le comptage des colonies caractéristiques de coliformes thermotolérants pour chaque boîte ne contenant pas plus de 150 colonies au total. Au-delà de ce chiffre, les colonies de coliformes thermotolérants risquent de prendre des aspects non caractéristiques.

Après 24 h d'incubation, les colonies caractéristiques sont violacées, d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile.

B.4.Expression des résultats

L'expression des résultats se fait selon la loi précédemment expliquée pour les coliformes totaux.

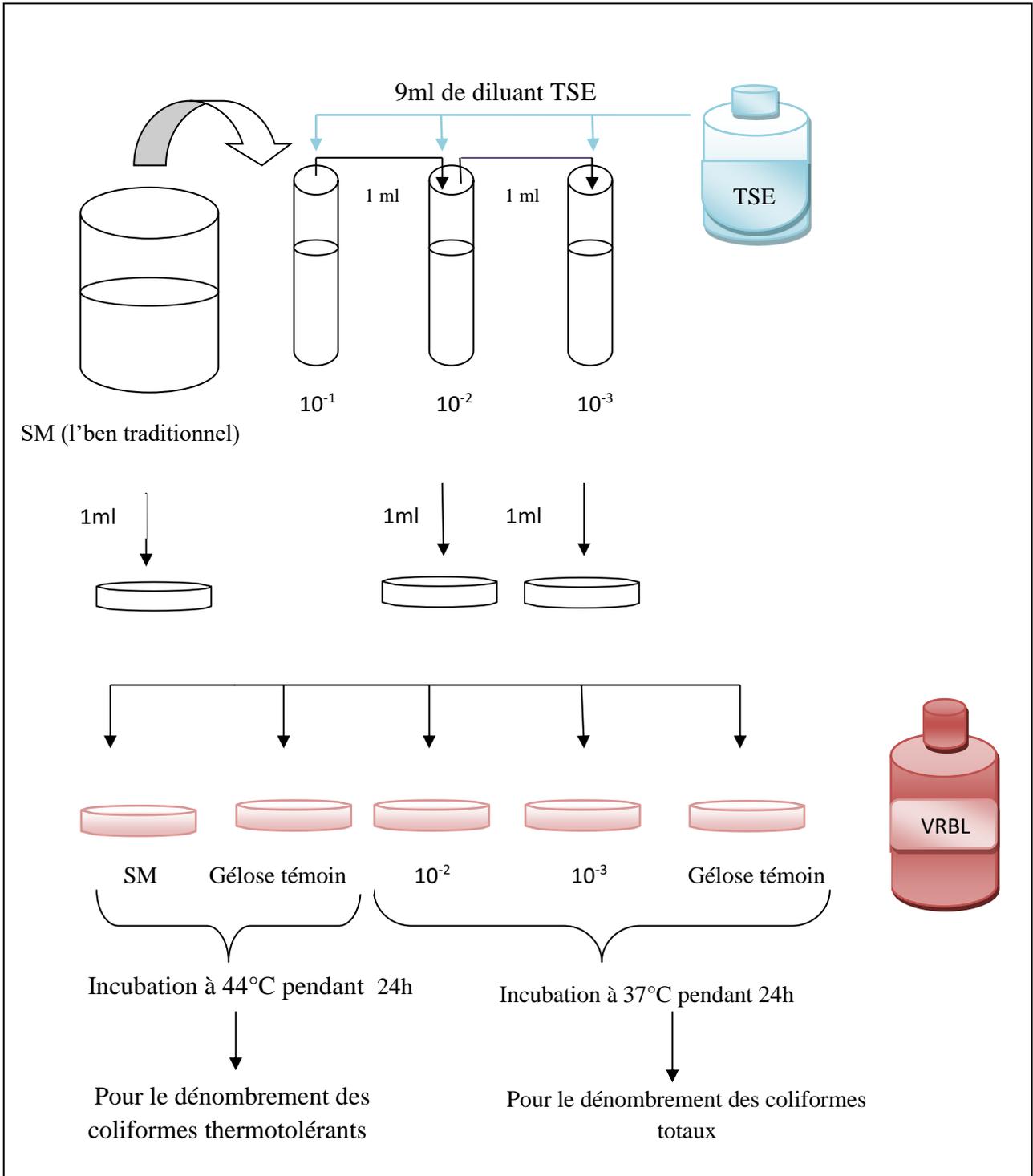


Figure 1: Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.

C. Recherche des staphylocoques à coagulase positive

C.1. Principe et mode opératoire

La mise en évidence des staphylocoques à coagulase positif consiste à transférer à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml de l'échantillon dilué à la surface de chacune des boîtes contenant le milieu gélosé Baird Parker (BP).

Ensuite, on étale soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte.

On laisse sécher les boîtes, avec leur couvercle en place, pendant, environ, 15 min à la température ambiante, on retourne les boîtes préparées et on les incubent pendant 24 h dans l'étuve à 35°C ou 37°C (Figure 02).

C.2. Comptage des colonies

Après 24 h d'incubation, on marque sur le fond des boîtes les positions des colonies caractéristiques éventuellement présentes. On ne retient pour le dénombrement que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques.

C.3. Expression des résultats

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

$\sum c$: Somme des colonies de staphylocoques caractéristiques sur l'ensemble des boîtes retenues.

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres.

$n1$: Nombre de boîtes retenues à la première dilution.

$n2$: Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution.

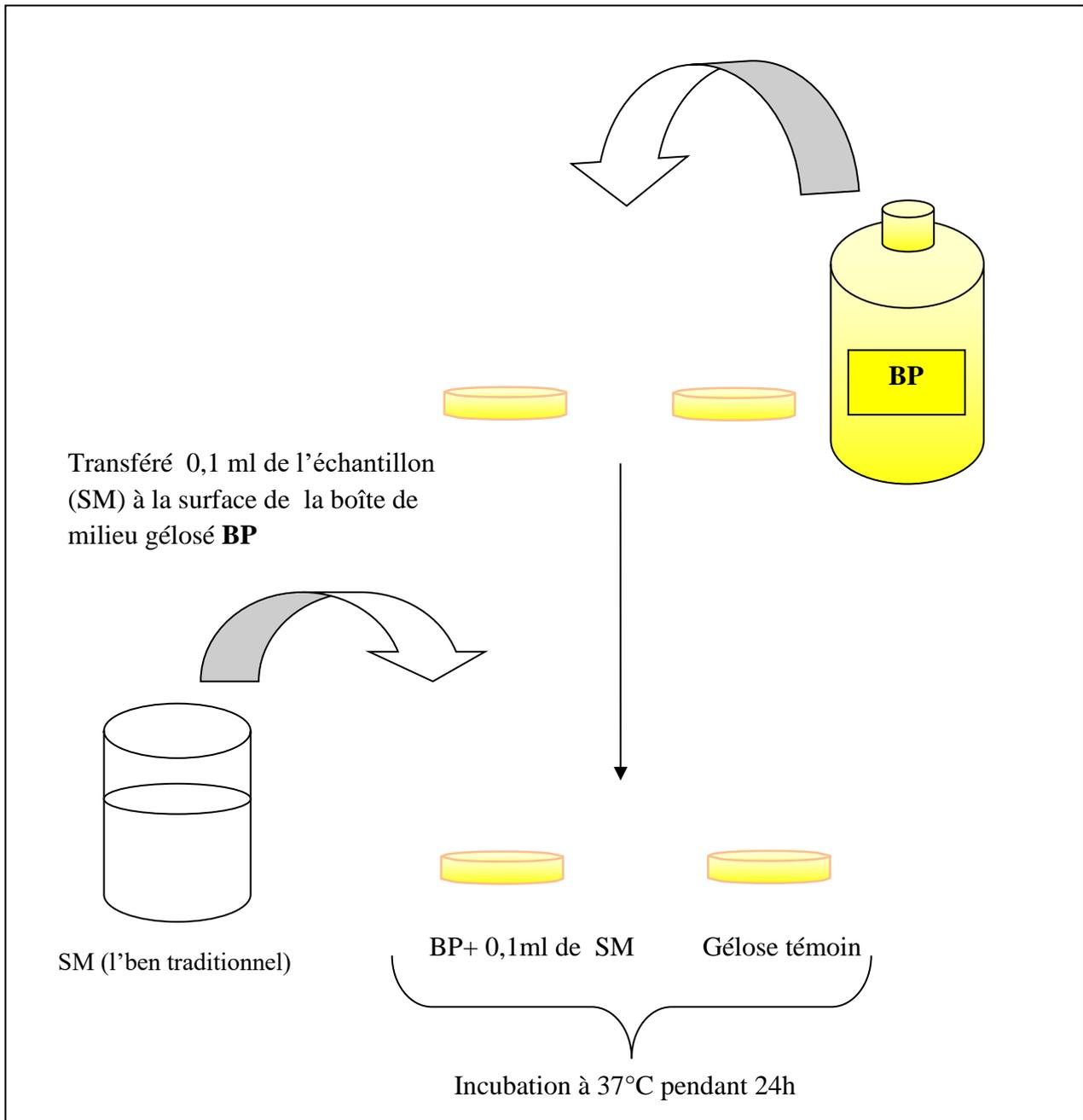


Figure 2: Recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase + .

D.Recherche de *Salmonella* sp.

D.1.Principe

Après la réalisation de la solution mère à partir de différentes unités du même échantillon de l'ben pour obtenir un poids final de l'échantillon total estimé de 25g, la présence ou l'absence de *Salmonella* sp. dans 25ml d'échantillon s'illustre après une série

d'étapes (pré-enrichissement, enrichissement, isolement et identification et enfin la confirmation).

D.2.Mode opératoire

La recherche de *Samonella* sp. à été réalisée selon la méthode et la réglementation Algérienne décrites dans **l'Arrêté du 5 Février 2017 publié dans le JORA n° 44 du 23 Juillet 2017.**

La recherche de ces bactéries s'effectue en trois étapes :

- Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide : Ensemencement de la prise d'essai (25g de l'ben) dans 225ml d'eau peptonée tamponnée à la température ambiante, puis incubation à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$.
- Enrichissement en milieux sélectifs liquides : Ensemencement du bouillon Rappaport-Vassiliadis avec Soja (bouillon RVS) et d'un bouillon Muller-Kauffmann au Tétrathionate-novobiocine (MKTTn) avec la culture obtenue dans le pré-enrichissement, on rajoute 1ml de culture dans les tubes préparés des milieux précédents. Incubation du bouillon RVS à $41,5\text{ °C}$ pendant 24 h et du bouillon MKTTn à 37 °C pendant 24 h.
- Isolement et identification : A partir des cultures obtenues dans l'étape de l'enrichissement, ensemencement de milieu sélectif solide gélose Xylose Lysine Désoxycholate (gélose XLD) se fait par des stries serrées après le prélèvement d'une goutte du milieu d'enrichissement.
- Incubation du milieu gélose XLD à 37 °C puis examen après 24 h.
- Confirmation : Repiquage des colonies présumées de *Salmonella* sp. isolées dans l'étape précédente et confirmation au moyen des tests biochimiques et sérologiques appropriés.

D.3.Expression des résultats

Présence ou absence de *Salmonella* sp. par rapport au volume total d'échantillon analysé.

