

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Benyahia - de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de  
la Vie

Département : Microbiologie Appliquée  
et Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية

وعلوم التغذية

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option** : Agroalimentaire et Contrôle de qualité

*Thème*

**Etude physico-chimique et microbiologique du produit  
laitier traditionnel « Zebda »**

**Membres de Jury :**

**Présidente** : Dr. Bourad D.

**Examineur** : Dr. Dairi S.

**Encadreur** : Dr. Laggoune S.

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> Djimli Wahida

M<sup>me</sup> Bouachir Messaouda

M<sup>elle</sup> Benaziza Fouzia

**Année Universitaire 2018 – 2019**

Numéro d'ordre (bibliothèque):.....



## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions Allah, le tout puissant et le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la volonté, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.*

*Nous exprimons nos sincères Remerciements ainsi que notre grande reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'étude et leur exprimer notre gratitude pour l'intérêt et le soutien qu'ils nous ont généralement accordés.*

*Nos remerciements s'adressent à notre encadrant : **M<sup>me</sup> LAGGOUNE Souheila** pour avoir dirigé notre projet de fin d'étude. La confiance et le soutien qu'elle nous a accordée, nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Aux membres de jury, **Dr Bourad** et **Dr Dairi** qui ont daigné laisser leurs multiples occupations pour se donner la peine à examiner ce travail, nous leurs sommes infiniment reconnaissantes. Leurs critiques et suggestions contribueront certainement à rehausser la valeur scientifique de ce travail.*

*Nous remercions monsieur **Boumaza Halim** qui nous a orienté vers le laboratoire « **Normalys** », à monsieur le directeur du laboratoire de contrôle de qualité et conformité « **Normalys** » « **Sarar abd ali** » d'avoir eu l'honneur d'accepter notre assistance au sein de son laboratoire, à toutes les personnes qui travaillent au laboratoire, pour leurs aides précieuses, et surtout l'ingénieure : « **Bouraoui Rabia Algihan** ».*

*Nous remercions toutes les personnes qui travaillent au laboratoire du Laiterie « **IGILAIT** » pour leurs aides précieuses, et surtout madame « **HAMAMA** ».*

*Enfin, nous remercions tous les enseignants du département de SNV de l'Université Mohammed Sedik Ben Yahia-Jijel, pour leur contribution à notre formation, et en particulier les enseignants de contrôle de qualité et microbiologie.*

***Wahida, Messaouda et Fouzia***



## *Dédicaces*

*Je m'incline devant « ALLAH » le Tout-Puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.*

*Je dédie ce travail à mes parents, la femme la plus patiente, ma très chère mère, source d'affection, de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour.*

*Mon idéal, l'être le plus généreux, mon chère père, source de respect, en témoignage de ma profonde reconnaissance pour tout l'effort et le soutien incessant qu'il m'a toujours apporté, (Amar et Fatima) qui ont été toujours à mes côtés pour terminer mes études.*

*Merci beaucoup Papa et Maman, je vous aime beaucoup.  
À mes frères Soufiane et sa femme Yamina, Salah, Douad,  
Mouhamed  
Que Dieu les garde pour moi.*

*À mes sœurs Salima, Abla, Aziza, Nedjet,  
Je leur souhaite tout le bonheur durant leur vie.  
À mes petits princes Abd Essamias, Isshak, Wassim  
À mes oncles et mes tantes, surtout la famille Boukideh et  
Teniba.*

*Une spéciale dédicace à mes véritables amie(es)  
Wahida, Yassmina, Chahra Messaouda, Houda, Nadia, Amina,  
Nassim.*

*À mes très chers amis (es) Alaa, Wahiba, Bessma qui occupent  
une énorme place dans mon cœur.*

*Fouzia*

## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie très spécialement à :*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père, qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Mes frères Brahim et sa femme Fayza, Naour et sa femme Siham et mes sœurs Ratiba, Chafia et son mari Amar, Rachida et Djamilia pour votre soutien et encouragements, vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux.*

*Mon fiancé : Abd Alkadir.*

*À mes amis et mes professeurs dans les cycles de ma scolarité et qui m'ont éclairé la voie du savoir.*

**WAHIDA**



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenus,  
m'ont encouragés durant toute ma période d'étude, et pour  
leurs sacrifices consentis.*

*À ceux qui ont toujours voulu que je sois la meilleure :*

*À ma chère mère et à l'âme de mon père*

*À tous mes chers frères et ma sœur*

*À mes tous chers amis sans exception*

*Une spéciale dédicace pour mon mari*

*À tous les étudiants de master II Contrôle de qualité*

*À toutes les familles et proches*

*Messaouda*



Sommaire	page
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

### Chapitre I : Généralité sur le lait

I.1.Définition	3
I.2. Composition	3
I.3. Propriétés Physico-chimiques	3
I.4. Qualité du lait	4
I.4.1. Qualité nutritionnelle	4
I.4.2. Qualité organoleptique	4
I.4.3. Qualité microbiologique	5
I.4.3.1. Flore originelle	5
I.4.3.2. Flore de contamination	5

### Chapitre II : Produits laitiers traditionnels

II.1.Rayeb	7
II.2. L'ben	7
II.4.Klila	7
II.5.Bouhezza	7
II.6.Smen	8
II.7.Zebda	8

<b>II.7.1.</b> Définition	8
<b>II.7.2.</b> Qualité nutritionnelle	8
<b>II.7.3.</b> Qualité organoleptique	9
<b>II.7.4.</b> Qualité microbiologique	9
<b>II.7.5.</b> Structure du Zebda	10
<b>II.7.6.</b> Fabrication du Zebda	11

### Chapitre III : Matériel et méthodes

<b>III.1.</b> Site de prélèvement	13
<b>III.2.</b> Méthode d'analyses physicochimiques	14
<b>III.2.1.</b> Mesure du pH	14
<b>III.2.2.</b> Détermination de l'acidité titrable	14
<b>III.2.3.</b> Détermination de la teneur en matière grasse	14
<b>III.2.4.</b> Dosage de la matière sèche	15
<b>III.2.5.</b> Détermination de taux d'humidité	15
<b>III.2.6.</b> Dosage des acides gras	15
<b>III.2.7.</b> Dosage des métaux lourds (Cadmium, zinc, cuivre)	16
<b>III.3.</b> Analyses bactériologiques	16
<b>III.3.1.</b> Préparation de la solution mère et les dilutions	16
<b>III.3.1.</b> Dénombrement de la flore mésophile aérobie mésophile (FTAM)	16
<b>III.3.2.</b> Dénombrement des Coliformes	17
<b>III.3.3.</b> Dénombrement des Streptocoques fécaux	17
<b>III.3.4.</b> Dénombrement de la flore fongique	18
<b>III.3.6.</b> Dénombrement de <i>Clostridium sulfito- réducteurs</i>	18
<b>III.3.7.</b> Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
<b>III.3.8.</b> Recherche de <i>Salmonella</i>	18

<b>III.3.9.</b> Dénombrement des entérobactéries	19
<b>III.3.10.</b> Dénombrement des bactéries lactiques	19
<b>III.3.10.1.</b> <i>Leuconostoc</i>	19
<b>III.3.10.2.</b> <i>Lactococcus</i>	19
<b>III.3.10.3.</b> <i>Lactobacillus</i>	19
<b>III.4.</b> Purification et isolements des bactéries lactiques	19
<b>III.4.1.</b> Techniques d'isolement	19
<b>III.4.2.</b> Purification	20
<b>III.4.3.</b> Pré-identification des isolats	20
<b>III.4.3.1.</b> Examen macroscopique	20
<b>III.4.3.2.</b> Examen microscopique	20
<b>III.4.3.3.</b> Coloration de Gram	20
<b>III.5.</b> Identification des isolats	21
<b>III.5.1.</b> Tests physiologiques	21
<b>III.5.1.1.</b> Recherche de catalase	21
<b>III.5.2.</b> Tests biochimiques	21
<b>III.5.2.1.</b> Recherche de l'arginine di hydrolase	21
<b>III.5.2.2.</b> Production de l'acétoïne	21
<b>III.5.2.3.</b> Recherche du type fermentaire	22
<b>III.5.2.4.</b> Test de milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides	22
<b>III.5.2.5.</b> Test de Nitrate réductase	22
<b>III.5.2.6.</b> Test du Gelose Three Sugar Inrro	23
<b>III.5.2.7.</b> Test du Mannitol-mobilité	23
<b>III.5.2.8.</b> Recherche d'Hydrolase	23
<b>III.5.2.9.</b> Recherche de citrate de Simmons	23
<b>III.5.2.10.</b> Test du Rouge de méthyle/ Vosges- Proskauer	23
<b>III.5.2.11.</b> Test d'Urée-indole	24

### Chapitre IV : Résultats et Discussion

<b>IV.1. Résultats physicochimiques</b>	25
<b>IV.1.1. pH</b>	25
<b>VI.1.2. Acidité Dornic</b>	25
<b>VI.1.3. Matière sèche</b>	26
<b>VI.1.4. Taux d'humidité</b>	26
<b>VI.1.5. Matières grasses</b>	27
<b>VI.1.6. Acides gras</b>	27
<b>VI.1.7. Métaux lourds</b>	28
<b>IV.2. Résultats microbiologiques</b>	30
<b>IV.2.1. Germes aérobies</b>	30
<b>IV.2.2. Coliformes totaux et fécaux</b>	30
<b>IV.2.3. Streptocoques fécaux</b>	31
<b>IV.2.4. Levures et moisissures</b>	31
<b>IV.2.5. <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs</b>	32
<b>IV.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i></b>	32
<b>IV.2.7. <i>Salmonella</i></b>	32
<b>IV.2.8. Entérobactéries</b>	33
<b>IV.2.9. Les bactéries lactiques</b>	33
<b>IV.2.9.1. Isolement et identification des bactéries lactiques à partir du Zebda traditionnel</b>	34
<b>Conclusion</b>	37
<b>Références bibliographiques</b>	38
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

---

**AFNR** : Association Française de Normalisation.

**AG** :Acide Gras.

**AGI** :Acide Gras Insaturé.

**CPG** :Chromatographie Phase Gazeuse.

**D/C** : Double Concentration.

**EST** :Extrait Sec Total.

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.

**MS** :Matière Sèche.

**MRS**: Gélose de man Rogosa et Sharpe.

**OGA**: Gélose glucoséeOxytétracycline

**PCA**: Gélose Plate Count Agar.

**pH** : potentiel d'Hydrogène.

**Rpm**: Round par minute.

**SFB** : sélénite –Cystéine.

**S/C**: Simple Concentration.

**TSI**: Gelose Three Sugar Inrro

**UFC**: Unité Formatrice de Colonies.

**VRBG** : Gélose Glucosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre.

## Liste des tableaux

---

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>page</b>
<b>1</b>	Composition moyenne du lait de vache pour 1 litre.	3
<b>2</b>	Les différentes sources de contamination du lait cru.	6
<b>3</b>	Caractérisations physicochimiques du Zebda Algérien.	8
<b>4</b>	Différents groupes bactériens du Zebda.	10
<b>5</b>	Dates des prélèvements.	13
<b>6</b>	Résultats des tests de coloration de Gram, et observation microscopique.	35
<b>7</b>	Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.	35

:

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>page</b>
<b>1</b>	Microstructure du Zebda à température ambiante.	11
<b>2</b>	Schéma représentant les étapes de fabrication de quelques produits laitiers traditionnels algériens.	11
<b>3</b>	Photo du Zebda et babeurre.	12
<b>4</b>	Produits laitiers traditionnels « Zebda ».	13
<b>5</b>	Butyromètre et centrifugeuse de séparation de matière grasse des produits analysés.	15
<b>6</b>	Résultats de mesure du pH des échantillons.	25
<b>7</b>	Résultats de mesure d'Acidité des échantillons.	26
<b>8</b>	Résultats de mesure de la matière sèche des échantillons.	26
<b>9</b>	Résultats du taux d'humidité des échantillons.	27
<b>10</b>	Résultats de la matière grasse des échantillons.	27
<b>11</b>	Teneur en cadmium des échantillons.	28
<b>12</b>	Teneur en cuivre des échantillons.	29
<b>13</b>	Teneur en zinc des échantillons.	29
<b>14</b>	Résultats du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile des échantillons.	30
<b>15</b>	Résultats du dénombrement de la flore fongique des échantillons.	31
<b>16</b>	Résultats du dénombrement des entérobactéries des échantillons.	33
<b>17</b>	Résultat du dénombrement des bactéries lactiques des échantillons.	33
<b>18</b>	L'aspect microscopique des souches isolées.	34

## Introduction

---

L'Algérie a une tradition des produits laitiers bien établie, transmise de génération en génération, qui a un aspect important de la culture algérienne. Le lait abondant durant certain moment de l'année, difficile de le conserver et facilement périssable, surtout dans les zones à climat chaud. Dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive et en même temps permettre la commercialisation, les femmes algériennes comme toutes les cultures pastorales, ont toujours été les principaux protagonistes autour de la transformation du lait. Cette dernière se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques (**Claps et Morone, 2011**).