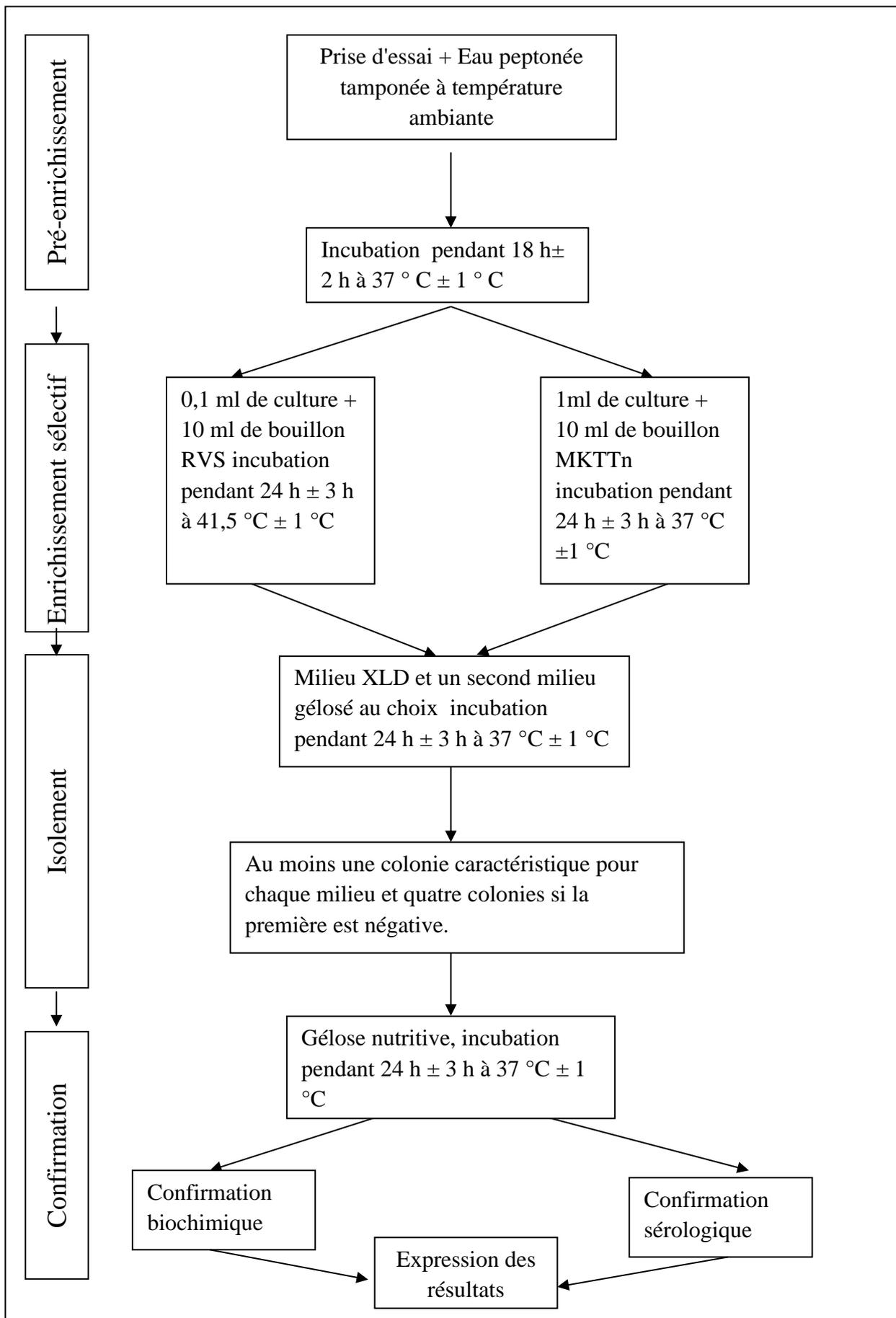


Figure 3: Organigramme résumant le mode opératoire de la recherche des salmonelles.

III.2.2.1 Analyse microbiologique de l'ben industriel

A. Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C

A.1. Principe

La flore aérobie est un bon indicateur de la qualité globale du produit. L'ensemencement peut se faire sur divers milieux, il conviendra de choisir le milieu le plus adéquat au type de produit analysé. De même, on choisira les dilutions à ensemercer selon le niveau de contamination du produit et les normes qu'on se fixe. On prendra soin d'ensemencer trois boîtes par dilution. Le milieu le plus couramment utilisé est le PCA (Guiraud, 1996).

A.2. Mode opératoire

La recherche de la flore aérobie s'effectue selon les étapes suivantes :

- Préparer les boîtes de Pétries stériles.
- Ensemencer les boîtes par un inoculum de 1 ml à partir de chaque dilution (10^{-2} , 10^{-3}).
- Couler la gélose PCA maintenue en surfusion à (45°C).
- Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires.
- Après solidification, les boîtes sont retournées puis incubées à 30°C pendant 72 h.

A.3. Comptage des colonies

La flore aérobie apparaît sous forme de colonies blanchâtres de tailles et de formes différentes.

A.4. Expression des résultats

L'expression des résultats se fait selon la loi précédemment expliquée pour les coliformes totaux.

B. Recherche et dénombrement des *Enterobacteriaceae*

B.1. Principe

Le dénombrement des entérobactéries se fait sur milieu solide le VRBG (violet cristal rouge neutre bile glucosée). On a utilisé le milieu VRBG en ensemençant un inoculum de 1 ml en masse de chaque dilution, les boîtes sont ensuite incubées pendant 24 h, à 37°C.

B.2.Mode opératoire

La recherche des entérobactéries s'effectue selon les étapes suivantes :

- Préparer les boîtes de Pétri stériles
- Introduire dans les boîtes un inoculum de 1ml de la solution mère (SM)
- Couler la gélose VRBG en dessus.
- Homogénéiser avec des mouvements circulaires.
- Après solidification, incuber à l'étuve pendant 24 heures, à 37°C (Figure 04).

B.3.Comptage des colonies

Apparition des colonies rondes de couleur pourpre de 1 à 2 mm de diamètre entouré d'un halo pourpre.

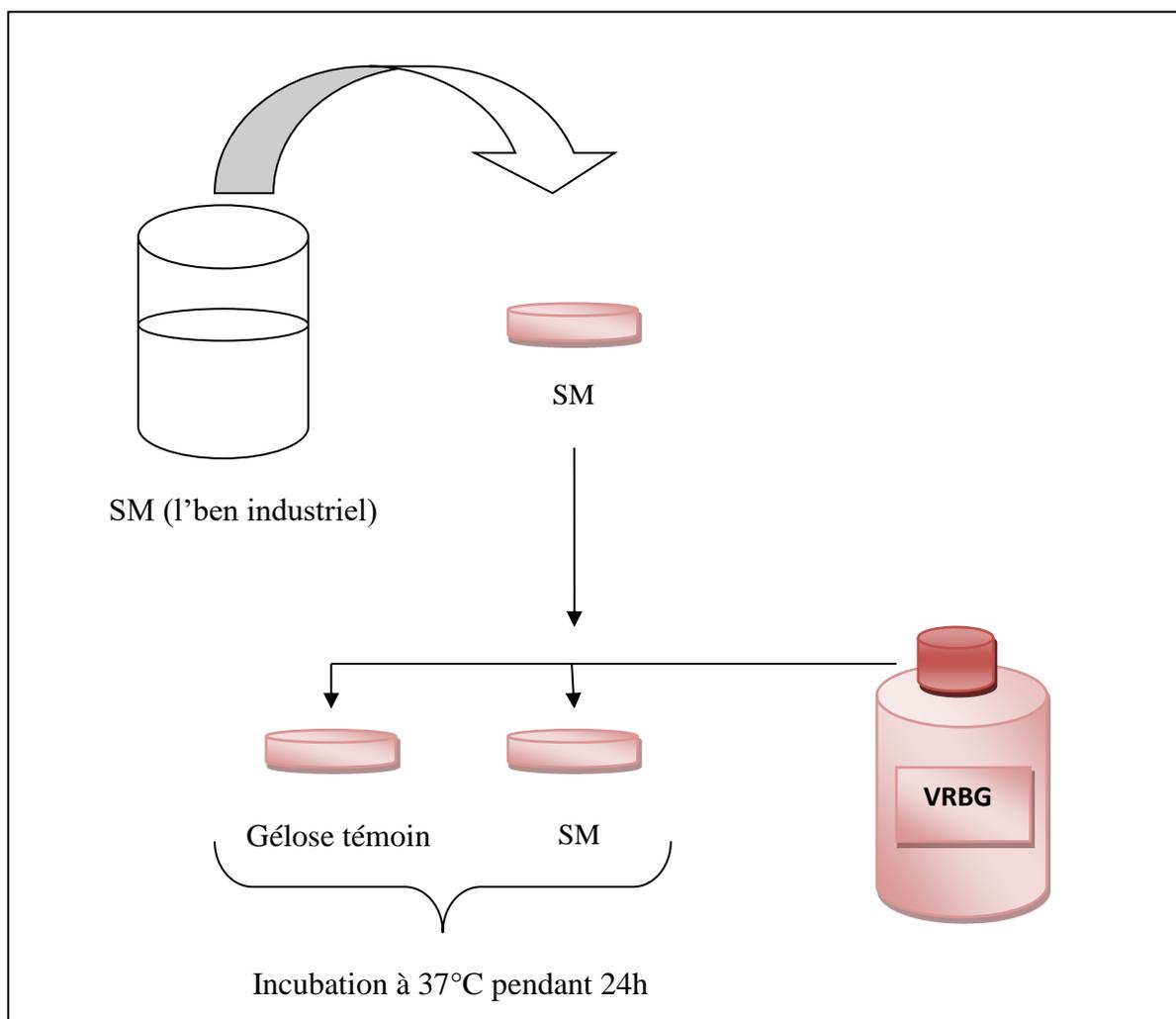


Figure 4: Recherche et dénombrement des *Enterobacteriaceae*.

C.Recherche de *Salmonella* sp.

On a utilisé la même méthode pour la recherche de *Salmonella* sp. dans le l'ben traditionnel.

III.3 Méthodes physicochimiques

III.3.1.Détermination du pH

Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions hydrogènes (H⁺) contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du l'ben.

a) Principe

La mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH-mètre, qui est un appareil électronique muni d'une électrode qui renferme une solution aqueuse acide, et comporte une membrane de verre spéciale perméable aux ions hydrogènes. La différence entre l'électrode et les protons du l'ben est convertie en une différence du potentiel électrique. Le pH mètre transforme cette différence de potentiel en unités du pH (Vignola, 2002).

b) Mode opératoire

Avant de prendre les mesures, on nettoie l'électrode du pH-mètre avec de l'eau distillée et on le sèche par un papier buvard. Ensuite on introduit l'électrode dans un bécher contient un volume nécessaire de l'ben jusqu'à stabilisation de la valeur du pH.

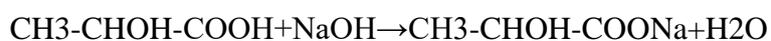
c)Expression des résultats

La valeur de pH du produit analysé est lue directement sur le pH-mètre et elle est exprimée par deux chiffres après la virgule.

III.3.2. Détermination de l'acidité titrable

a)Principe

La détermination de l'acidité titrable est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude (NaOH 1/9N) en présence de la phénolphtaléine (1%), comme indicateur coloré, qui indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle) selon l'équation suivante :



Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 ° D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de l'ben (**Mathieu, 1998**).

b) Mode opératoire

La détermination de l'acidité titrable de l'ben s'effectue selon les étapes suivantes :

- 10 ml de l'échantillon sont préparés dans un bêcher de 100 ml.
- Ajouter à la solution 0,1 ml de la solution de phénolphtaléine à 1%.
- Titrer avec la soude (NaOH 0,1N) jusqu'au virage de couleur vers le rose de la solution qui doit persister pendant une dizaine de secondes.

c) Expression des résultats

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

$$A = \frac{V}{PE} \cdot 0,9$$

A : Acidité titrable

V : volume en ml de solution d'hydroxyde de sodium (soude Dornic).

PE : Prise d'essai

III.3.3. Détermination du taux de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique (norme AFNOR, 1980)

a) Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amylque, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux adéquat.

b) Mode opératoire

La détermination du taux de la matière grasse dans le l'ben s'effectue selon les étapes suivantes :

- Introduire dans le butyromètre de GERBER ; 10 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄).

- Ajouter un volume de 11ml de l'échantillon à l'aide d'une pipette graduée en l'écoulant à travers les parois pour éviter le mélange prématuré du l'ben avec l'acide.
- Ajouter 1ml d'alcool iso-amylque.
- Fermer le butyromètre à l'aide d'un bouchon.
- Mélanger jusqu'à la dissolution totale du mélange.
- Centrifuger pendant 7 à 10 minutes à 1100 tours / min.
- Introduire le butyromètre dans un bain marie à 65 °C pendant 3 à 10 min.

c)Expression des résultats

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

$$MG = (B - A)$$

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

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

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats

Dans ce chapitre nous détaillerons les résultats microbiologiques et physico-chimiques obtenues suite de l'étude réalisée sur le lait fermenté (l'ben) traditionnel et industriel. En utilisant le logiciel Excel 2007 pour présenter les résultats sous forme d'histogrammes.

IV.1.1. Analyses microbiologiques

Au cours de notre étude, nous avons pu travailler sur un seul échantillon de l'ben traditionnel comparé avec un seul échantillon de l'ben industriel. Cette analyse renseigne sur l'état microbiologique des deux échantillons de l'ben. Le dénombrement de certains germes donne une idée globale sur le niveau de contamination du produit analysé.

IV.1.1.1. L'ben traditionnel

A. Dénombrement des coliformes totaux

Nous avons prélevé 05 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel testées dont les résultats du dénombrement des coliformes totaux de l'échantillon sont représentés dans le tableau VI et la figure 5.

Tableau VI: Résultats du dénombrement des coliformes totaux (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

Unité	1	2	3	4	5
Coliformes totaux (UFC/ml)	$2,35.10^4$	$2,36.10^4$	$2,05.10^4$	$1,83.10^4$	$1,53.10^4$

A partir de ce tableau nous constatons :

- L'unité 1 et 2 de l'échantillon de l'ben sont les plus chargées de coliformes totaux avec les valeurs de $2,35.10^4$ UFC/ml et $2,36.10^4$ UFC/ml respectivement.
- Les unités 3, 4 et 5 sont moins chargées et présentent les valeurs $2,05.10^4$, $1,83.10^4$ et $1,53.10^4$ UFC/ml respectivement.

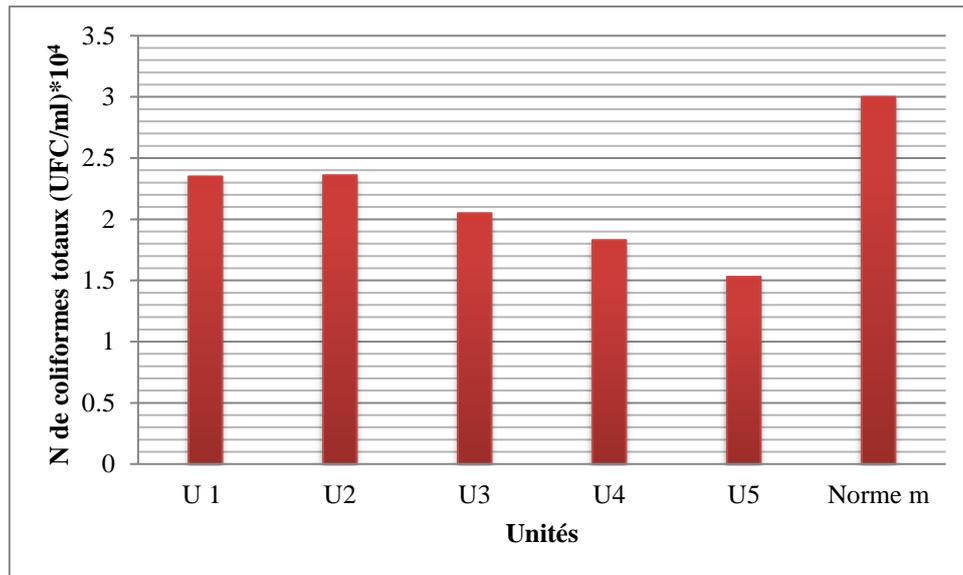


Figure 5: Histogramme représente le dénombrement des coliformes totaux pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

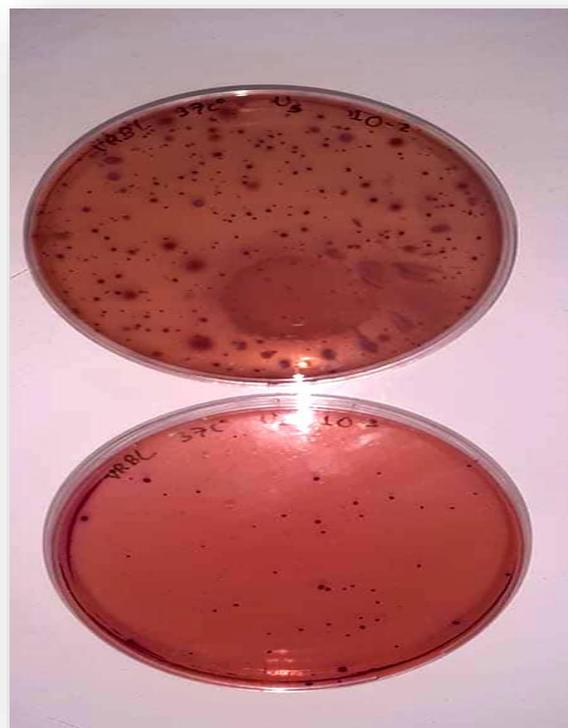


Figure 6: Aspect des colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL pour l'unité 5 à la dilution 10^{-2} incubées à 37 °C pendant 24 à 48h.

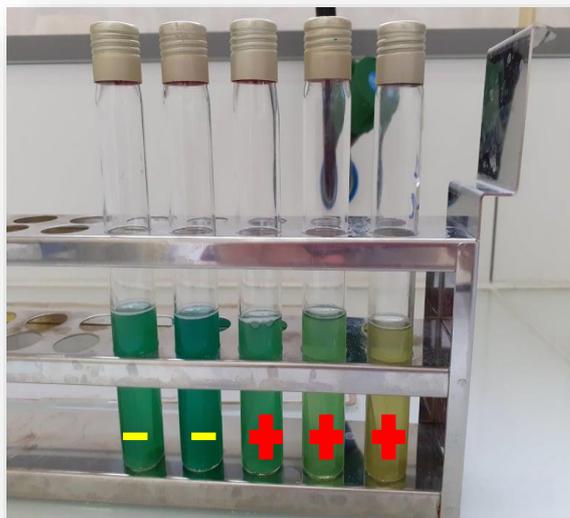


Figure 7 : Résultats de test de confirmation réalisé sur milieu BLBVB pour l'unité 3 à la dilution 10^{-2} incubés à 37 °C pendant 24h.

B. Dénombrement des coliformes thermotolérants

Les résultats du dénombrement des coliformes thermotolérants de l'échantillon de l'ben traditionnel sont représentés dans le tableau VII et la figure 8.

Tableau VII: Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

Unité	1	2	3	4	5
Coliformes thermotolérants (UFC/ml)	2,5.10	4,0.10	4,1.10	3,5.10	2,3.10

A partir de ce tableau nous constatons :

- L'unité 1 et l'unité 5 présentent des valeurs inférieures aux limites microbiologiques propres aux coliformes thermotolérants, les valeurs sont de 2,5.10 UFC/ml et 2,3.10 UFC/ml respectivement.
- Les unités 2, 3 et 4 sont très chargés par les coliformes thermotolérants et ont enregistré les valeurs suivantes : 4,0.10 UFC/ml ,4 ,1.10 UFC/ml et 3,5.10 UFC/ml.

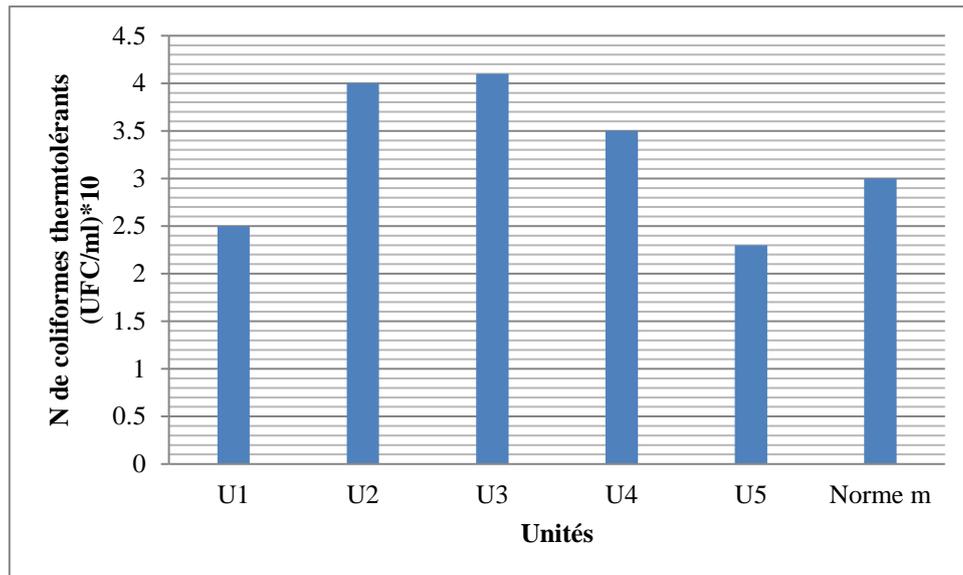


Figure 8: Histogramme représente le dénombrement des coliformes thermotolérants pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

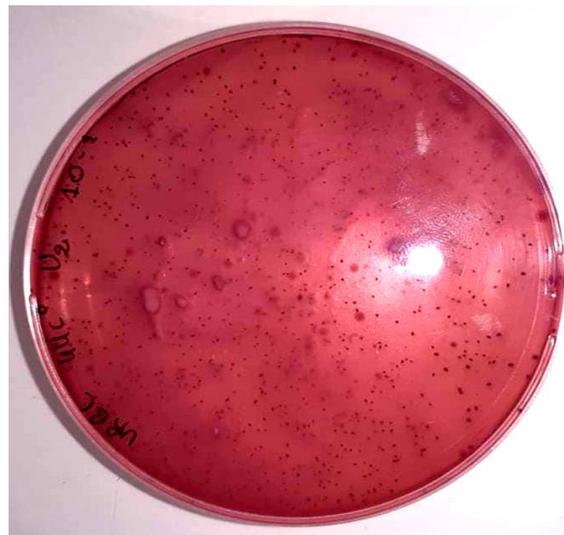


Figure 9: Aspect des colonies des coliformes thermotolérants sur milieu VRBL (SM de l'unité 2 incubée à 44 °C pendant 24 à 48 h).

C. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive

Les résultats du dénombrement des staphylocoques à coagulase positive de l'échantillon de l'ben traditionnel sont représentés dans le tableau VIII et la figure 10.

Tableau VIII: Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase+ (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

Unité	1	2	3	4	5
Staphylocoques à coagulase +	$1,2.10^2$	$1,9.10^2$	$2,8.10^2$	$1,2.10^2$	$1,0.10^2$

On a constaté à partir de tableau ci-dessus :

- L'unité 3 est très chargée de staphylocoques à coagulase + et présente $2,8.10^2$ UFC/ml.
- Les unités 1, 2, 4 et 5 présentent des valeurs moins élevées que l'unité 3, les valeurs sont les suivantes respectivement: $1,2.10^2$ UFC/ml, $1,9.10^2$ UFC/ml, $1,2.10^2$ UFC/ml et $1,0.10^2$ UFC/ml.