En Algérie, le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en (Lben), en (Zebda) ou en (Dhan) et autres produits laitiers. Ces produits retiennent leurs qualités désirables même après une longue conservation à température ambiante. Zebda est un produit laitier algérien, fabriqué à partir du lait cru entier par des méthodes traditionnelles. La fermentation du lait cru aboutit à la formation d'un lait caillé qui est baratté jusqu'à la séparation des grains du Zebda. Il est conditionné par la suite dans des pots en plastiques fermés hermétiquement et entreposés à une basse température. Ce produit cru n'ayant pas subi au préalable un traitement thermique, contient au minimum 82% de matière grasse selon la réglementation algérienne (**Marth et Steele, 2001**).

Zebda a été utilisé non seulement comme aliment, mais aussi à usage cosmétique, médical et pour les cérémonies religieuses. En Algérie, le Zebda et le Dhan ont été la fierté de la tradition culinaire depuis des siècles. Leur préparation est faite selon un savoir-faire spécifique à la région est transmis d'une génération à une autre. Ces deux produits possèdent une qualité microbiologique composée d'une flore indigène locale qui reflète les conditions climatiques de la région (**Bensalah et al., 2011**).

La microflore microbienne du lait cru, composée essentiellement des bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (laits fermentés, fromages). De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir du lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchées par le consommateur (**Ouadghiri, 2009**).

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'arômes 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 (**Alaoui et al., 2016**).

L'objectif de notre travail qui consiste à faire des analyses bactériologiques et physicochimiques pour déterminer la qualité du Zebda traditionnel des deux régions Texanna et Taher (wilaya de Jijel).

## Introduction

---

Cette étude est divisée en deux parties, une partie bibliographique dans laquelle un ensemble de données et d'informations concernant notre thème ont été collectées. Cette partie est partagée en deux chapitres :

- *Le premier chapitre* est consacré à une synthèse bibliographique articulée sur le lait de façon générale ;
- *Le deuxième chapitre*, montre les différents produits laitiers et les caractéristiques physicochimiques et bactériologiques du Zebda.

La deuxième partie, porte sur une étude expérimentale exposant le matériel et les méthodes utilisées tout au long de notre travail. La dernière partie est consacrée aux résultats et discussion, ainsi qu'une conclusion afin d'achever notre travail.

### I.1. Définition du lait de vache

Selon *Codex Alimentarius (1999)* : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum ».

Le lait de vache est un aliment privilégié et parfaitement adapté pour le veau, est totalement contre nature, inadapté et déconseillé à tous les êtres humains, quel que soit leur état de santé et quel que soit leur âge (même pour ceux qui affirment très fort le supporter très bien), mais c'est encore plus vrai et plus les implications de cette alimentation anormale sont encore plus importantes et plus graves chez les enfants, et pour les personnes âgées déjà affaiblies par des décennies d'alimentation erronée et d'erreurs (*Quigley et al., 2013*).

### I.2. Composition du lait de vache

Le lait de vache est un lait caséineux. Il est constitué d'une partie majoritaire d'eau, les glucides principalement représentés par le lactose, les lipides, essentiellement des triglycérides ; les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire et les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse-résultat dans le tableau 1 (*Roudaut et Lefraq, 2005*).

**Tableau 1** : Composition moyenne du lait de vache pour 1litre (*Roudaut et Lefraq, 2005*).

Nutriments	Quantités (g)	Caractéristiques
<b>Eau</b>	870	/
<b>Protéines</b>	35	La caséine est la plus importante : 30g, c'est une protéine globulaire associée à l'acide phosphorique. Elle contient tous les acides aminés : Lactalbumine et Lactoglobuline.
<b>Glucides</b>	50	Il s'agit du lactose qui se transforme facilement en acide lactique.
<b>Lipides</b>	35	Essentiellement des triglycérides moins denses que l'eau, ils forment la crème.
<b>Minéraux</b>	9	Calcium, phosphore, un peu de potassium, de chlorure de sodium. Très pauvre en fer.
<b>Vitamines</b>	Variables	Toutes les vitamines sont présentes, on retiendra A et D dans la crème (liposoluble), B1 et B2 (hydrosolubles). Un peu de vitamine C selon l'alimentation du bétail.

### I.3. Propriétés Physico-chimiques du lait

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stables, elles dépendent soit de l'ensemble des constitutions comme sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité. Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais possède un pH de l'ordre de 6,7.

S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium, donc une diminution du pH.

Le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donnée les différences de la composition chimique, notamment en caséines et en phosphate. Le lait a une densité varie de 1,028 à 1,034 ; elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C (**Vierling, 2008**).

Le point de congélation du lait est la température de passage de l'état liquide à l'état solide. L'abaissement du point de congélation peut aussi être causé par la subdivision du lactose en plusieurs molécules plus petites. Il peut varier de - 0,52 à - 0,56 °C ; toute variation supérieure à - 0,52 °C est un indice de mouillage. Il permet la détection du mouillage du lait à partir de 3% (**Mahaut et al., 2000**).

Comme pour le point de congélation, le point d'ébullition du lait est de 100.5 °C. Il est fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration du lait et diminue avec la pression. Ce phénomène dans les procédés de concentration du lait (**Vignola, 2002**).

## **I.4. Qualité du lait**

### **I.4.1. Qualité nutritionnelle**

Le lait est défini comme un aliment presque complet, car il est une source riche et appréciable d'éléments nutritifs, assure à l'organisme une part majeure de ses besoins en énergie, en apportant les éléments indispensables, excellente source de calcium, et de phosphore mais il est carencé notamment en fer et en acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) (**Mahaut et al., 2000**). C'est l'aliment complémentaire par excellence des glucides apportés par les céréales et les tubercules.

Le potentiel énergétique d'un litre de lait est respectivement de 2720 KJ, 2090 KJ et 1460 KJ suivant qu'il est entier, demi-écrémé ou écrémé (**Kalandi et al., 2015**).

Le lait assure aussi une triple sécurité à l'homme : apport protéique, minéral ou en vitamine. Il contient des protéines riches en résidus d'acides aminés essentiels et des minéraux d'intérêt nutritionnel (calcium et phosphore) sous forme organique et minérale facilement assimilable par l'organisme. Un litre de lait d'origine bovine contient environ 50g de lactose, 32g de protéines et 40g de matière grasse (**Jeantet et al., 2008**).

### **I.4.2. Qualité organoleptique**

Le lait est de couleur blanche, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres due en grande partie à la matière grasse et aux pigments de carotène, aux pigments de carotène (la vache transforme le  $\beta$ -carotène ou lactoflavine (vitamine A) qui passe directement dans le lait) (**Fredot, 2005 ; Biatcho, 2006**).

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur).

Au cours de la conservation, le lait est caractérisé par une odeur aigre due à l'acidification par l'acide lactique. Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. Il a une saveur légèrement sucrée due à la présence d'un taux de lactose. Elle évolue en fonction de la température du lait lors de la dégustation, et de l'alimentation de l'animal (**Vierling, 2003**).

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Elle est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes (**Fredot, 2006**).

### **I.4.3. Qualité Microbiologique**

Le lait est de par sa composition, il est un substrat très favorable au développement des microorganismes. On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous-classes : la flore d'altération et la flore pathogène (**Leyral et Vierling, 2001**).

#### **I.4.3.1. Flore originelle**

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores. La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques.

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines » mais leur action est de très courte durée environ 1 heure.

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés (**Fotou et al., 2011; Alaoui et al., 2016**).

#### **I.4.3.2. Flore de contamination**

Cette flore correspond à l'ensemble des microorganismes contaminant le lait de la traite jusqu'à la consommation. Elle est composée d'une part, d'une flore d'altération, qui cause des défauts sensoriels ou qui réduit la durée de conservation des produits, et d'autre part, d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (**Vignola, 2002**).

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens d'origines diverses qui sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les différentes sources de contamination du lait cru (Guiraud, 2003).

Sources	Germes
<b>Personnel</b>	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
<b>Air</b>	<i>Streptomyces</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , levure et moisissures.
<b>Intérieur de pis</b>	<i>Streptomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Micrococcus</i> .
<b>Extérieur de pis</b>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> .
<b>Fèces</b>	<i>Escherichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> .
<b>Appareil de traite</b>	<i>Streptomyces</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , Coliformes, <i>Clostridium</i> .
<b>Litières</b>	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i> .
<b>Sol</b>	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> .
<b>Alimentation</b>	Levure et moisissures.
<b>Eau</b>	<i>Clostridium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Bacillus</i> , Bactéries lactique, Coliformes, <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Alcaligenes</i> .

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de la conservation sous la forme fraîche, a conduit au développement des technologies de productions traditionnelles. La transformation du lait en produits laitiers traditionnels algériens, tels que raïb, lben, jben, klila, bouhezza, smen et zebda est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée. Cette transformation fait partie intégrante de l'héritage et a une grande importance culturelle médicinale et économique.

La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (**Takahiro *et al.*, 2007; Shan-na *et al.*, 2011**).

### II.1. Raïb

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie (lait fermenté). Il a une très ancienne tradition en Algérie, il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait est spontanée, le produit à un aspect de yaourt (**Mechai et Kirane, 2008**).

### II.2. L'ben

L'ben est fabriqué à partir du Raïb qui est baratée dans une outre appelée « Chekoua » faite de peau de chèvre. Le barattage dure 30 à 40 minutes (**Benkerroum et Tamime, 2004**). Différents fromages traditionnels tels que Bouhezza et Klila sont fabriqués à partir de lben (**Aissaoui, 2004**).

### II.3. Jben

Jben est un fromage traditionnel frais, sa préparation repose sur la coagulation de lait cru (coagulation enzymatique), tout d'abord le lait de chèvre ou de vache ou un mélange entre les deux est laissé à fermenter spontanément à température ambiante jusqu'à la coagulation, après le lait coagulé est égoutté pour obtenir le caillé qui est le Jben (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

### II.4. Klila

C'est un fromage frais ; maigre obtenu après coagulation naturelle du lait (vache, chèvre) (**Guetouache et Guessas, 2015**). Ce fromage est fabriqué à partir de lben qui se modifie par l'augmentation de son pH, puis chauffé jusqu'à la séparation du lactosérum, la phase aqueuse est séparée, le coagulum est récupéré et appelé klila (**Mennane *et al.*, 2008**).

### II.5. Bouhezza

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, préparé à partir du lait de vache. Il est très répondu dans l'Est Algérien, sa préparation se fait par une quantité initiale de lben, durant toute la période de fabrication des quantités supplémentaires de lben seront ajoutées. Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément dans la chekoua pendant la période de 3 à 4 mois (**Aissaoui *et al.*, 2012**).

## II.6. Smen (beurre clarifié)

Le Smen c'est la Zebda ou Dhan qui est lavé, salé et malaxé , puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante (**Luquet et Corrieu, 2005**).