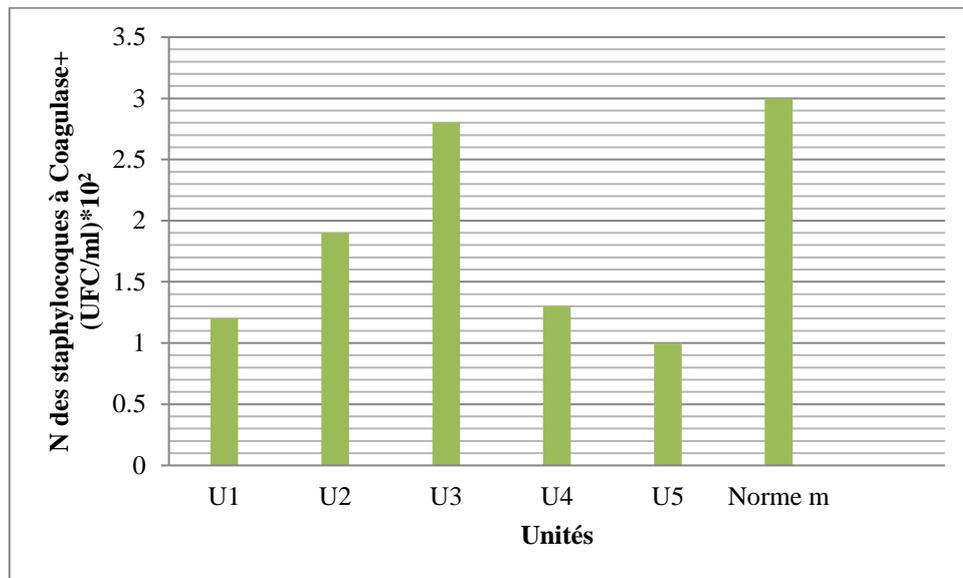


Figure 10: Histogramme représente le dénombrement des staphylocoques à coagulase+ pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben traditionnel.

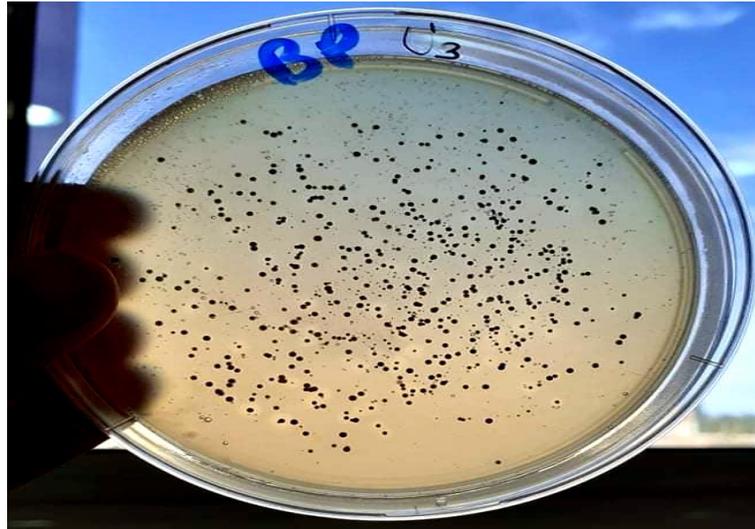


Figure 11: Aspect des colonies des staphylocoques à coagulase + sur milieu BP (SM de l'unité 3 incubée à 37°C pendant 24h).

D. Recherche de *Salmonella sp.*

Les résultats de l'évaluation de la qualité bactériologique de l'ben traditionnel par la recherche des germes pathogènes ont montré l'absence de *Salmonella sp.* dans 25g d'échantillon analysé.

IV.1.1.2. L'ben industriel

A. Dénombrement des germes aérobies à 30°C

Les résultats du dénombrement des germes aérobies à 30 °C de l'échantillon de l'ben industriel sont représentés dans le tableau IX et la figure 12.

Tableau IX: Résultats de dénombrement des germes aérobies (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.

Unité	1	2	3	4	5
Germes aérobies (UFC/ml)	$8,2 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^3$	$7,9 \cdot 10^3$	$4,9 \cdot 10^3$

Le tableau ci-dessus indique que :

Pour l'ensemble des cinq unités analysées, la contamination par les germes aérobies à 30°C varie entre $4,9 \cdot 10^3$ et $9,2 \cdot 10^3$ UFC/ml avec une moyenne de $7,42 \cdot 10^3$ UFC/ml. Ces valeurs sont inférieures aux normes ($10 \cdot 10^3$ UFC/ml).

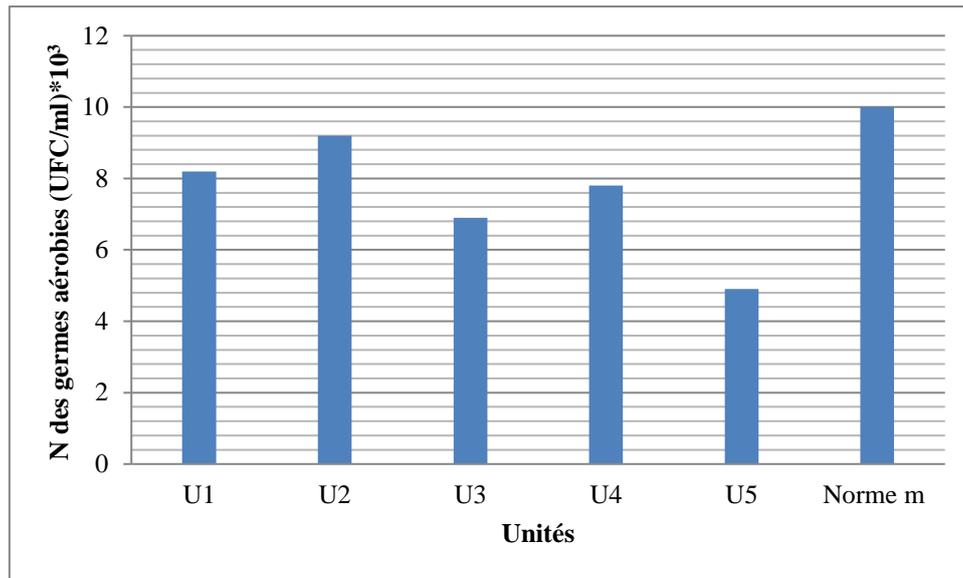


Figure 12 : Histogramme représente le dénombrement des germes aérobies à 30°C pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.



Figure 13: Aspect des colonies des germes aérobies sur le milieu PCA pour l'unité 2 à la dilution 10^{-3} incubées à 30 °C pendant 72h.

B. Dénombrements des *Enterobacteriaceae*

Les résultats du dénombrement des *Enterobacteriaceae* de l'échantillon de l'ben industriel sont représentés dans le tableau X et la figure 14.

Tableau X: Résultats de dénombrement des *Enterobacteriaceae* (UFC/ml) dans les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.

Unité	1	2	3	4	5
<i>Enterobacteriaceae</i>	6	8	10	7	10

Le tableau ci-dessus indique :

- L'unité 1, 2, 4 présentent des valeurs inférieures aux normes (10UFC/ml) : 6UFC/ml, 8UFC/ml et 7UFC/ml respectivement.
- On a enregistré une valeur égale aux normes 10 UFC/ml pour l'unité 3 et l'unité 5.

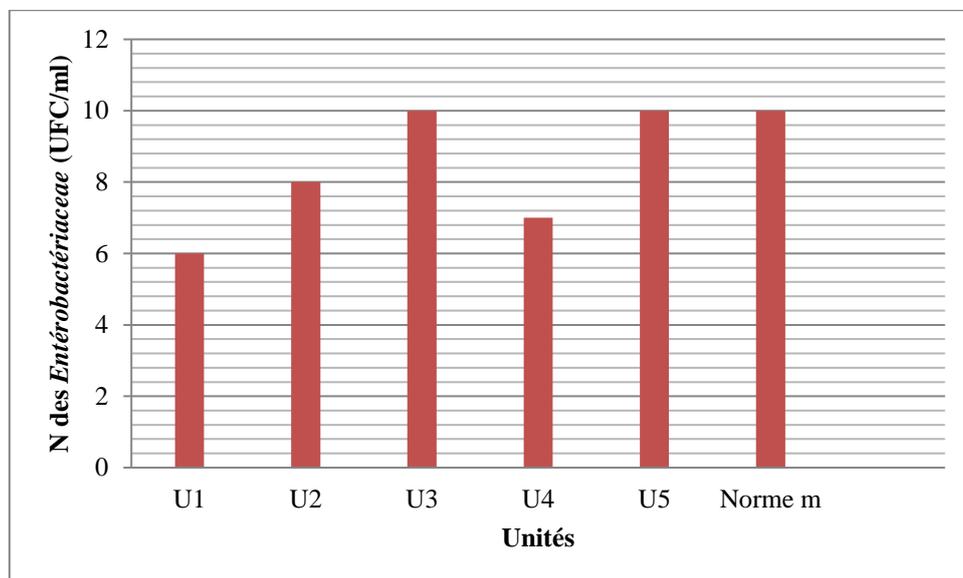


Figure 14: Histogramme représente le dénombrement des *Enterobacteriaceae* pour les 5 unités de l'échantillon de l'ben industriel.



Figure 15: Aspect des colonies des *Enterobacteriaceae* sur milieu VRBG (SM de l'unité 2 incubée à 37 °C pendant 24h).

C. Recherche de *Salmonella* sp.

Les analyses effectuées sur l'échantillon (25 g) du l'ben industriel ont révélé l'absence totale des *Salmonella* sp.

IV.1.2. Analyses physico-chimiques de l'ben traditionnel et industriel

Nous avons prélevé deux unités de l'échantillon de l'ben traditionnel et 02 unités de l'échantillon de l'ben industriel testées dont les résultats sont représentés au-dessous

IV.1.2.1. Mesure de pH

Les résultats de la mesure du pH des échantillons du lait fermenté (l'ben) analysés sont représentés dans le tableau XI et la figure 16.

Tableau XI: Résultat de la mesure du pH des 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel testées.

L'ben	Traditionnel		Industriel	
Unité	1	2	1	2
Ph	4,43	4,42	4,44	4,45

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les deux échantillons du l'ben analysés ont un pH acide. Les valeurs obtenues pour le l'ben traditionnel sont 4,42 et 4,43

avec une moyenne de 4,425, et les valeurs obtenues pour l'ben industriel sont de 4,44 et 4,45 avec une moyenne de 4,445.

Le pH le plus faible a été enregistré pour l'échantillon du l'ben traditionnel. Par ailleurs, l'échantillon présentant le pH élevé c'est celui de l'ben industriel.

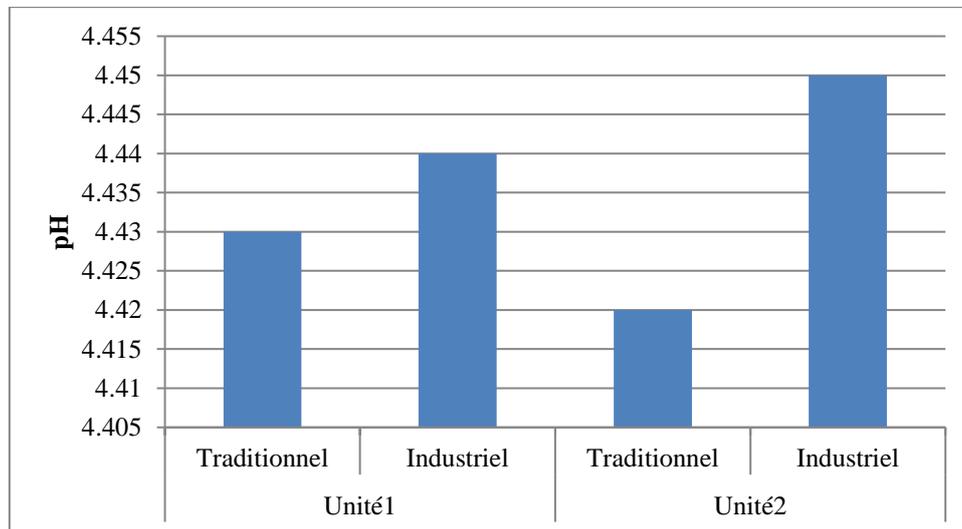


Figure 16: Histogramme représente la mesure du pH des 2 unités de l'ben industriel et l'ben traditionnel.