## II.7. Zebda

### I.7.1. Définition

Selon le *Codex Alimentarius*, Zebda (beurre traditionnel) est un produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau dans huile. Il est obtenu par barattage de la crème du lait (**Benkerroum, 2013**).

Zebda peut être préparé à partir du lait de différentes espèces ; le lait cru est soumis à une acidification spontanée à température ambiante jusqu'à la coagulation (**Idoui et al., 2010**).

Zebda obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau. Une caractérisation physicochimique d'un Zebda Algérien est donnée dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Caractérisations physicochimiques du Zebda Algérien (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

Paramètre	Valeurs moyennes
Humidité	14,0%
NaCl	1,5%
Lactose	1,2 g/100g
Matières grasses	81,0 g/100g
Protéines	3,2 g/100g
Lipides insaponifiables	0,3 g/100g
Indice d'acide	52,0 mg KOH/g lipide
Indice peroxyde	3,7 mg KOH/g lipide

### II.7.2. Qualité nutritionnelle

Zebda contient la presque totalité des lipides du lait et 2,7g de protéines pour 100g. Les lipides sont des glycérides possédant : 65% d'acides gras saturés, 35% d'acides gras insaturés, 15% d'acides gras sont à chaîne courte et moyenne particulièrement digestes et 3% à 5% des acides gras polyinsaturés essentiels (acide linoléique et linoléique).

Zebda est la seule matière grasse qui apporte de la vitamine A en quantité notable (une ration journalière de 24g couvre environ 30% des besoins en vitamine A). Il est fabriqué à partir de la crème (le barattage) et contient 0,8g de protéines pour 100g (**Vilain, 2010**). Son faible point de fusion le rend digeste : un temps de séjour dans l'estomac plus faible que celui des autres matières grasses animales et une vitesse d'absorption plus grande. Zebda contient de petits pourcentages de protéines, sucre du lait et de l'eau qui en font un substrat approprié pour microorganismes (**Ghasemloy et al., 2017**).

### I.7.3. Qualité organoleptiques

Selon la saison, le goût, la texture et la couleur du Zebda, les caractéristiques organoleptiques changent. Zebda de printemps fait avec du lait de vaches nourries à l'herbe, aura plus d'arôme et une texture plus tartinable. De même, Zebda de printemps sera jaune pâle tandis que Zebda d'hiver sera blanc. Aussi, la texture du Zebda se fait en fonction des rapports entre la matière grasse liquide et la matière grasse solide (Samet-Bali *et al.*, 2009).

### II.7.4. Qualité microbiologique

La composition de la flore du Zebda traditionnel, dépend non seulement de la qualité microbiologique du lait cru, mais aussi des ustensiles utilisées lors de la fermentation du lait et lors du barattage. Il peut contenir des bactéries lactiques, des levures et des moisissures. L'ensemble de ces microorganismes sont représentées dans le tableau 4. Les germes et espèces de bactéries lactiques participant dans la fabrication du Zebda sont des bactéries mésophiles (Benkerroum et Tamime, 2004).

Les microorganismes du Zebda peuvent être groupés en deux catégories : Les bactéries lactiques causent une aussi forte acidité, tandis que les bactéries lipolytiques détruisent et oxydent la teneur en graisse conduisant à la rancidité du Zebda, et les bactéries protéolytiques dégradent caséine du Zebda causant le goût de fromage. Les Coliformes, entérobactéries et autres bactéries sont responsables de la coloration et des goûts indésirables dans le Zebda. La flore dominante du Zebda est constituée par la flore lactique naturelle ou introduite sous forme de levain. La flore naturelle est constituée par *Lactococcus diacetylactis* à côté de *Lactococcus cremoris*. Ces deux espèces sont responsables de la production d'arôme dans le Zebda (Bettach *et al.*, 2012).

Les altérations du Zebda sont provoquées par les bactéries psychrophiles (*Pseudomonas* et bactéries apparentées) ou leurs lipases qui entraînent une acidité. Les odeurs putrides peuvent être provoquées par *Shewanella putrefaciens*, des colorations diverses sont provoquées par des moisissures : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Geotrichum*. les moisissures sont microorganismes respectables de la détérioration du Zebda , la majorité des espèces étant *Thamnidium*, *Cladosporium* et *Aspergillus* (Benkerroum et Tamime, 2004).

Tableau 4 : Différents groupes bactériens du Zebda (Zagorec *et al.*, 2012).

Groupes bactériens	Caractéristiques
Bactéries mésophiles aérobies	C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à l'air et aux températures moyennes (entre 25 et 40°C). Certaines bactéries sont pathogènes pour l'homme.
<i>Coliformes totaux</i>	Ce groupe contient toutes les bactéries aérobies ou anaérobies facultative, Gram négative asporulée en forme de bâtonnets, mobiles, ou non, ils ferment le lactose.
<i>Staphylococcus</i>	Ces bactéries sont des cocci, Gram positive et catalase positive.
Levures	Leur présence n'est pas souhaitée dans les produits alimentaires, ce germe provoque des altérations.
Moisissures	Les moisissures aboutissent à une modification de la valeur nutritionnelle du produit, à l'apparition de saveurs indésirables, dans d'autres cas certaines moisissures élaborent des substances toxiques qui peuvent provoquer des intoxications.

### II.7.5. Structure du Zebda traditionnel

La matière grasse existe dans le Zebda sous deux formes : matière grasse globulaire et libre. Une partie de la matière grasse sous ces deux formes est à l'état cristallisé et un peu à l'état liquide. La dureté et la consistance du Zebda dépendent donc de la proportion et de la composition de ces deux formes de matière grasse.

Le globule gras joue un rôle prépondérant dans la fabrication du Zebda, et les caractéristiques physiques et chimiques de la matière grasse du lait varient avec la race, la période de lactation et l'alimentation. Ainsi, en été la proportion des acides gras insaturés, plus mous, est plus grande qu'en hiver. Les agglutinines peuvent s'associer à la couche périphérique des globules gras individuels et favoriser leur juxtaposition sous forme de grappes de plusieurs centaines d'unités, facilitant d'autant l'ascension de la matière grasse (Figure 1). De plus, certains globules ont une membrane plus ou moins enveloppante et forment ainsi différents types d'agglomérations de globules gras (Paul, 2010).

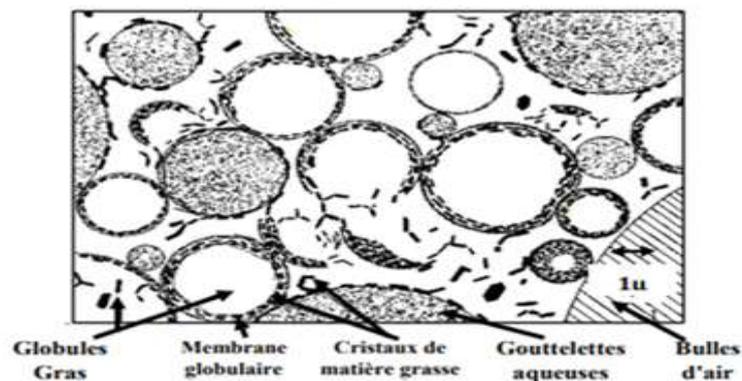


Figure 1 : Microstructure du Zebda à température ambiante (Walstra *et al.*, 1999).

II.7.6. Fabrication traditionnelle du Zebda

Il est reconnu en Algérie depuis l’antiquité que les femmes des nomades ont joué un rôle très important dans la transformation du lait en produits dérivés traditionnels, notamment le Zebda (Le Quellec *et al.*, 2006).

La préparation du Zebda ou beurre frais est passée par différentes étapes représentées dans la figure 2. Tout d’abord le lait cru est laissé à fermenter à température ambiante 24h à 72h jusqu’à la coagulation du lait et la formation d’un produit laitier traditionnel appelé «Raïb », ce dernier est placé dans un sac de peau appelé « Chacoua » (environ 10L), puis baratté pendant 40 à 60min jusqu’à la formation d’un liquide appelé « L’ben » et une matière grasse appelé « Zebda » (Idoui *et al.*, 2010). Le barattage du lait se fera le lendemain s’il fait froid. En cas de chaleur, le lait collecté sera battu le jour – même.

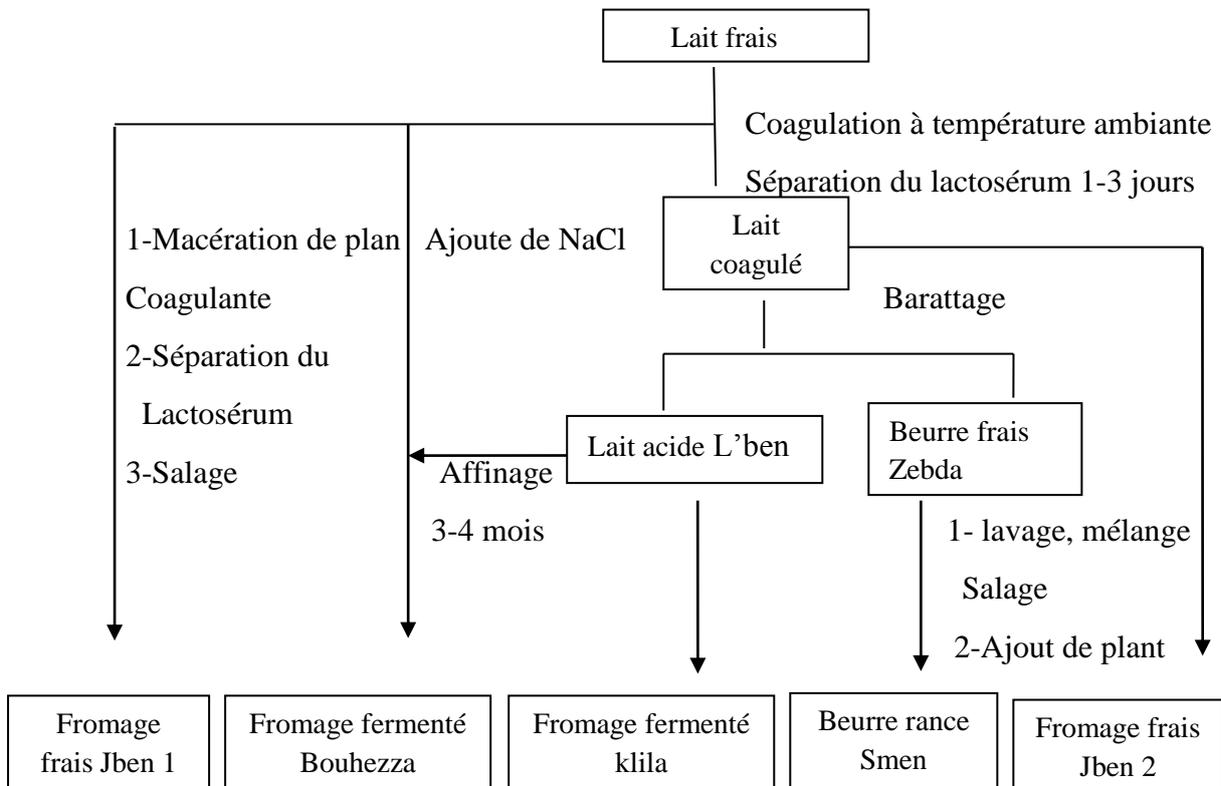
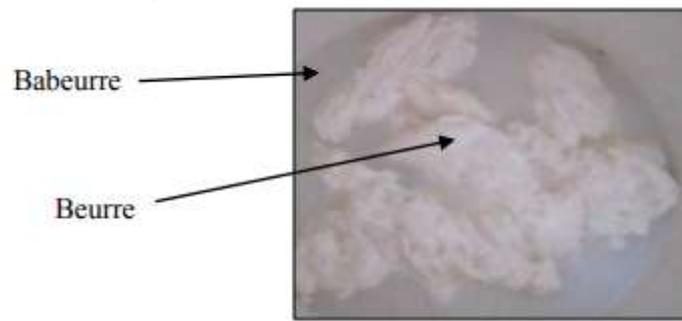


Figure 02 : Schéma représentant les étapes de fabrication de quelques produits laitiers traditionnels algériens (Aissaoui *et al.*, 2012).

L’extraction du Zebda se fait selon les étapes suivantes :

- Un ajout d'eau froide permet de refroidir et de regrouper les grains du Zebda. Puis, le processus de barattage se poursuit pendant quelques minutes jusqu'à l'obtention de globules grasses.
- Une filtration permet quant à elle la séparation entre le babeurre et les grains du Zebda obtenu (Figure 3). La récupération du Zebda s’effectue généralement à la main (Benkerroum et Tamine, 2004).



**Figure 3 :** Photo du Zebda et babeurre (Benkerroum et Tamine, 2004).

Zebda est un produit périssable ; il doit être conservé à basse température (2 à 4°C) ou consommé dès sa production. Comme les moyens de réfrigération sont pratiquement inexistant, et afin de mieux conserver ce produit, il est nécessaire de le transformer en produit dérivé.

Ce dernier est connu chez les nomades sous le nom de «Dhan» et est conservé traditionnellement dans un récipient appelé « O'kka » à température ambiante (Benkerroum et Tamine, 2004 ; Ghasemloy *et al.*, 2017).

Notre étude expérimentale comporte deux parties :

La partie microbiologique est réalisée au niveau du laboratoire de contrôle de qualité et de conformité « Normalyse » de la wilaya de Jijel du 05 Mai au 31 Mai 2019. Alors que l'étude physicochimique est réalisée au sien du laboratoire de contrôle de qualité du département de microbiologie appliquée et des sciences alimentaires de l'université Mohammed Saddik Ben Yahia-Jijel et la matière grasse est conçue au laboratoire de laiterie « IGILAIT» Tassoust-Jijel.

### III.1. Echantillonnage

Les échantillons du Zebda issus du défirant lait de vache, ont été fabriqués traditionnellement. Le prélèvement du Zebda se réalise à l'aide d'une spatule stérilisée dans des sachets en plastique environ 250g (Figure 4). Les analyses sont portées sur deux échantillons du Zabda (Tableau 5), vendue dans lalaiterie des différentes régions de Jijel (Texanna et Taher).



**Figure 4 :** Produits laitiers traditionnels « Zebda».

**Tableau 5 :** Dates des prélèvements.

Échantillons	Échantillon 1	Échantillon 2
Dates de prélèvements	05-05-2019	05-05-2019
	12-05-2019	12-05-2019
	19-05-2019	19-05-2019

Les conditions essentielles à respecter pour le prélèvement sont d'abord le respect des règles d'asepsie et le non modification des flores présentes dans le produit. Dans la mesure du possible, les échantillons du produit à analyser doivent être amenés au laboratoire dans leur conditionnement d'origine, ce qui évite certaines contamination.

Les manipulations effectués au cours du prélèvement ne doivent en aucun cas être à l'origine d'une contamination : nécessité des instruments stériles et de travailler stérilement.

### III.2. Méthode d'analyses physicochimiques

Les analyses physicochimiques d'un produit sont réalisées afin de garantir les caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de ce dernier.

#### III.2.1. Mesure du pH

Le pH est la concentration en ions d'hydrogène ( $H^+$ ) dans la solution :  $pH = -\log [H_3O^+]$ . La mesure du pH consiste à la mesure de la différence du potentiel à une température ambiante, entre une électrode de mesure et une électrode de référence introduites dans le produit. Il est l'une des mesures que l'on doit effectuer le plus fréquemment, il est relié à la teneur en ions  $H^+$  et aussi à l'acidité et l'alcalinité de l'échantillon.

Le pH-mètre est l'appareil le plus utilisé pour la mesure du pH. D'abord, brancher le pH-mètre, le laisser se stabiliser pendant quelques minutes, installer les électrodes aux entrées correspondantes sur l'appareil, étalonner l'appareil à l'aide d'une solution tampon. Ensuite rincer l'électrode avec de l'eau distillée, puis plonger l'électrode dans l'échantillon à analyser et lire la valeur du pH directement. Après chaque mesure la sonde du pH est rincée un court instant à l'eau purifiée (eau distillée) puis rapidement immergée dans le liquide de conservation indiqué par le constructeur (Benaissa *et al.*, 2016).

#### III.2.2. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable exprime le nombre de gramme d'acide lactique présent dans un litre de lait. Elle consiste en une neutralisation par la soude (N/9) des composants acides du lait en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphtaléine. L'unité conventionnelle de l'acidité est le degré dornic ou  $1^\circ D$  représente 0,1g d'acide lactique par litre de lait (Moulay *et al.*, 2006).

Dans un bécher, on introduit 10g d'échantillon, on ajoute lentement 20ml d'eau distillée et agitant le bécher jusqu'à homogénéisation, puis on prend 2 à 4 gouttes d'un indicateur coloré (phénolphtaléine) qui sont ajoutées à l'échantillon. En fin, la titration est réalisée avec une solution de soude (N/9) jusqu'à apparition de la coloration rose pâle et qui persistera pendant 10 secondes, noter le volume de NaOH utilisé pour la titration (AFNOR 1986). L'acidité exprimée en degré Doronic est donnée par la relation suivante :

$$\text{Acidité } ^\circ D = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

**V** : la chute de burette ou volume de la soude.

#### III.2.3. Détermination de la teneur en matière grasse (la méthode acido-butyrométrique)

L'acido-butyrométrie de GERBER est utilisée pour la détermination du taux de matière grasse. Elle est basée sur la dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique et la séparation de la matière grasse, dans un butyromètre est favorisée par centrifugation et par addition d'une petite quantité d'alcool iso-amylque. 10ml d'acides sulfuriques  $H_2SO_4$  ( $d=1,82$ ) sont versés dans un butyromètre (Figure 5), par l'intermédiaire d'un distributeur, et à l'aide d'un système de pipetage, un volume de produit préparé (5g du Zebda) est ajouté le butyromètre, le col en bas est placé pendant 10mn dans un bain-marie et puis 1ml d'alcool iso-amylque est versé. Le butyromètre est bien fermé par un bouchon.

Afin de favoriser la dissolution des protéines par l'acide sulfurique, des agitations et des retournements du haut en bas sont effectués soigneusement jusqu'à ce qu'un mélange homogène, soit obtenu. Le butyromètre est placé par la suite dans une centrifugeuse et le mélange est centrifugé à 1000Rpm pendant 10min et à 60°C.

Le résultat est lu sur la graduation du butyromètre après arrêt de la centrifugeuse détermine la quantité de matière grasse en pourcentage % (Serhan, 2008).



**Figure 5.** Butyromètre et centrifugeuse de séparation de matière grasse des produits analysés.

#### III.2.4. Dosage de la matière sèche

C'est une dessiccation par évaporation d'une certaine quantité de l'échantillon et pesée du résidu. Dans une capsule séchée et tarée introduire 9g du Zebda puis l'introduire dans l'étuve réglée à 103°C±2°C et l'y laisser 3h. Mettre ensuite les capsules dans un dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante (Quseamet *al*, 2009). La matière sèche exprimée en pourcentage massique est égale à :

$$\text{EST} = (\text{P3} - \text{P1}) / (\text{P2} - \text{P1}) * 100$$

Avec :

**EST** : Extrait Sec Totale.

**P1** : le poids de la capsule vide.

**P2** : le poids de la capsule + poids du Zebda avant étuvage.

**P3** : le poids de la capsule plus celui du fromage après étuvage et dessiccation.

#### III.2.5. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve, à 103°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. C'est une méthode gravimétrique qui consiste en la détermination de la perte de poids par dessiccation (Berger *et al.*, 2004).

Le taux d'humidité (H%) est ensuite calculé selon la formule suivante :

$$\text{H}\% = 100 - \text{EST}$$

#### III.2.6. Dosage des acides gras

La préparation des esters méthyliques pour le dosage des acides gras. D'abord, dans un tube avec bouchon, on ajoute 20mg de matière grasse avec 0.5ml d'heptane, puis on agite le mélange et mettre de 0.2ml de NaOH à 2mol/L dans le méthanol. Ensuite, porter au bain thermostaté à 60°C pendant 30s à 1min et agiter 10s, et on ajoute aussi 0.2ml de HCl à 2mol/L et on agite et transvase dans un petit tube en verre et laisser décanter.

Enfin, on prélève 100µL de la phase supérieure et met dans un tube en verre et faire évaporer en milieu ventilé et reprendre par 50µL d'heptane ou de chloroforme.

Après extraction à l'heptane, les esters méthyliques ont été ensuite analysés par CPG sur des colonnes polaires pour obtenir le profile en AG (Serhan, 2008).

### III.2.7. Dosage des métaux lourds (Cadmium, zinc, cuivre) par spectrophotomètre d'absorption atomique avec flamme

Le dosage des métaux lourds se fait par acide nitrique qui diminue le pH inférieur à 2 par addition. Effectuer la lecture à la longueur d'onde 283nm. Tenir compte de la valeur lue pour le témoin, se reporter à la courbe d'étalonnage (Adriane *et al.*, 1998).

## III.3. Analyses bactériologiques

### III.3.1. Préparation de la solution mère et les dilutions

On pèse 25g du Zebda et on mélange avec 225ml d'une solution de Ringer dans erlenmeyer, ensuite bouché avec un papier aluminium, le mélange est ajouté dans le bain marie à 45°C pendant 20min. Les dilutions faites comme suit : 1ml de la solution mère est mis dans 9ml de la solution de Ringer avec une homogénéisation. A partir de cette dilution d'autres dilutions sont effectuées jusqu'à 10<sup>-3</sup> (Guiraud, 2003).

### III.3.2. Dénombrement de la flore mésophile aérobique mésophile (FTAM)

Cette flore appelée aussi « flore aérobique mésophile (FAMT) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations. La FTAM est une microflore complexe qui constitue un élément majeur de la pollution microbienne. Il s'agit des microorganismes qui se développent bien sur milieu ordinaire (Guiraud, 2003).

Le dénombrement des germes aérobies, c'est tenter de compter tous les microorganismes présents, afin d'apprécier la pollution microbienne du produit. Ce dénombrement dépend des conditions de température et d'oxygénation. Pour la recherche de cette flore on prélève aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la solution mère (10<sup>-1</sup>) et le place dans une boîte de pétri stérile, puis on coule la gélose PCA et mélanger la boîte par un mouvement de formes 8, la même technique pour les autres dilutions 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> (l'ensemencement en masse). L'incubation des boîtes s'effectue à 30°C pendant 48h. Chaque boîte retenue devra contenir à plus 300 colonies et o moins 15 colonies. On calcule le nombre N des microorganismes présents dans l'échantillon à l'aide de la forme suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n1+0.1 n2) d}$$

C : nombre de colonies comptées par boîte.

n1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : nombre de boîtes comptées dans la deuxième dilution.

d : Facteur de dilution de la première dilution (JORA, 2017).

### III.3.3. Dénombrement des Coliformes

Les coliformes totaux sont des germes ubiquitaires dans les milieux naturels et leur présence n'est pas synonyme de contamination mais leur grande résistance utilisée comme un indicateur de présence ou de manque d'hygiène.

Pour les coliformes fécaux, leur présence dans l'échantillon est une indication d'une contamination fécale récente (**Guiraud, 2003**).

Le dénombrement est effectué par ensemencement de 3 tubes à partir de chaque dilution  $10^1$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  (chaque tube contenant 10ml de milieu VBL) :

Agiter pour que l'inoculum soit réparti y compris sous la cloche ; incuber les 9 tubes à  $37^\circ\text{C}$  (Coliformes totaux) et  $44^\circ\text{C}$  (Coliformes fécaux) pendant 48h.

Pour la lecture des résultats qui sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

-un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).