IV.1.2.2. Mesure de l'acidité titrable (Dornic)

Les résultats de la mesure de l'acidité titrable des échantillons du lait fermenté analysés sont représentés dans le tableau XI et la figure 17. Deux unités de l'ben traditionnel et industriel sont testées.

Tableau XII: Résultat de la mesure de l'acidité titrable pour les 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.

L'ben	Traditionnel		Industriel	
	1	2	1	2
Acidité titrable (°D)	73,6	75,2	69,8	71,2

L'acidité Dornic enregistrée pour les 2 unités du l'ben traditionnel analysés est de 73,6 °D et 75,2°D avec une moyenne de 74,4°D et pour l'ben industriel les valeurs sont 69,8°D et 71,2°D avec une moyenne de 70,5°D considérée faible par rapport à celle du l'ben traditionnel.

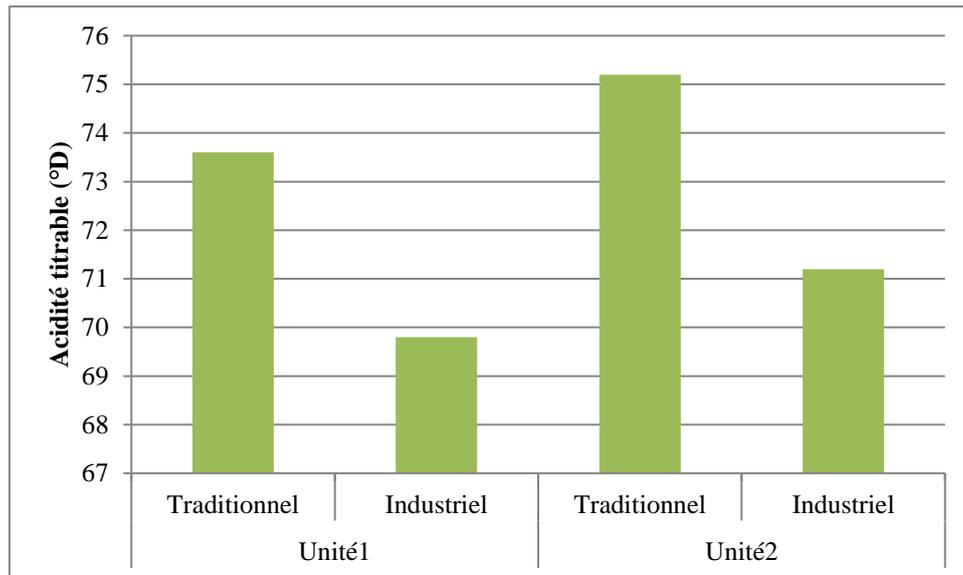


Figure 17: Histogramme représente la mesure de l'acidité titrable pour les 2 unités de l'ben traditionnel et les 2 unités de l'ben industriel.

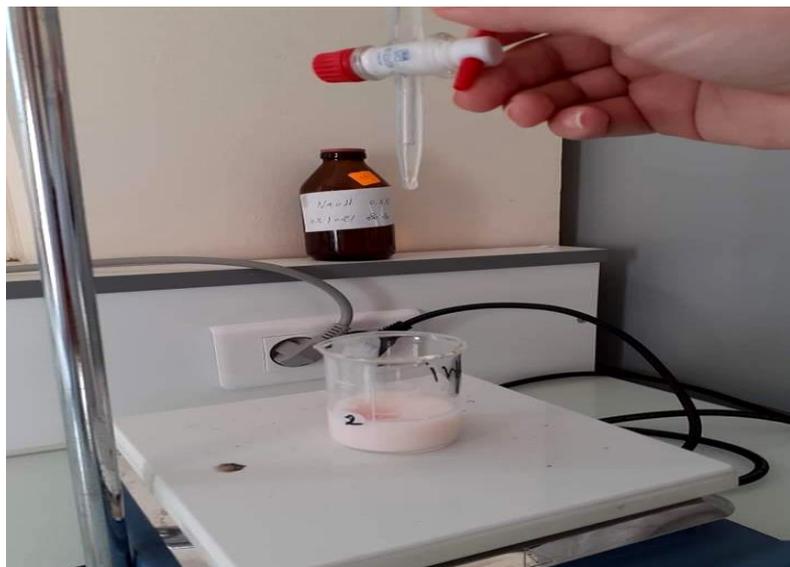


Figure 18: Mesure de l'acidité titrable de l'unité 2 de l'ben traditionnel.

IV.1.2.3. Mesure de la matière grasse

Les résultats de la mesure du taux de la matière grasse des échantillons du lait fermenté (l'ben) analysés sont représentés dans le tableau XIII et la figure 19. Deux unités de l'ben traditionnel et industriel sont testées.

Tableau XIII: Résultat de la mesure de la matière grasse des 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.

L'ben	Traditionnel		Industriel	
Unité	1	2	1	2
Matière grasse (%)	2,1	2,1	3	3

Les résultats obtenues montrent que les deux unités ont un taux de matière grasse égale à 2,1% pour l'échantillon de l'ben traditionnel et 3 % pour l'échantillon de l'ben industriel.

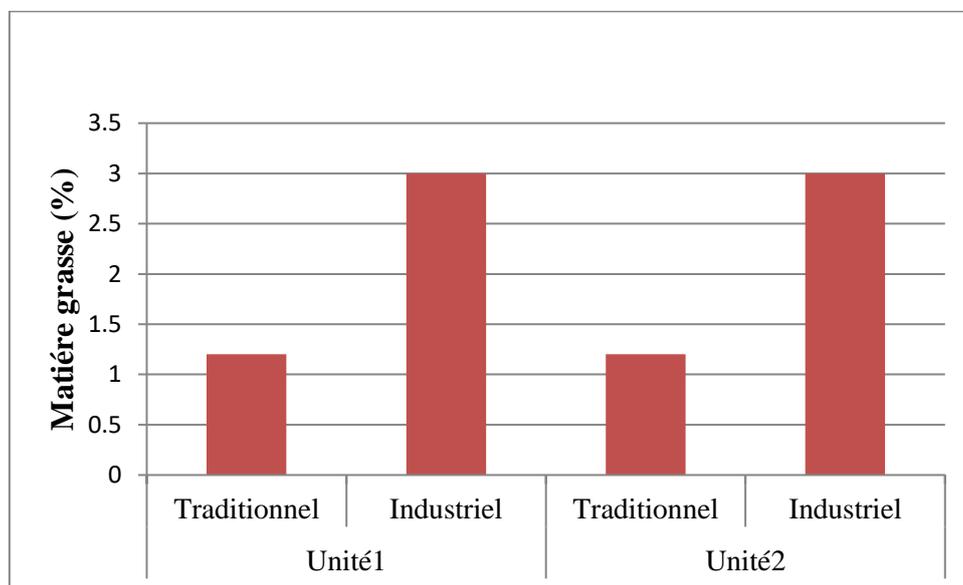


Figure 19: Histogramme représente la mesure du taux de la matière grasse pour les 2 unités de l'ben industriel et les 2 unités de l'ben traditionnel.



Figure 20: Mesure du taux de la matière grasse pour l'unité 1 de l'ben industriel.

IV.2.Discussion

Les résultats de l'évaluation de la qualité bactériologique des deux types de l'ben (traditionnel et industriel) par la recherche des germes de contamination et de germes pathogènes ont montré l'absence des salmonelles pour l'ensemble des deux échantillons analysés. Leur absence est expliquée par la production d'acide par les bactéries lactiques qui inhibent la croissance des pathogènes par un abaissement du pH du milieu (**Tamagnini et al., 2006**).

D'après **Benkhalfoune et Kebli (2014)**, les bactéries lactiques peuvent produire des substances antibiotiques appelées « bactériocines » doté d'un large spectre d'action contre les germes à gram positif et négatif.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par **Katinan et al. (2012)** dans la ville de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) où la microbiologique des laits caillés (laits fermentés artisanaux) ont montré la présence de *Salmonella* spp. dans 57% des échantillons analysés. Cette situation a été expliquée par les faibles valeurs de l'acidité des échantillons d'une part et d'autre part, à l'absence d'une étape de pasteurisation dans le processus de fabrication du lait caillé artisanal.

Pour le l'ben traditionnel, le nombre de coliformes totaux dénombrés varie dans les cinq unités avec des valeurs inférieures aux normes ($m=3.10^4$ UFC/ml avec $M=3.10^5$ et $c=2$) (**AnnexeVII**) avec une moyenne de $2,024.10^4$ UFC/ml. Des études sur la qualité hygiénique du l'ben Marocain (**Tantaoui-Elaraki et al., 1983; Zinedine et al., 1996; EL Marnissi et al., 2013**) ont montré des valeurs très élevées comparant aux nôtres. Par ailleurs, ceux de **Benkerroum et Tamime (2004)** apparaissent moins élevés estimés par une moyenne de 10^4 UFC/ml. En revanche, **Djouadi et Ifourah (2014)** en Algérie ont montré que les coliformes totaux sont absents dans tous les échantillons du l'ben analysés.

Les analyses microbiologiques effectués confirment la présence des coliformes thermotolérants dans les 3 unités d'échantillon analysé avec des valeurs supérieures aux normes (30 UFC/ml) : $4,0.10$ UFC/ml, $4,1.10$ UFC/ml et $3,5.10$ UFC/ ml. Ces résultats sont similaires aux résultats rapportés au Maroc par **Marnissi et al. (2013)** pour 96 échantillons et **Benkerroum et Tamime (2004)** pour 20 échantillons.

La présence abondante de ces germes indicateurs d'une contamination d'origine fécale indique une mauvaise qualité hygiénique du lait utilisé et/ou de l'environnement de fabrication et de stockage (**Mangia et al., 2014**).

On parle de coliformes pour définir les microorganismes servant d'indicateurs à la présence possible de contaminations fécales. Leur recherche et leur dénombrement permettent d'apprécier l'importance de contamination du lait et des produits laitiers (**Vignola, 2002**).

Les résultats obtenus montrent que les staphylocoques à coagulase + sont présent avec un taux normal inférieur à la norme ($m=3.10^2$ avec $M=3.10^3$ et $c=2$) (**Annexe VII**). Une moyenne de $1,62.10^2$ UFC/ml était calculée, contrairement aux résultats de **Benkerroum et al. (1984)** et **Djouadi et Ifourah (2014)** ont rapporté des valeurs moyennes de 10^3 et 15.10^3 UFC/ml respectivement. Alors que **EL Marnissi et al. (2013)** ont trouvé une moyenne de 32,3 UFC/ml avec des valeurs extrêmes de 0 et $1,23.10^3$ UFC/ml. Par contre, la recherche de cette bactérie par **Hamama (1992)** s'est révélée négative.

Cette contamination peut s'agir des staphylocoques présents déjà dans le lait qui peuvent provenir des mamelles. Ces bactéries rejoignent le lait lors de la traite (plaies, pis non lavés avant la traite), ou de staphylocoques portés par le manipulateur (sphère bucconasale, peau, plaies) (**Thieulon, 2005**). La contamination serait due aux mauvaises pratiques d'hygiène, trempage des doigts dans le lait, et aux mauvaises conditions de stockage, de transformation et de conditionnement.

Pour l'échantillon de l'ben industriel, Les germes aérobies à 30°C sont présent avec une moyenne de $7,4.10^3$ UFC/ml, la comparaison de nos 5 unités de l'ben industriel avec les normes de Journal Officiel de la République Algérien confirme la qualité satisfaisante de notre produit. Notre résultat est inférieur aux résultats d'études obtenus par **Tantaoui-Elaraki et al., (1983)** au Maroc (moyenne $2,15.10^9$ UFC/ml pour 20 échantillons), et à celle rapporté par **Marnissi et al.(2013)** au même pays (moyenne de $7,8 .10^6$ UFC/ml, pour 96 échantillons).