-un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

Pour la confirmation de présence des coliformes. Les tubes de VBL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux seront l'objet d'un repiquage donnant à la fois : un tube de VBL muni d'une cloche, un tube d'eau peptonée exempte d'indole. L'incubation se fait cette fois-ci à  $44^\circ\text{C}$  pendant 24 à 48h. Pour la lecture des résultats qui sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois : un dégagement gazeux dans les tubes de VBL (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) et un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole.

La lecture finale s'effectue également selon des prescriptions de la table de Mac grady en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et l'indole à  $44^\circ\text{C}$  (**JORA, 2017**).

### III.3.4. Dénombrement des Streptocoques fécaux

Les streptocoques se regroupent en coques Gram positif, asporulés, immobiles, groupés en paires ou surtout en chaînes de longueur variable. Ils sont aéro-anaérobies ou micro aérophiiles. La recherche et le dénombrement comporte deux tests :

#### ➤ Test de présomption

A partir de la solution mère ( $10^{-1}$ ) introduire 1 ml dans trois tubes de milieu ROTHE double concentration (D/C), 1ml de dilution ( $10^{-2}$ ) et ( $10^{-3}$ ) dans une série de 2\*3 tubes de milieu ROTHE (S/C) simple concentration. Homogénéiser et incuber à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 à 48heures.

#### ➤ Test de confirmation

Tous les tubes qui présentent un trouble microbien sont repiqués dans des tubes de milieu Eva Litsky et incubés à  $37^\circ\text{C}$  pendant 48heures.

Pour la lecture sont considérés comme positifs les tubes d'Eva Litsky à la fois : Un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube. Le nombre de streptocoques fécaux est exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady (**JORA, 2017**).

### III.3.5. Dénombrement de la flore fongique

D'après **Guiraud (1998)**, les levures et moisissures se multiplient de façon normale dans les produits acides. Leur dénombrement représente un bon paramètre d'appréciation de la capacité de conservation des produits laitiers de fermentation. Le milieu de culture utilisé pour le dénombrement est OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline).

L'ensemencement est effectué en surface par les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ . L'incubation se fait à une température de 20 à 25°C pendant 5 jours et faire la lecture pendant tous les jours de l'incubation (**JORA, 2017**).

### III.3.6. Dénombrement de *Clostridium sulfito- réducteurs*

Les *Clostridium sulfito- réducteurs* sont des anaérobies stricts cultivant à 37°C possèdent des spores résistant au moins 10 minutes à 80°C. La présence des *Clostridium* est un signe d'une contamination fécale ou tellurique.

Leur dénombrement nécessite un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes des deux tubes contenant l'un 1 ml de solution mère ( $10^{-1}$ ) et l'autre 1 ml de dilution ( $10^{-2}$ ). Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées. Ensuite additionner le milieu viande-foie préparé par ajout d'une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium. Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes.

L'incubation a lieu à 37°C pendant 48 heures. Les spores de *Clostridium sulfito-réducteurs* apparaissent sous forme de grosses tâches noires (**JORA, 2017**).

### III.3.7. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement est effectué en deux étapes :

Enrichissement sur milieu Giollitti et Cantoni additionné de tellurite de potassium ensemencé par la solution mère et les dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  puis incubation à 37°C pendant 48 heures, les tubes comptés positifs sont ceux qui présentent un noircissement.

Ensemencement en surface par étalement à partir des tubes positifs sur le milieu Chapman puis incubation à 37°C pendant 24 heures à 48 heures. (**JORA, 2017**).

### III.3.8. Recherche de *Salmonella*

Les Salmonelles sont des bactéries toujours pathogènes. Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit.

Leur recherche nécessite des phases successives :

Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide : Prélever 25 grammes du produit dans un flacon de 225 ml d'eau peptonée tamponnée + 1 ml de vert brillant qui sera incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. Ensemencement de la prise d'essai dans de l'eau péptonée tamponnée à température ambiante, puis incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Enrichissement en milieu sélectif liquide : Ensemencement dans le bouillon au sélénite, milieu Leifson, Muller Kauffmann ou bouillon SFB pour augmenter la représentation des Salmonelles. Incuber à 37°C pendant 24h.

Ensemencement par stries sur gélose Hektoen à partir des tubes qui présentent des résultats positifs (voir une coloration rouge brique) et incubé à 37°C pendant 24 heures (JORA, 2017).

### III.3.9. Dénombrement des entérobactéries

Ce dénombrement est effectué sur la gélose VRBG.

L'ensemencement est effectué en masse à raison de 1ml des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ . Le milieu fondu et refroidi à 45°C est coulé et mélangé avec l'inoculum. Après solidification, une deuxième couche de même milieu est ajoutée. L'incubation a lieu pendant 24 h à 37°C (JORA, 2017).

### III.3.10. Dénombrement des bactéries lactiques

#### III.3.10.1. *Leuconostoc*

*Leuconostocs* rassemblent aux coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétéro-fermentaire marqué, avec production d'acide lactique de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Pour dénombrer, en utilisant la gélose MRS Vancomycine, 0.1ml de chaque dilution sont ensemencés en surface puis incubée à 30°C pendant 24 h à 48h (Guiraud, 2003).

#### III.3.10.2. *Lactococcus*

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique, seul *Lactococcus lactis* sp. *lactisbiovar*.

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* sp. *lactis*, *Lc. lactis* sp. *cremoris* et *Lc. lactis* sp. *hordniae*.

Le milieu de culture et dénombrement de base de *Lactococcus* est M17. Le milieu est ensemencé en surface par 0.1ml de chaque dilution puis incubée à 30°C pendant 24h (Guiraud, 2003).

#### III.3.10.3. *Lactobacillus*

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants.

La gélose MRS est utilisée pour le dénombrement et l'isolement des lactobacilles, 1ml de la dilution est inoculé en profondeur puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 jours (Guiraud, 2003).

### III.4. Purification et isolements des bactéries lactiques

#### III.4.1. Techniques d'isolement

L'isolement a été réalisé sur gélose M17 et MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant 0.1ml des dilutions à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h (Idouiet al., 2010).

Une goutte a été prélevée de la solution mère et ensemencé par étalement sur gélose MRS, de la même façon on a ensemencé la gélose M17.

Unegoutte de la dilution  $10^{-1}$  a été prélevée et ensemencée en strie sur gélose MRS, à raison de deux boites par dilution(une boite gélose MRS à pH 5,4 et l'autre boite gélose MRS à pH 6,5), puis incubé pendant 48h à 30°C (**Kacem et Karam, 2006**). La même méthode d'isolement a été adoptée pour le reste des dilutions, ainsi sur gélose M17.

#### III.4.2.Purification

La purification des souches isolées a été réalisée par repiquages successifs sur gélose MRS et M17 par la méthode des stries. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 48h (**Kacem et Karam, 2006**).

La pureté des souches est révélée par la présence sur gélose de colonies homogènes ayant le même aspect, la même couleur, la même taille et la même forme.

La coloration de Gram a été faite pour confirmer la pureté des souches. Les souches à Gram positif et catalase négatif sont retenue pour la suite de l'étude.

Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectuées sur les bouillons (MRS ou M17) et gélose (MRS ou M17). La purification des souches consiste à les ensemencer en stries sur des boites de Pétri coulées avec des milieux MRS (solide).

Les boites sont ainsi incubées à 37°C pendant 24h. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures (**Guiraud, 2004**).

#### III.4.3. Pré-identification des isolats

Caractérisation et identification des souches lactiques : Après avoir obtenu des cultures homogènes, plusieurs tests ont été réalisés pour l'identification des souches.Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

##### III.4.3.1. Examen macroscopique

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonies obtenues sur des milieux solides, il s'agit d'une observation à l'œil nu qui consiste à déterminer les paramètres suivants : (Taille, couleur et forme des colonies).

Cette étude est basée sur l'observation de la culture des isolats sur gélose MRS et M17 pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies (**Badiset al ., 2005**).

##### III.4.3.2. Examen microscopique

On utilise le microscope optique pour déterminer par la suite la forme et la disposition des cellules bactériennes ; ainsi que leur type de Gram (Gram positif pour les bactéries lactiques).

L'aspect microscopique est révélé par la coloration de Gram qui a pour but de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif et d'observer la forme et le mode de regroupement.

##### III.4.3.3. Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de cristal ; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de Lugol, et de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%.

Il s'agit de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante. À ce stade les cellules gram négatif seront incolores, les cellules Gram positif violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la fushine pour colorer les cellules Gram négatif présentes. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au buvard et on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement X 1000) (Singleton, 1999).

### III.5. Identification des isolats

#### III.5.1. Tests physiologiques

##### III.5.1.1. Recherche de catalase

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en eau métabolique ( $H_2O$ ) et oxygène ( $O_2$ ). On émulsionne dans une goutte d'eau oxygénée, déposée sur une lame propre, une colonie bien distincte. La réaction chimique de la dégradation d'eau oxygénée s'établit comme suit :



L'activité catalasique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau. Elle est mise en évidence en déposant une à deux colonies de l'isolat de la souche à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée (Guiraud, 2003).

Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase positif) des autres bactéries.

#### III.5.2. Tests biochimiques

##### III.5.2.1. Recherche de l'arginine di hydrolase (ADH)

Ce test est intéressant dans la caractérisation des bactéries lactiques. Cette enzyme ayant l'aptitude de libérer l'ammoniac et la citrulline à partir de l'arginine. Il s'applique de la façon suivante : Dans chaque tube à essai, on introduit 1ml d'une culture jeune à laquelle on ajoute quelques gouttes d'arginine en ampoules. Après l'incubation à 37°C pendant 24h, les souches d'arginine positives catabolisent l'arginine et libèrent l'ammoniac (NHR 3R) et empêchent le virage de la couleur au jaune (Guiraud, 1998).

##### III.5.2.2. Production de l'acétoine (Acétyle-Méthyle-Carbinol)

Sur milieu de Clark et Lubs, et après ensemencement des souches et incubation à 37°C pendant 24 à 48h. La production de l'acétoine est testée par la réaction de Vogues Proskauer (VP) et s'applique de la façon suivante : Dans un tube à essai on introduit 1ml de la culture à tester, on ajoute 5gouttes du réactif VPI (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et le même volume du réactif VPII. On agite soigneusement les tubes et laisse reposer 5 à 10min à température ambiante. Le test positif se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu, après 10min (Guiraud, 1998).

##### III.5.2.3. Recherche du type fermentaire

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homo-fermentaires de celles hétéro-fermentaires.

Il consiste à mettre en évidence la production du gaz (CO<sub>2</sub>). Des souches fraîches préalablement cultivées sur gélose MRS ont été ensemencées dans des tubes stériles contenant du bouillon MRS sans citrate et une cloche de Durham. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 24 à 48 heures.

Les souches homo-fermentaires produisent l'acide lactique à partir du glucose, par contre les souches hétéro-fermentaires produisent l'acide lactique et le CO<sub>2</sub> à proportions égales (Guiraud, 2003).

#### III.5.2.4. Test de MEVAG

Le but de ce test est de déterminer la voie empruntée par la bactérie pour dégrader les sucres (Glucose, Galactose, Adonitol et Glycérol). D'abord, deux tubes de milieu M.E.V.A.G. sont régénérés par chauffage au bain marie, puis additionnés de glucose puis solidifiés. Puis, l'ensemencement se fait par piqure centrale : Un tube est incubé en aérobiose et l'autre en anaérobiose réalisé par dépôt d'une couche de paraffine stérile sur le milieu et incubée 37°C pendant 24h. La même technique pour Galactose, Adonitol et Glycérol.

Enfin, la lecture :

- ◀ Si la coloration jaune en milieu aérobie ou anaérobie  $\mapsto$  Fermentation
- ◀ Si la coloration jaune en milieu aérobie ou anaérobie  $\rightarrow$  Fermentation aérobie stricte
- ◀ Si le milieu reste rouge soit anaérobie ou aérobie  $\rightarrow$  Inerte (Guiraud, 2003).

#### III.5.2.5. Test de Nitrate réductase

Certaines bactéries anaérobies facultatives utilisent un métabolisme de type oxydatif sous des conditions d'anaérobies. Ce procédé est la respiration anaérobie.

Les nitrates sont en principe toxiques pour la plupart des bactéries mais certaines peuvent les utiliser comme accepteur des électrons et l'azote moléculaire formé est relargié dans le milieu. La présence est alors déterminée à l'aide des réactifs de GRIESS-ILOSWAY : Acide Sulfanilique et Alpha Napha- tyamine. Pour la technique, au bouillon de nitrate ensemencé, ajouter 4 gouttes du réactif 1 (acide sulfanilique), puis 4 gouttes du réactif 2 (alpha-naphytylamine).

Enfin, la lecture :

- Si la coloration rose apparaît : la bactérie possède la nitrate réductase.
- Si le milieu reste incolore :
  - Soit les nitrates n'ont pas été réduits.
  - Ou bien ils ont été transformés en nitrate puis en Azote.

L'addition d'un réducteur comme la poudre de Zinc permet de différencier ces 2 vois :

- Si le milieu devient rose ; les Nitrates sont présentes  $\mapsto$  la bactérie ne possède pas la Nitrate réductase.
- Si le milieu reste tel quel : Les nitrates ont été réduites en Nitrates puis en azote ammoniacal : La bactérie possède la Nitrate réductase (Guiraud, 2003).

#### III.5.2.6. Test du TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S)

À partir de la suspension bactérienne, ensemencée à l'aide d'une pipette pasteur stérile le milieu T.S.I. par des stries sur la pente et piqure centrale au culot.

- Ne serrer pas complètement le tube
- Incuber le milieu à 37°C pendant 24h.

La lecture : Si le culot est jaune : la bactérie est Glucose positif.

- Si la pente est jaune : la bactérie est diholoside négatif.
- S'il y a noircissement au milieu de tube : la bactérie est H<sub>2</sub>S positif.
- S'il y a présence d'une ou plusieurs poches de gaz : la bactérie produit le gaz (**Guiraud, 1998**).

#### III.5.2.7. Test du Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. On aensemencé les souches étudiées dans le milieu par piqûre centrale, et incubé à 30°C±1°C pendant 18 à 24h. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries. Et on fait la lecture comme suit :

- Si le milieu prend une coloration jaune : la bactérie est mannitol positif.
- Si le milieu reste rouge : la bactérie est mannitol négatif.
- Si les bactéries sont mobiles, elles se disperseront à partir de la pique d'ensemencement créant un trouble dans le milieu, sinon la bactérie est mobilité négatif (**Guiraud, 1998**).

#### III.5.2.8. Recherche d'Hydrolase (Test d'O.N.P.G)

La présence d'une Béta-Galactosidase est recherchée chez les bactéries récoltées sur un milieu gélosé lactosé dont les colonies sont mises en suspension dans de l'eau distillée stérile à laquelle est ajouté un disque de papier imprégné d'O.N.P.G. La suspension est mise au bain-marie toutes les 15mn. La plupart des réactions donnent une coloration jaune en 15 à 30min, mais certaines peuvent être tardives donc la lecture se fait après 24h d'incubation avant de conclure que la réaction est négative (**Guiraud, 2003**).

#### III.5.2.9. Recherche de citrate de Simmons

A partir d'une colonie caractéristique, ensemencer le milieu en surface par des stries serrées uniquement la moitié du milieu, l'autre moitié servira comme témoin. Incubation à 37°C pendant 24h.

La lecture s'effectue par :

Citrate positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).

Citrate négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (**Guiraud, 2003**).

#### III.5.2.10. Test du RM (Rouge de méthyle)/VP (Vosges-Proskauer)

Deux tubes contenant chacun 0,5 ml de milieu Clark et Lubs sont ensemencés à l'aide d'une anse, après incubation à 30°C±1°C pendant 18 à 48 h, on ajoute deux gouttes de réactif VP dans l'un des deux tubes et deux gouttes de réactif RM dans l'autre. Une teinte rouge cerise indique une réaction VP positive. Une teinte rouge indique une réaction RM positive (**Guiraud, 2003**).

**III.5.2.11. Test d'Urée-indole**

Une suspension dense des bactéries est introduite dans 0,5ml de milieu Urée-Indole, l'incubation se fait à  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h. Un virage de milieu au rouge violacé ou au rouge rose indique une réaction d'uréase positive.

Deux gouttes de réactif de Kovacs sont additionnées. L'apparition d'un anneau rouge indique une réaction d'indole positif (**Guiraud, 2003**).

### IV.1. Résultats physicochimiques

Les résultats des analyses physicochimiques des échantillons du Zebda étudiés sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écarts types. Le but principal des analyses vise à vérifier la conformité des échantillons analysés aux critères et normes fixés par la réglementation.

#### IV.1.1. pH

Les résultats du potentiel d'hydrogène des échantillons Zebda (Taher et Texanna) varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Leur valeurs varient entre  $5,21 \pm 0,24$  et  $5,03 \pm 0,30$  respectivement et consignés dans la figure 6. La valeur maximale pour la région de Taher est  $5,21 \pm 0,24$  et la valeur minimale pour la région de Texanna est de  $5,03 \pm 0,30$  (Tableau 1 dans l'annexe II). Les deux valeurs sont trouvées dans l'intervalle 4,7 à 5,8 indiqué par **Jeantet et al., (2008)**. Dans l'ensemble, les valeurs données par l'analyseur sont dans les intervalles de celles de la norme algérienne qui fixe la valeur de pH 6,6 (**JORA, 1998**), et de celles données par plusieurs auteurs, ce qui implique que les valeurs retrouvées répondent à la norme exigée. Le pH dépendrait également de la présence de caséines et d'anions phosphorique. Un faible changement de pH du côté acide a des effets importants sur l'équilibre des minéraux (**Chandanet al., 2008**).

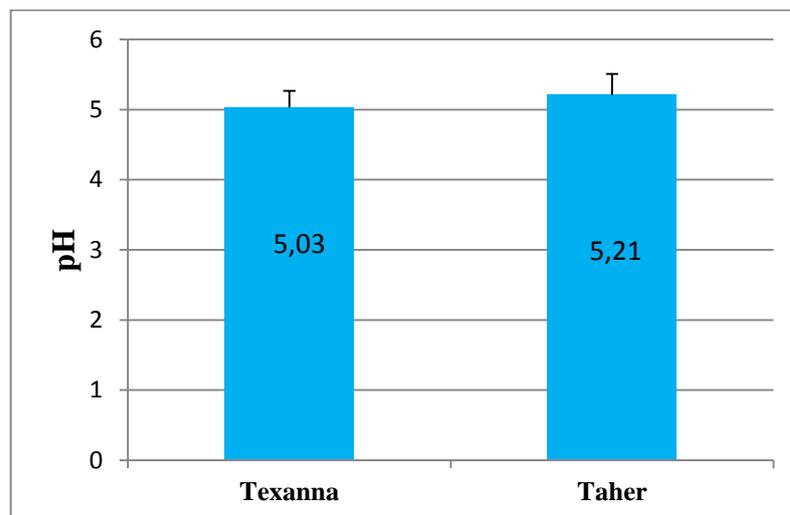


Figure 6. Résultats de mesure du pH des échantillons.

#### VI.1.2. Acidité titrable

L'acidité est parmi les principaux paramètres qui déterminent la qualité du lait cru utiliser pour la fabrication du Zebda. Les résultats d'acidité varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Les deux valeurs Texanna et Taher sont  $28,33 \pm 0,78^\circ\text{D}$  et  $18 \pm 0,67^\circ\text{D}$  respectivement représentés dans la figure 7, et le tableau 2 dans l'annexe II. Selon la norme algérienne (**JORA, 1998**), la valeur d'acidité du Zebda est fixée entre  $16^\circ\text{D}$  à  $18^\circ\text{D}$ . La valeur de Texanna  $28,33 \pm 0,78^\circ\text{D}$  est supérieure à la norme, mais la valeur de Taher  $18^\circ\text{D}$  est conforme à cette norme. Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en sels minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la microflore microbienne et son activité (**Amiot et al., 2010**).

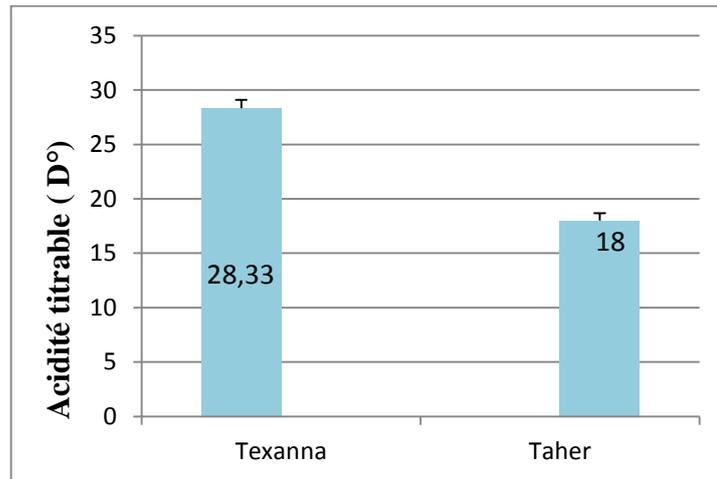


Figure 7. Résultats de mesure d'acidité des échantillons.

### VI.1.3. Matière sèche

Les résultats de matière sèche varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Les valeurs de matière sèche du Zebda analysé varient entre  $80,51 \pm 3,27\%$  pour Texanna et  $85,26 \pm 5,04\%$  pour Taher, représentés dans la figure 8, et le tableau 3 illustrés dans l'annexe II. Selon le Journal officiel (JORA, 1998), la valeur d'extrait sec total du Zebda au minimum 84%. Donc les deux valeurs 80,51% et 85,26% sont conformes aux normes algériennes.

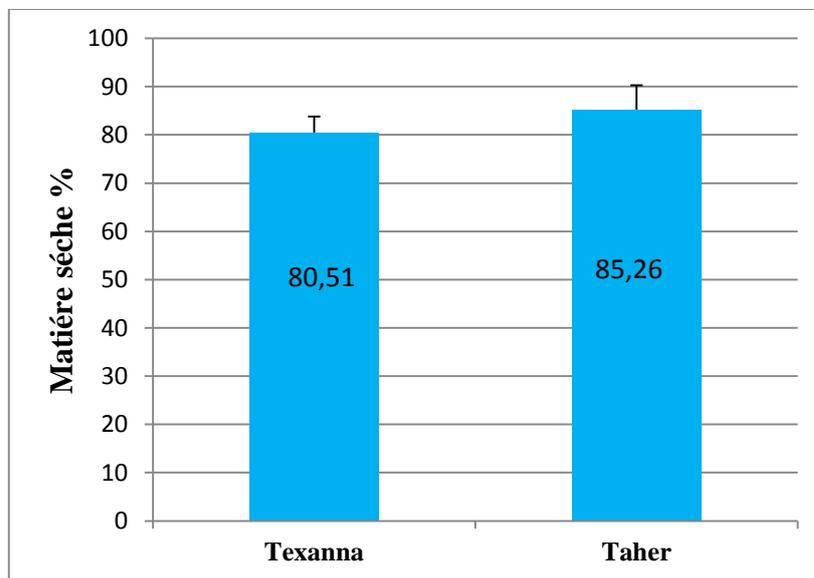


Figure 8. Résultats de mesure de la Matière sèche des échantillons.

### VI.1.4. Taux d'humidité

Les résultats d'humidité varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Les valeurs varient entre  $19,33 \pm 0,89\%$  et  $14,88 \pm 0,74\%$  pour Texanna et Taher respectivement, présentés dans la figure 9 et le tableau 4 dans l'annexe II. Selon le Journal officiel algérien (JORA, 1998), la valeur réglementaire égale 16%. La valeur  $19,33 \pm 0,89\%$  est supérieure aux limites

établies, mais pour la valeur de Taher est inférieure à la norme algérienne pour les produits laitiers.