La conformité de l'ben industriel est témoignée par une maîtrise suffisante de l'hygiène lors de la transformation principalement, l'environnement global qui entoure cette pratique (propreté des sols, des récipients, des ustensiles et de la vaisselle utilisé...etc.). Ainsi que l'abaissement du pH dans ce type de produit, permettrait l'inhibition de plusieurs germes (**Fields et al., 1981; Ouazzani Taybi et al., 2014**).

Une moyenne mesuré de 8 UFC/ml d'*Enterobacteriaceae* dans l'échantillon de l'ben industriel. Selon les normes de **JORA** notre produit est satisfaisant.

Plusieurs facteurs interviennent dans la croissance et dans la survie des *Escherichia coli*. pathogènes dans les produits laitiers. Ces facteurs concernent les caractéristiques du produit fabriqué (composition, Aw, acidité), le traitement thermique appliqué et le taux initial de contamination dans le lait cru (**Kornacki et marth, 1982**). Une pasteurisation à 72 °C durant 15 secondes est suffisante pour éliminer *E. coli* (**FIL ,1993**). L'acidification entraîne également une inhibition de la croissance des *E. coli* (**Bohnert ,1995**).Ce qui témoigne que notre échantillon a subi un bon traitement thermique.

Les résultats obtenues de l'analyse physico-chimique indiquent que pour le l'ben traditionnel, les valeurs obtenues du pH se situent entre 4,42 et 4,43, ces valeurs respectent les normes qui est comprise entre 3,8 et 4,7 (**JORA, 1993**), Nos résultats sont supérieures à celles trouvées par **Benkerroum et Tamime (2004)**, et **Boubekri et al.(1984)** avec une moyenne de 4,2. Par contre des valeurs similaires ont été rapportées par l'étude de **Tantaoui-Elaraki et al (1983)** (moyenne de 4,4).Le pH acide du l'ben s'explique par l'activité acidifiante des bactéries lactiques (**Marnissi et al., 2013**).

Pour l'ben industriel les valeurs sont comprises entre 4.44 et 4.45. D'après **JORA(1993)**, les résultats révélés dans ce présent travail respectent les standards du pH de l'ben 4,4 <pH <4,6.Cette acidité révélée est essentiellement attribuée à l'activité acidifiante des bactéries lactiques qui fermentent le lactose en acide lactique (**Benkerroum et al., 1984**).

Le pH est plus acide pour l'échantillon de l'ben traditionnel par rapport au pH de l'échantillons de l'ben industriel, on explique ça par la différence de la charge des bactéries existantes dans chaque produit au début du stockage, car le l'ben traditionnel contient une charge microbienne importante incontrôlée par rapport au l'ben industriel, qui a subi un traitement thermique dans le but de réduire la charge microbienne dans le produit qui seraensemencé par une quantité prévue de levains lactiques sélectionnés pour obtenir le produit fini désiré (**Beal et Sodini, 2003**).

L'acidité Dornic enregistrée pour l'échantillon du l'ben traditionnel est comprise entre 73,6°D et 75,2°D avec une moyenne de 74,4°D qui est considérée conforme (>30°D) (**JORA ,1993**).

Nos résultats sont inférieurs aux valeurs moyennes obtenues par les études réalisées par **Tantaoui-Elaraki *et al.*(1983)**, **Benkerroum et Tamime (2004)** et **Boubekri *et al.*(1984)** avec des valeurs d'acidité Dornic de 75, 82 et 81,65°D respectivement.

Cette différence pourrait être due à une différence d'âge des échantillons analysés; plus un échantillon est âgé, plus il serait acide (**Boubekri *et al.*, 1984**).

On a enregistré une moyenne de 70,5°D pour l'échantillon de l'ben industriel. Selon **Codex Alimentarius (2018)**, la norme de l'acidité Dornic est tolérée >0,6% (>60°D), ce qui signifie la conformité de notre échantillon de l'ben industriel.

L'acidité inhibe la croissance des bactéries en général, à l'exception de la flore lactique, la croissance des levures et moisissures n'est ralentie qu'à des acidités très fortes toutefois leur caractère aérobic limite leur prolifération, la principale conséquence de l'acidification est l'augmentation de la concentration d'acide lactique dans le milieu, qui signifie la diminution du pH de celui-ci (**Tamagnini *et al.*, 2006**).

Une bonne croissance des bactéries lactiques augmente la qualité sanitaire du produit, en effet l'acidification rapide entraîne un empêchement de la multiplication des germes indésirables, en plus certaines bactéries produisent des substances qui inhibent plus ou moins la croissance des autres bactéries tel que les antibiotiques (bactériocines) (**Ferderikson, 1996**).

La moyenne mesurée de la matière grasse des deux échantillons ; l'ben traditionnel est de 2,1 et pour l'ben industriel est de 3% et ces valeur correspond aux normes (<10%) et (<15%) respectivement (**Codex, 2018**) (**AnnexeVI**).

D'après **Tantaoui-Elaraki *et al.* (1983)** et **Abo-Elnaga *et al.* (1977)**, ces variations s'expliquent par la nature du lait de départ (entier, totalement ou partiellement écrémé).

V. Conclusion et perspectives

L'étude réalisée porte sur l'évaluation et la comparaison des paramètres microbiologiques et physico-chimiques des deux type de l'ben : un échantillon de l'ben traditionnel et un échantillon de l'ben industriel dans la région de Mouzaia à Blida.

Les analyses microbiologiques de l'ben traditionnel révèlent une qualité non satisfaisante du fait de la charge très élevé des coliformes thermotolérants avec une moyenne de 3,9 UFC/ml, Cela peut constituer un risque potentiel pour la santé du consommateur. Une présence normale d'autres germes (Coliforme totaux et staphylocoques à coagulase+) et une absence totale de *Salmonella* sp.

L'échantillon de l'ben industriel présente une qualité microbiologique satisfaisante. La charge moyenne des germes aérobies et des *Enterobacteriaceae* est $7,4.10^3$ UFC/ml et 8,2 UFC/ml respectivement. Une absence totale de microorganismes pathogènes (*Salmonella* sp.).

Ces valeurs témoignent la bonne qualité hygiénique de l'ben industriel déduite en raison du processus de la pasteurisation.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les deux échantillons du l'ben industriel et traditionnel montrent que les résultats obtenus sont conformes aux normes avec des moyennes de 4,43, 74,4°D et de 2,1% pour l'ben traditionnel et 4,45, 70,5°D et de 3% pour l'ben industriel pour le pH, l'acidité Dornic et la matière grasse respectivement.

D'après les résultats obtenues des paramètres physico-chimiques (pH, acidité, matière grasse), il s'est avéré que les propriétés du l'ben industriel sont meilleures que celles du l'ben traditionnel, ce qui se manifeste sur la DLC du premier qui est pratiquement plus longue que le deuxième. Toutefois ces analyses physico-chimiques ne reflète pas définitivement la qualité des deux types de l'ben pris par cette étude, puisque cela nécessite le recours à une autre analyse révélatrice de la qualité du l'ben (l'analyse organoleptique).

Egalement sur le plan microbiologique on a constaté que l'ben industriel est de très bonne qualité, il est satisfaisant de point de vue hygiénique contrairement au l'ben traditionnel.

Afin d'améliorer la qualité de l'ben traditionnel, il faut améliorer les conditions de la traite et les opérations de préparation pour la transformation du lait car ce lait ne subit aucun

traitement thermique. Il faut sensibiliser le personnel qui peut être un facteur de contamination exogène. L'utilisation de matériel et des locaux propres peut réduire la contamination par les bactéries pathogènes.

La production d'un aliment d'une bonne qualité doit être le souci de toute entreprise, et toutes les personnes qui sont en relation avec la chaîne de production doivent être sensibilisées afin de satisfaire le consommateur et de lui préserver sa santé.

Pour cela, le contrôle doit être effectué d'une façon rigoureuse sur le processus de fabrication et avec le respect des bonnes pratiques de fabrication, pour détecter à quel stade le produit a été contaminé et de prévenir sa conformité ou sa non-conformité par rapport aux normes réglementaires.

A la fin de ce modeste travail, nous espérons que la recherche et les études continueront dans le but d'améliorer le suivi de la qualité du l'ben, par des perspectives suivantes :

Il sera nécessaire d'effectuer en plus, des analyses organoleptiques du l'ben et de suivre l'évolution des autres paramètres physico-chimiques tels que la viscosité, la densité et l'extrait sec total en élargissant le champ d'étude par le nombre d'échantillons dans différentes régions et tout ça pour perfectionner de plus en plus l'industrie du l'ben pour mieux satisfaire le consommateur.

VI. Références bibliographiques

Adesiyun, A. A. (1994). Bacteriological quality and associated public health risk of pre-processed bovine milk in Trinidad. *Int. J. Food Microbiol.* 21: 253–261.

Avezard, C.L., et Lablee J. (1990). Laits et produits laitiers recombines, In LUQUEE F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 637 pages.

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005). «Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolés à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci.Technol.*, 23,30-37.

Bekhouche, F., et Boulahrouf, A. (2005). Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Science et Technologie.*, 23 :38-45.

Benali, A. (2018). «L'ONIL : Les algériens consomment annuellement 55 litres de lait, en plus de la moyenne mondiale ». <http://algerie-eco.com>

Benkerroum, N., et Tamime, AY. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Iben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology.* 21, 399-413.

Benkerroum, N., Tantaoui-Elaraki, A., El Marrakchi A. (1984). Hygienic quality of Moroccan Iben. *Microbiol. Alim. Nutr.* 2, 199–206.

Benkhalfoune, R., et Kebli, N. (2014). « Evaluation sensorielle et quantitatif du lait fermenté préparé par une matière végétale (Pois chiche) ». Mémoire de Master, Université d'Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 69 P.

Bohnert, M. (1995). Survie et multiplication des *Escherichia coli* dans les aliments (pathovars diarrhéiques ETEC, EPEC, EIEC, EHEC). Communication, Institut Pasteur de Lille, 13 pp.

Bonfoh, B., Wasem, A., Traore, A.N., Fane, A., Spillmann, H., Simbe, C.F., Alfaroukh, I.O., Nicolet, J., Farah, Z., and Zinsstag, J. (2003). Microbiological quality of cow's milk taken at different intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali). *Food Control.* 14 (7): 495–500.

Références bibliographiques

- Boubekri, A., Tantaoui-Eleraki, C., Berrada, M., Benkerroum, N. (1984).** Caractérisation physico-chimique du l'ben marocain. *Le lait*, 64: 436-447.
- Boudier, J. F. (1990).** Produits frais In « lait et produits laitiers Vache, Brebis, Chèvre » Vol II. Luquet. F. M, Ed. *Tec et Doc*, Lavoisier Paris, pp 39-56.
- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., et Thorel, M.F. (1997).** Pathogenic micro-organisms in milk and dairy products: the situation in France and in Europe. *Rev. Sci. Tech. OIE* 16: 452–471.
- Bylund, G. (1995).** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86, Lund, Sweden: 436 pages.
- Cammas, G.I., Saliba, R. et Béal, C. (2006).** « Characterization of the fermented milk « laban » with sensory analysis and instrumental measurements ». *J. Food Sci.* 71,156-162.
- Cheftel, J. C., et Cheftel, H. (1976).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 4-56.
- Cherrey, G. (1980).** Les laits reconstitue in « lait reconstitués et leurs utilisation » *Ed. Tec et Doc* Lavoisier: 60 pages.
- Claps, S., et Morone, G. (2010).** Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. CRA-ZOE. Via Appia. Bella Scala. 85054 Muro Lucano. Italy, pp 58-59.
- Croguennec, T., Jeantet, R., et Brulé G. (2008).** Fondements Physicochimiques de la Technologie Laitière. Ed. *Tec. et Doc* .Paris. 6 ,8 page (160 page).
- Debry, G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Ed *Tec et Doc*, Lavoisier, pp 566.
- Dellaglio, F., Desmazeud, M., Weber, F. (1994).** Bactérie lactique : aspects fondamentaux et technologie, vol 2. *Lorica Uriage*, Paris, 605P.
- Dieng, M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.
- Djouadi, H., et Ifourah Z. (2014).** Enquête sur les conditions d'hygiène de la traite du lait et les pratiques des fabrications artisanales d'un lait fermenté type L'ben. Evaluation de leur qualité physico-chimique et microbiologique. Mémoire de fin de cycle. Université

Références bibliographiques

Abdrrahmane Mira de Bejaia, Algérie. Faculté des Science de la Nature et de la vie. Département de microbiologie. 41p.

Dortu, C., et Thonart, P. (2009). «Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires». *Biotechnol.Agron.Soc. Environ.*,13,143-154.

Drouaut, S., et Cortmier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la sante. INRA, Ed sciences. Vet-Res 32, pp 101-107.

Duplus, Wart, Blanc, Solis, Lemonnier. (1994). Caractéristiques nutritionnelles des laits fermentés In «bactéries lactiques», pp 401-435. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 600 pages.

El Marnissi, B., Belkhou, R., El Ouali lalami, A., et Bennani, L. (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les technologies de laboratoire.* 8 (33), 100-111.

El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E., Bazukyan, I., Choiset, I., Rabesona, H., Sitohy, M., Popov, Y.G., Kuliev, A.A., Mozzi, F., Chobert, J.M., Haertlé, T. (2011). « Potentiel useof lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods». *Trends in Food Sci. Technol.*, 22, 509-516.

Essalhi, M. (2002). Relation entre les systèmes de production bovine et les caractéristiques du lait .Mémoire d'ingénieurs. Institut Agronomique et vétérinaire, Hasan II, Rabat .104p

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

FAO. (1998). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition N° 28.Catalogage avant publication de la Bibliothèque David Lubin FAO. Rome. Italie.

FAO. (2007). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine <http://www.fao.org/docrep.T4280F.htm>.

FAO/OMS. (2000). Codex Alimentarius : Lait et produit laitiers, 2e édition-Rome: FAO; OMS- 136p.

Références bibliographiques

- Feiuet, P. (1998).** Aliments et industrie alimentaires : les propriétés de la recherche publique Ed. INRA, Paris, pp 280.
- Fields, M., Ahmed, H., et Smith, D. (1981).** Natural lactic acid fermentation of corn meal. *Journal of Food and Science*. 46, 900-902.
- Gosta. (1995).** CD manuel de transformation du lait, Ed. Tetra pack processing systems, AB. Sweden, pp 215-232.
- Goursaud, J. (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans *Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre*. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet. F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 1-4.
- Guiraud, J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Edition:Dunod – RIA. 696p.
- Guy, FI. (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse de doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. pp : 17.
- Hamama, A. (1992).** Moroccan Traditional Dairy Products. In applications of Biotechnology to traditional fermented foods. National Research Council. National Academy Press, Washington D.C. 75-80.
- Hylckama, J. E. T., Huguen, J. (2007).** « Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavor and health benefits ». *International Dairy Journal*, 17 , 290-297.
- JORA N°69. (1993).** Arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, pp16-20.
- Jay, JM. (2000).** Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans *Modern Food Microbiology*, Aspen Publishers, Gaithersburg MD. pp :13.
- Katinan, C.R., Sadat, A.W., Olivier Chatigre, K., Bohoussou, K. M., Assidjo, N.E. (2012).** «Evaluation de la qualité chimique et microbiologique des laits caillés artisanaux produit et consommés dans la ville de Yamoussoukro, Côte d'Ivoire» *J. Appl. Biosci.*55, 4020-4027.

Références bibliographiques

- Kornacki, L., Marth E.H. (1982).** Foodborne illness caused by *Escherichia coli*. *J. Food Protec.*, 45 (11), 1051-1067.
- Larpent, S.P. (1997).** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. *Tec ans Doc*, Lavoisier, Paris. 729 P.
- Lebeuf, Y., Amiot, J., Fournier, S., Paquin, P., Simpson, R. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Dans: Sciences et technologie du lait. Ecole Polytechnique de Montréal, 600p.
- Leyral, G., Vierling, E. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition *Biosciences et techniques*, Bordeaux, 387P.
- Luquet, F.M et Corrieu, G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Tec et Doc, Lavoisier. Paris 307p.
- Luquet, F.M, (1986).** Lait et les produits laitiers : vache, brebis, chèvre. ED.TEC et DOC. Lavoisier, paris, T3, 445p.
- Luquet, F.M, (1990).** Lait et produits laitiers, vache brebis, chèvre : Transformation et technologie, Ed TEC et DOC. Lavoisier, Paris. Tome 2 ,637p.
- Mangia, NP., Garau G., Murgia, MA., Bennani, A., et Deiana P. (2014).** Influence of autochthonous lactic acid bacteria and enzymatic yeast extracts on the microbiological, biochemical and sensorial properties of Lben generic products. *Journal of Dairy Research*. 81, 193–201.
- Martin, A. (2003).** Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Ed Tec et Doc, Lavoisier Paris, pp 201-209.
- Mathieu, (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait ED. Tec et Doc .Lavoisier. Paris
- Moller, (2000).** La reconstitution du lait Chap. Procédés de fabrication, Ed. INA, Paris Grignon, pp36-37.
- Nannen, N.L., Huntkins, R.W. (1991).** «Proton-traslocating adenosine triphosphatase activityin lactic acid bacteria » *J. Dairy Sci*, 74: 747-751.
- Novel, G. (1993).** Les bactéries lactiques in : Microbiology industrielle ; les microorganismes d'intérêt industriel. *Tech and Doc*, Lavoisier Paris, 614p.

Références bibliographiques

- Oteng-Gyang. (1984).** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds .Ed. *Tec et Doc Lavoisier*, paris, pp87-89.
- Ouazzani Taybi, N., Arfaoui, A., et Fadli, M. (2014).** Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb, Maroc. *International Journal of Innovation and Scientific Research*. 9 (2), 487-493.
- Perreau, M.J. (2014).** Conduire son troupeau de vaches laitières. Editeur : ÉDITIONS FRANCE AGRICOLE Collection : Produire mieux. Paris Page 31, 34 ,47 ,50 , 71,403.
- Quigley et al. (2013).** *The complex microbiota of raw milk. FEMS Microbiol. Rev.*, 37. 66p.
- Renault, P. (1998).** OGM et alimentation in « les OGM à l'INRA» Ed. INRA, pp1-4.
- Renner, E., Schaafsma, G., Scott, K.J. (1989).** Micronutrients in milk. In: *Micronutrients in milk and milk based food products* (Renner E, ed) Elsevier, New York,I-70.
- Schleifer, K. H., et Ludwig, W. (1996).** ‘‘Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera’’. *Syst. Appl. Microbiol.* 18:461-467.
- Senoussi, A. (2008).** Caractérisation de l'élevage bovin laitier dans le Sahara: Situation et perspectives de développement. In *Colloque International « Développement durable des productions animales: enjeux, évaluation et perspectives»*, Alger, 297p.
- Sherman, J.M. (1937).** ‘‘*The streptococci*’’. *Bact Rev* 1,3-97.
- Sutra, L., Federighi, M. (1998).** Manuel de la bactériologie alimentaire. *Polytechnica*, Paris, 908 P.
- Tamagnini, L.M., De Sousa, B.G., González, R.D., Budde, C.E. (2006).** « Microbiological characteristics of Crotting goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research*’’,66, 175 –180.
- Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A., et Berramou, A. (1983).** Etude sur le leben marocain. *Le Lait*. 63, 230–245.
- Thieulon, M. (2005).** *Recherche des staphylocoques pathogènes dans le lait et les produits laitiers. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal*. 1-4.
- Vacheyrou, M., Normand, A. C., Guyot, P., Cassagne, C., Piarroux, R., Bouton, Y. (2011).** Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from

Références bibliographiques

stables of sixteen French farms. *Int. J. Food Microbiol.* 146, 253–262. 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.033.

Vignola, C. L. (2002). *Science et Technologie du Lait : Transformation du Lait.* Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 600 pages.

Weber, F., (1994). Altération des produits laitiers par les bactéries lactique in « bactéries lactiques » Vol 2, Ed. LORICA, 571pages.

Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vanningelgem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J., et De Vuyst, L. (2006). Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Syst. Appl. Microbiol.* 29: 487–495p.

Zinedine, A., Faid, M., Benlemlih, M., Simard, RE., et Lefebvre G. (1996). Microflores d'intérêt hygiénique et d'altération des produits laitiers traditionnels marocains [Microflora with sanitary and spoilage impact in Moroccan traditional dairy products]. *Société informations études et édition en nutrition et alimentation.* 14, 331-338p.

VII. Annexes

Annexe I

Tableau I : Les normes utilisées dans la fabrication du l'ben (Stoutz, 1990).

Temps (h)	Température (°C)	Quantité de levains (%g/100ml)
18	20-23	3
12	23-25	2
6-8	32	2
3-4	42-44	2

Annexe II

Tableau II : La composition selon Codex Alimentarius norme pour les laits fermentés cxs 243-2003. Adopté en 2003, révisée en 2008, 2010, 2018.

	Lait fermenté	Lait acidophile et yaourt à base d'autres ferments
Protéine de lait (% m/m)	Min. 2,7 %	Min. 2.7 %
Matière grasse du (lait % m/m)	Inférieure à 10%	Inférieure à 15%
Acidité titrable, exprimée en % d'acide lactique (% m/m)	Min. 0.3 %	Min. 0,6%

Annexe III

Composition des diluants (g/l) :

➤ Eau Peptonée Tamponnée(EPT)

Pour la préparation des suspensions mères de laits en poudre et concentrés, de yaourts, de produits laitiers, de produits d'origine animale et d'autres produits alimentaires. Egalement utilisé pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sublétaux.

Composition	(Grammes /litre)
Peptone	10,0
Chlorure de sodium	5,0
Phosphate disodique anhydre	3,5
Dihydrogénophosphate de potassium	1,5
pH 7,2 ± 0,2	

➤ Tryptone Sel Eau (TSE)

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	1.0
Sel	8.5
pH 7,0 ± 0,2	

Annexe IV

Composition des milieux de cultures:➤ **VRBL : Gélose Lactosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre**

Milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait et les autres produits alimentaires.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Peptone pepsique de viande	7,0
Extrait autolytique de levure	3,0
Lactose	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,030
Cristal violet	0,002
Agar agar	12,0
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2	

➤ **VRBG : Gélose Glucosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre**

Gélose sélectif pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits laitiers, les viandes, les charcuteries et les autres produits alimentaires.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Peptone pepsique de viande	7,0
Digestion pancréatique de gélatine	7,0
Extrait autolytique de levure	3,0
Glucose	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,030
Cristal violet	0,002

Composition	(Grammes/litre)
Agar agar	13,0
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2	

➤ **RAPPAPORT VASSILIADIS SOJA (RVS)**

Bouillon d'enrichissement sélectif pour l'isolement de *Salmonella*

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Peptone de soja	4,5
Chlorure de sodium	7,2
Hydrogénophosphate de potassium	0,18
Dihydrogénophosphate de potassium	1,26
Chlorure de magnésium (anhydre)	13,58
Vert malachite	0,036

➤ **Müller-Kauffmann au Tétrathionate et Novobiocine (MKTn)**

Milieu d'enrichissement sélectif pour les salmonelles dans les produits alimentaires selon la méthode horizontale **NF EN ISO 6579**.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	8,6
Extrait de viande	4,3
Sels biliaires	4,78
Chlorure de sodium	2,6
Carbonate de calcium	38,7
Thiosulfate de sodium anhydre	30,45
Vert brillant	0,0096

➤ **Gélose XLD : Xylose-Lysine-Désoxycholate**

Milieu sélectif pour l'isolement des *Salmonella* et *Shigella* à partir d'échantillons cliniques et de produits alimentaires.