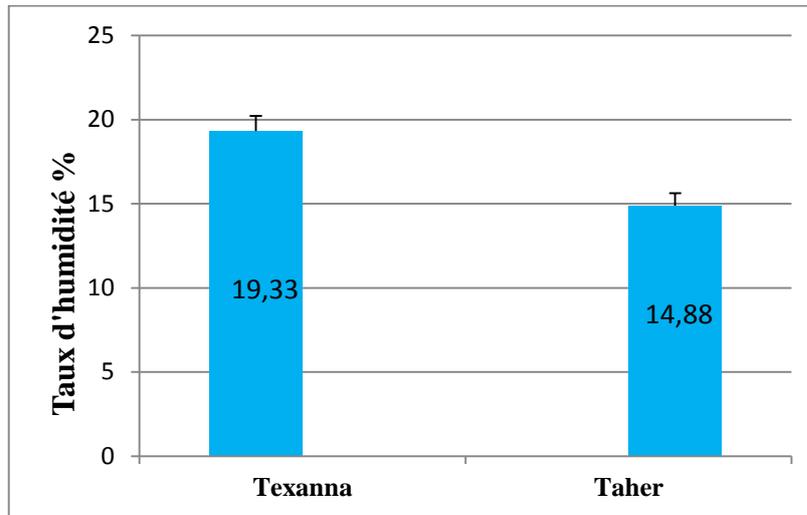


Figure 9. Résultats du Taux d'humidité des échantillons.

#### VI.1.5. Matières grasses

Les matières grasses sont très importantes dans le Zebda. Les résultats de matières grasses varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ) Les valeurs de Texanna et Taher de matière grasse égal  $82,5 \pm 1,25\%$  et  $82 \pm 1,24\%$  respectivement illustrés dans la figure 10, et le tableau 5 dans l'annexe II. Selon le Journal officiel algérien (JORA, 1998), la valeur minimum de matière grasse du Zebda égale 82%. Donc les deux valeurs sont conformes aux normes nationales.

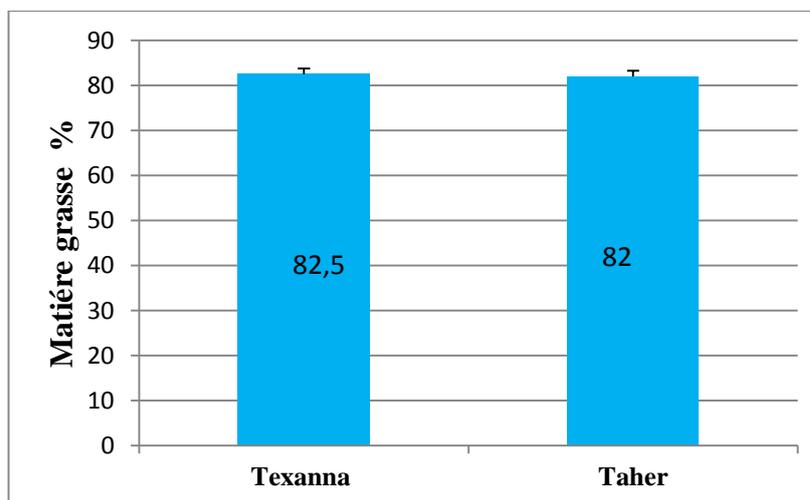


Figure 10. Résultats de la Matière grasse des échantillons.

#### VI.1.6. Acides gras

Le résultat des acides gras dans le Zebda de Texanna représentent uniquement un seul acide gras insaturé a été détectés (L'acide oléique). Mais dans le résultat de Taher contient des acides gras saturé sauf l'acide oléique (L'acide oléique, l'acide caprique, l'acide palmitique, l'acide dodecanoïque et l'acide Tétradécanoïque).

Zebda de Taher est riche en acides gras saturés par rapport au Zebda de Texanna où uniquement un seul acide gras insaturé (Tableau 6 représentés dans l'annexeII).

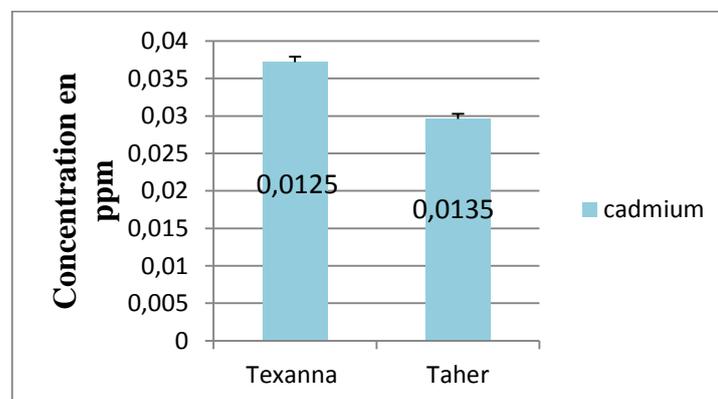
Selon **Idouiet al.,(2010)**, Zebda de vache traditionnel contenait un grandpourcentage d'acides gras saturés (acide palmitique, acide myristique, acide stéarique, acide valérique, acide 12-tétradécanoïque, acide 14-hexadécanoïque,acide vaccénique et l'acide 6,9-octadécadiénoïque).Ces résultats ne sont pas en accord total avec ceux rapportés par **Idoui et al.,(2010)**.Cette composition en AG est liée directement à l'alimentation : les régimes à base de l'herbe pâturée sont connus pour entrainer une augmentation des AG longs et des AGI dans le lait. En général, la plupart des graisses animales contiennent, quant à elle, plus, d'acides gras saturés (**Graille, 2003**), cela est en accord avec nos échantillons qui renferment dans leurs majorité des AGS avec présence d'AGIS à un degré moyennement.

Des données représentatives et détaillées sur la composition en acides gras ont été obtenues par GC/MS. Les profils chromatographiques des acides gras des échantillons du Zebda relatent l'existence des acides gras saturés à un fort pourcentage de 80% dont les plus dominants sont l'acide caprique, l'acide palmitique et l'acide dodecanoïque, par rapport à 20% pour les insaturés, dont principalement l'acide oléique.

#### VI.1.7. Métaux lourds

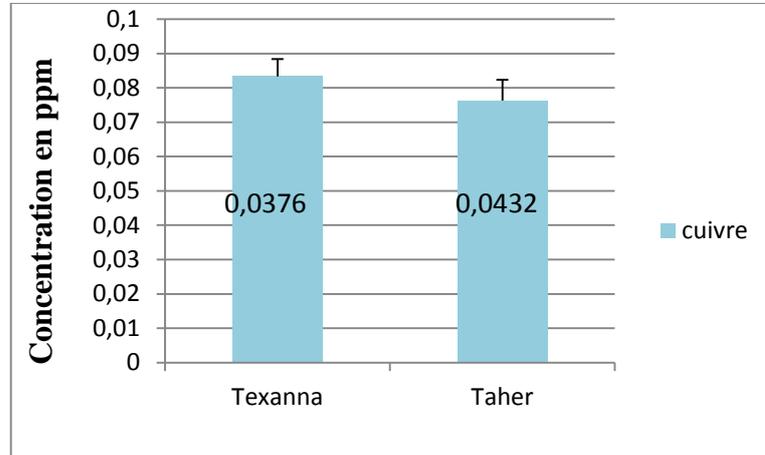
Les éléments traces métalliques sont généralement définis comme des métaux lourds. On appelle métaux lourds, tout élément métallique naturel dont la masse volumique dépasse  $5\text{g/cm}^3$ . Les éléments métalliques sont, sous différentes formes, toujours présents au sein de l'environnement. A concentration élevée, en revanche, ils présentent une toxicité plus ou moins forte. Ces métaux lourds ne présentent pas tous les mêmes risques en raison de leurs effets sur les organismes, leurs propriétés chimiques, physico-chimiques et biologiques. Leur toxicité est très variable et leur impact sur l'environnement est très différent (**Park et al., 2011**).

D'après les résultats obtenus au cours de notre étude, ils révèlent que la teneur en Cadmium de Texanna et Taher est entre  $0,0125\pm 0,007\text{ppm}$  et  $0,0135\pm 0,007\text{ppm}$  respectivement illustrés dans la figure 11 et le tableau 7 illustrée dans l'annexe II. Selon le journal algérien (**JORA, 1998**), la concentration de Cadmium  $0,015\text{ppm}$ . Les deux valeurs sont conforme à la norme réglementaire. Donc le Zebda n'est pas contaminé par le Cadmium dans les deux régions.



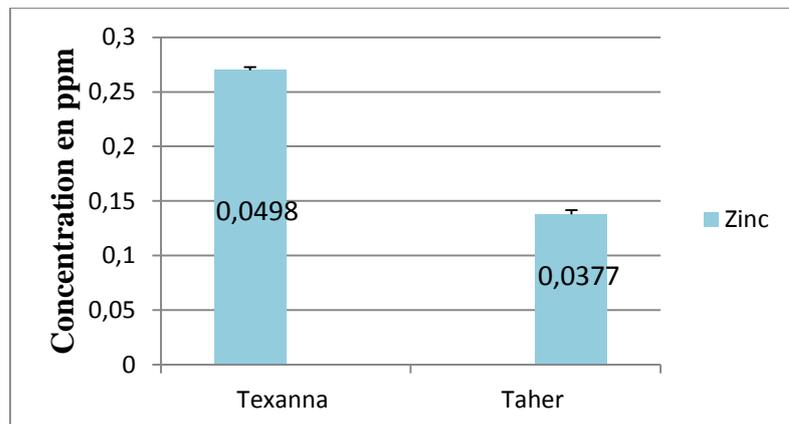
**Figure 11.** Teneur en cadmium des échantillons.

Par la comparaison des concentrations en cuivre des échantillons avec le règlement fixé par le Journal Officiel de la République Algérien (**JORA, 1998**), et qui est au maximum 0,05ppm, on constate que les deux résultats Texanna ( $0,0376 \pm 0,005$  ppm) et Taher ( $0,0432 \pm 0,006$  ppm) sont inférieurs à la norme par une faible valeur qui sont représentés dans la figure 12 et le tableau 7 illustrée dans l'annexe II.



**Figure 12.** Teneur en cuivre des échantillons.

D'autre part, les résultats de la teneur en Zinc des échantillons de Texanna et de Taher  $0,0498 \pm 0,003$  et  $0,0377 \pm 0,004$  respectivement illustrés dans la figure 13, et le tableau 7 illustrée dans l'annexe II. Ces résultats ne dépassent pas les normes algériennes (**JORA, 1998**), qui fixent comme valeur limite 0,02 à 0,09ppm, alors notre Zebda analysé est conforme.



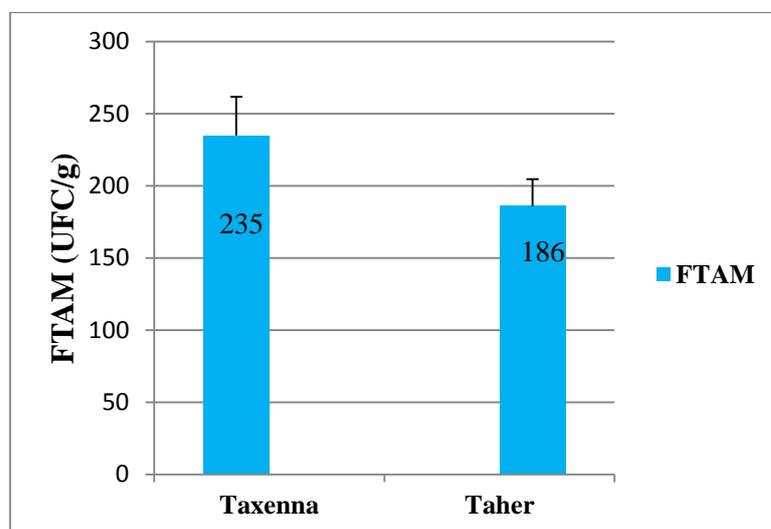
**Figure 13.** Teneur en Zinc des échantillons.