Composition	(Grammes/litre)
Extrait de levure	3,5
Chlorhydrate de L-Lysine	5,0
Xylose	3,75
Lactose	7,5
Saccharose	7,5
Désoxycholate de sodium	1,0
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	6,8
Citrate de fer ammoniacal	0,8
Rouge de phénol	0,008
Agar	12,5
pH 7,4 ± 0,2	

➤ **Plate Count Agar (PCA)**

Utilisé en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

Composition pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Gramme/litre)
Digestat enzymatique de caséine	5,0
Extrait autolytique de levure	2,5
Glucose	1,0
Agar agar	12,0g
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.	

➤ **Gélose Baird Parker (BP)**

Milieu sélectif pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les prélèvements biologiques, les produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Gramme/litre)
Tryptone	10,0
Extrait de viande	5,0
Extrait autolytique de levure	1,0
Sodium pyruvate	10,0
Glycine	12,0
Lithium chlorure	5,0
Agar agar	15,0
Emulsion de jaune d'œuf	47ml
Tellurite de potassium à 3,5%	3ml
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2	

➤ **Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant(BLBVB) : milieu de confirmation**

Pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux, coliformes thermotolérants et d'*Escherichia coli* (test de Mackenzie) dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires, les eaux d'alimentation et les eaux résiduaires.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	10,0
Peptone	10,0
Bile de bœuf bactériologique	20,0
Oxgall	20,0
Lactose	10,0
Vert brillant	0,0133
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2	

Annexe V

Produits et réactifs utilisés dans l'analyse physicochimique :

-Acide sulfurique H_2SO_4

-Alcool isoamylique

-Eau distillée

-Indicateur coloré phénolphtaléine (1%)

-Solution d'hydroxyde de sodium NaOH 0,1N

Annexe VI

Matériel non biologique :



Bec benzène



Agitateur magnétique



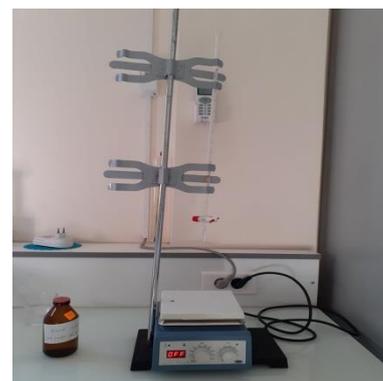
Bain marie



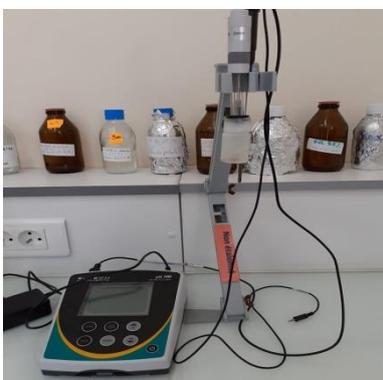
Etuve



Sorbonne (ASEM Fume cabinets)



Agitateur magnétique chauffant digital(Stuart)



pH mètre (Hanna)



Balance électronique (Adventurer Pro)

Verreries

-Becher

-Boîtes de Pétri

-Butyromètre

-Flacons stériles

-Pipettes graduées

-Pipettes Pasteur

-Tubes à essai stériles

Annexe VII

8 Chaoual 1438
2 juillet 2017

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

13

ANNEXE I

Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

1- Lait et produits laitiers

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	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	Coliformes thermotolérants	5	2	$5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10^4	10^5
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 ml	
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml	
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10^2
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages au lait cru	Escherichia coli	5	2	10^4	10^5
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	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	Escherichia coli	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	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	Escherichia coli	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Crème au lait cru	Escherichia coli	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	

1- Laits et produits laitiers (suite)

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		N	c	m	M
Crème pasteurisée	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Crèmes glacées et desserts lactés congelés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Enterobacteriaceae (2)	5	2	50	5.10 ²
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Beurre cru	Escherichia coli	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Beurre pasteurisé	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Beurre concentré	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
Laits fermentés (Lben, Raib...)	Coliformes totaux	5	2	3.10 ⁴	3.10 ⁵
	Coliformes thermotolérants	5	2	30	3.10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	3.10 ²	3.10 ³
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Yaourts ou yoghourts et desserts lactés	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
Caséines-caseinates	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁴	3.10 ⁵
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence dans 0,1 g	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	

ufc : unité formant colonie.

(2) Ce critère s'applique au stade du portionnement dans le commerce de détail, c'est-à-dire lors du fractionnement de la manipulation en vue de la vente directe au consommateur final.

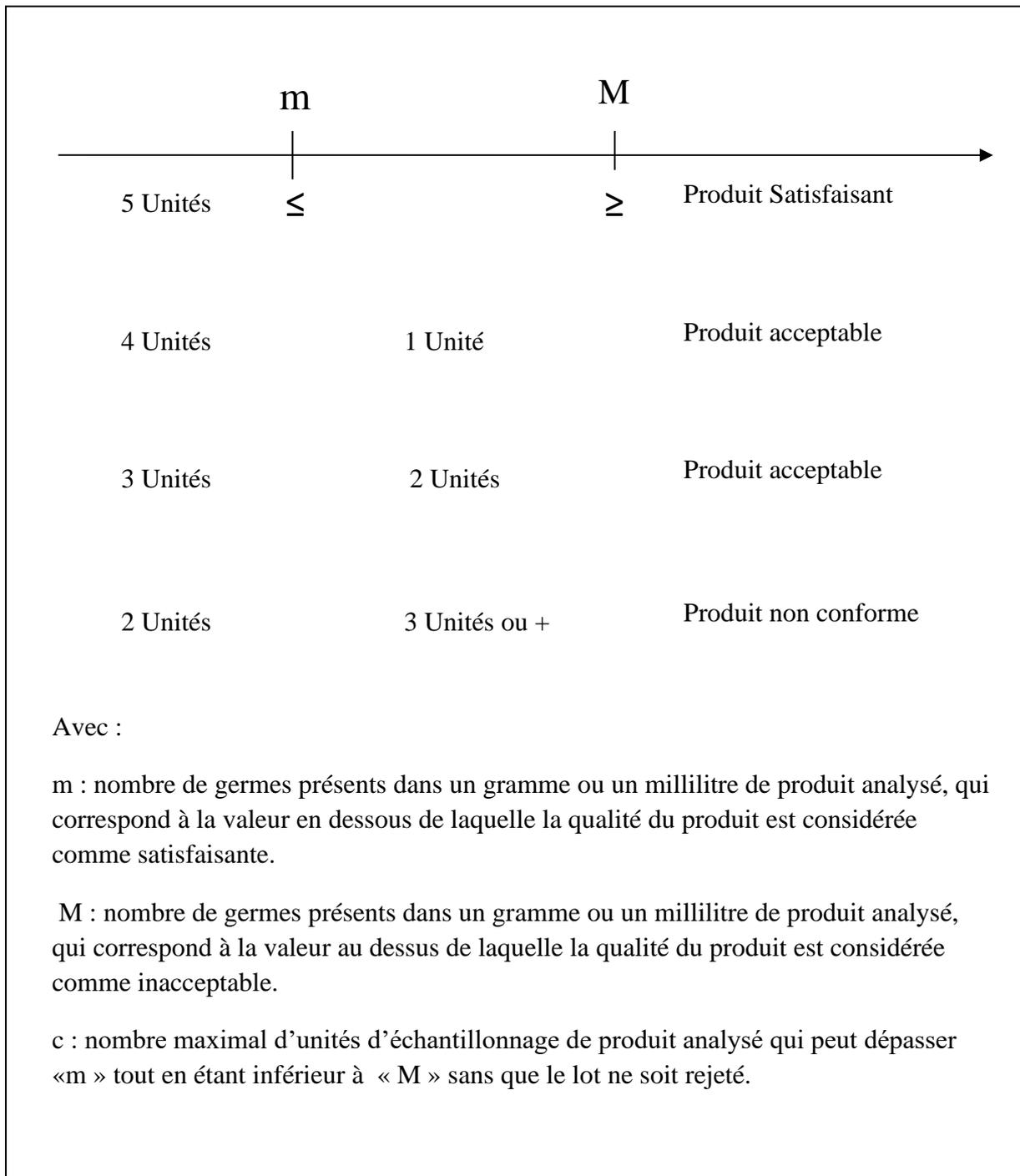


Figure A: Organigramme des critères microbiologique applicables au lait et produits laitiers (dans le cas où $c=2$).

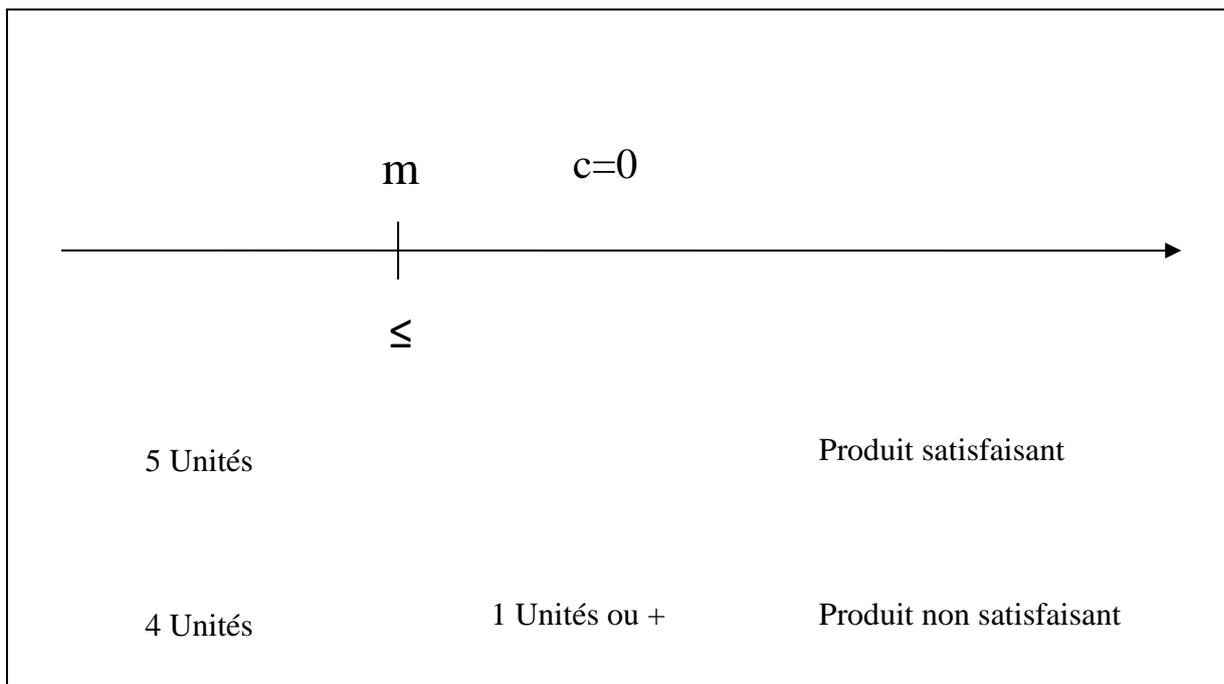


Figure B: Organigramme des critères microbiologique applicables au lait et produits laitiers (dans le cas où $c=0$).

II. Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :

1. Interprétation selon un plan à trois classes :

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à trois classes, dans le cas où la valeur « c » est différente de zéro (0).

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat du 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 compris entre « 1 » et « c », 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 » est supérieur à « c », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

Figure C : Interprétation des résultats d'analyses microbiologique (JORA N°39,2017).