## IV.2. Résultats microbiologiques

### IV.2.1. Germes aérobies

La flore mésophile aérobie totale nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait qui est la matière première du Zebda. C'est la flore la plus dénombrée dans les laboratoires de microbiologie alimentaire (Afif *et al.*, 2008). Le dénombrement de FTAM reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet d'en suivre l'évolution, le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du produit (Guiraud et Rosec, 2004).

Les germes aérobies sont présents dans les deux échantillons analysés, mais d'une charge qui ne dépasse pas la norme  $10^4$  UFC/g. Les résultats de dénombrement des germes mésophiles varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Le nombre de ces germes mésophiles varient entre  $235 \pm 18,56$  et  $186 \pm 18,56$  respectivement pour l'échantillon de Taxanna et Taher (Figure 14).



**Figure 14 :** Résultats du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile des échantillons.

Nos résultats sont en relation avec les travaux de (Guiraud et Rosec, 2004 ; Bachtarzi *et al.*, 2015). Rapportent que le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur du produit ainsi que le respect de bonnes pratiques de production des produits alimentaires.

Une charge microbienne nettement inférieure aux normes peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la manipulation, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques de production. Cette flore peut avoir plusieurs origines, elle peut provenir des vaches elles-mêmes, de leur déjection, de l'environnement des animaux tels que les bâtiments, l'eau, l'alimentation comme le fourrage ou bien du matériel de traite (Jeantet *et al.*, 2008).

### IV.2.2. Coliformes totaux et fécaux

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).

La norme algérienne concerne les coliformes étant fixé à 10UFT/ml et la recherche des coliformes dans les échantillons analysés a montré leur absence dans les deux échantillons.

La recherche de microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient des conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (Labioui *et al.*, 2009). Leur présence est souvent associée à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella*, les *Shigella*, les *Yersinia* et certains biotypes d'*E.coli* (Guiraud et Rosec, 2004).

D'après Guiraud, (2003) et Leary, (2004), l'absence totale de coliformes indique l'action primordiale exercée par les traitements thermiques subits par les produits analysés d'une part et l'efficacité des opérations de nettoyage appliquées par le NEP (Nettoyage En Place) d'autre part.

#### IV.2.3. Streptocoques fécaux

Les streptocoques regroupent des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation lactique (Guiraud et Galzy 1980). Les résultats de leur recherche ont indiqués leur absence dans tous les échantillons.

#### IV.2.4. Levures et moisissures

Les levures et moisissures, selon Snappe *et al.*, (2010), provoquent des accidents de fabrication, dégradation du gout, gonflement, mauvaise présentation et la diminution de la durée de conservation des produits.

D'après le JORA, (1998), le nombre fixé pour levure est  $10^3$ UFC/g et  $3 \times 10^2$ UFC/g pour les moisissures. Les résultats de dénombrement de ces germes varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Le nombre de la flore fongique varient entre 4 et 30UFC/g présentent dans la figure 15.

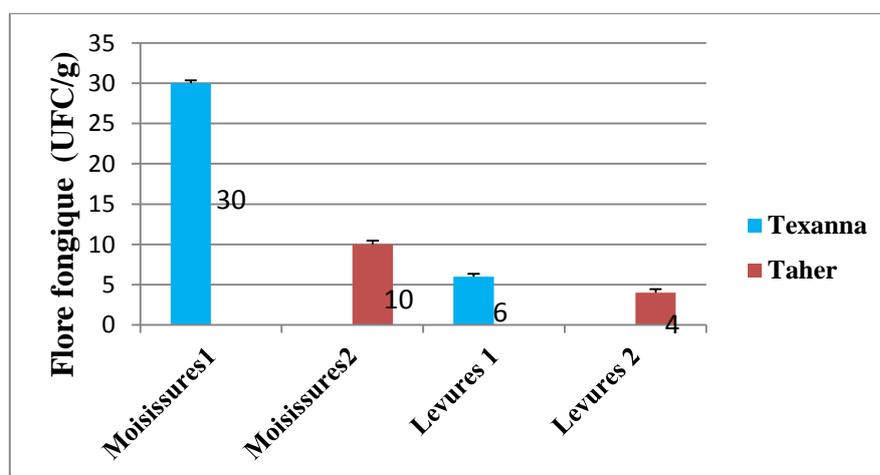


Figure 15. Résultats du dénombrement de la flore fongique des échantillons.

#### IV.2.5. *Clostridium* sulfito-réducteurs

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont utilisés comme témoin d'hygiène dans l'analyse microbiologique d'un certain nombre de produits (Larpent, 1997). D'après nos résultats nous observons une absence totale de cette bactérie dans tous les échantillons.

Les formes végétatives sont en général très sensibles à la chaleur, beaucoup sont détruites en 15 secondes à 75°C. Par contre les formes sporulées nécessitent un chauffage supérieur à 85°C pendant 10 minutes (Bimben et Feutry, 2007). Donc le traitement thermique a un double rôle, il favorise la destruction des formes végétatives et la germination des spores. Ces résultats pourraient être essentiellement dus à l'efficacité du traitement thermique appliqué (Lubun, 1998 ; Bimben et Feutry, 2007).

Les *Clostridium* sulfito réducteurs sont d'origine fécale, si elles se trouvent normalement dans les matières fécales elles peuvent également vivre et se multiplier dans les milieux naturels, les spores de bactéries sont largement répandues dans l'environnement. La présence de *Clostridium* dans les produits laitiers est à l'origine des intoxications alimentaires, qui se trouvent dans le sol, intestin des animaux et de l'homme. Leur présence serait due à une mauvaise hygiène du trayeur, à de mauvaises pratiques de traite ou bien d'origine alimentaire (Joffin *et al.*, 1999).

#### IV.2.6. *Staphylococcus aureus*

Cette bactérie est un pathogène majeur produit une entérotoxine responsable des intoxications alimentaires. Leur présence à un taux anormal indique une mauvaise hygiène (Guiraud, 2003). Les résultats des échantillons du zebda analysés ont montré l'absence totale de ce germe donc, montre que ces échantillons sont conformes aux normes algériennes (JORA, 2017), qui montre que le nombre de ces germes varie de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/g. Les staphylocoques sont des germes courants mais dangereux s'ils sont présents en grande quantité. Selon Multon, (1991), la contamination par des *Staphylococcus aureus* peut être d'origine humaine ou de la fabrication de l'aliment ou lors de sa préparation. Dans ce cas, les souches de *Staphylococcus aureus* peuvent provenir d'un portage sain sur la peau et les muqueuses, ou l'infection Staphylococcique.

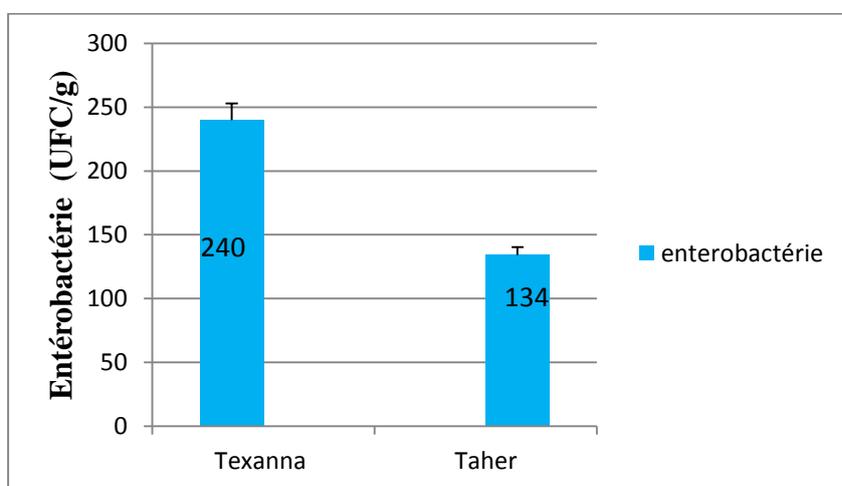
#### IV.2.7. *Salmonella*

Les Salmonelles sont des bactéries toujours pathogènes provoquent des gastro-entérites (avec éventuellement de graves complications) et très fréquentes. Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit. L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination, ce qui est conforme à la réglementation algérienne. Selon JORA, (2017), l'absence des Salmonelles dans 25g du Zebda, les résultats de tous les échantillons du zebda analysés ont montré l'absence totale des Salmonelles ceci montre que ces échantillons sont conformes aux normes exigées.

L'absence des germes *Staphylococcus* et *Salmonella* dans ces produits est la conséquence de l'utilisation de matières premières de qualité microbiologique satisfaisante et du respect des règles de l'hygiène durant les opérations de préparation du Zebda.

#### IV.2.8. Entérobactéries

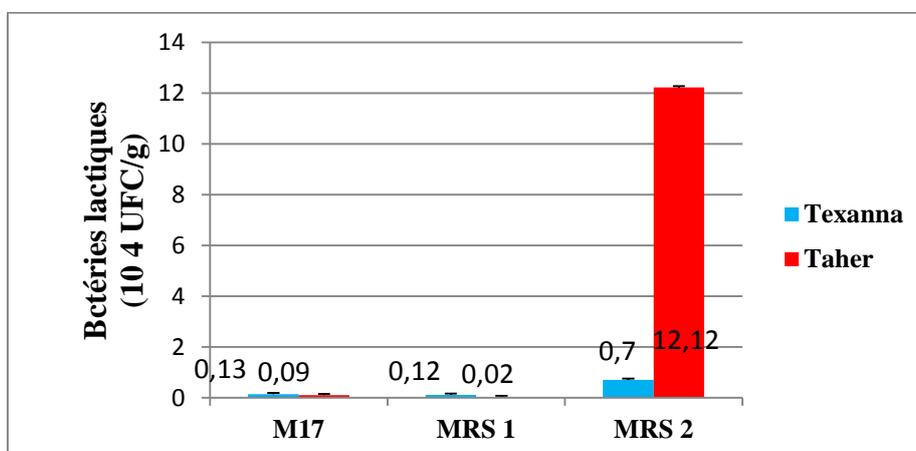
Selon **Guiraud et Rosec, (2004)** les entérobactéries totales constituent un bon indicateur de qualité hygiénique pendant ou après la transformation. **Guiraud, (2003)** rapporte que ces bactéries sont sensibles à la chaleur, elles sont eux-mêmes un facteur de mauvaise conservation ou d'accidents de fabrications. Les résultats de dénombrement de ces germes varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Les nombres du dénombrement des entérobactéries varient entre  $240 \pm 13$  UFC/g pour l'échantillon de Texanna et  $134 \pm 6,3$  UFC/g pour l'échantillon de Taher (Figure 16). La présence de ces germes est un indice d'une contamination probablement fécale, cette dernière peut provenir de l'homme lors de la fabrication de l'aliment, de l'animal au moment de la traite du lait comme il est la matière première du Zebda. La présence des germes peut aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection du matériel de transformation.



**Figure 16 :** Résultats du dénombrement des entérobactéries d'échantillons.

#### IV.2.9. Les bactéries lactiques

Pour le dénombrement de la flore lactique, nous avons utilisé les milieux MRS et M17, les résultats de ces germes sont représentés dans la (Figure17).



**Figure 17 :** Résultats du dénombrement des bactéries lactiques d'échantillons.

Les résultats de dénombrement des bactéries lactiques varient d'une manière non significatifs ( $p \leq 0,05$ ). Le nombre total des bactéries lactiques comptées sur le milieu MRS et M17 varie entre  $(0,12 \text{ à } 12,22) \times 10^4 \text{ UFC/g}$  et  $(0,09 \text{ à } 0,13) \times 10^4 \text{ UFC/g}$  respectivement pour le Zebda. Selon les travaux de **Belyagoubi et Abdlouahid (2013)**, où ils ont trouvé que le Zebda possède une charge bactérienne de  $10^6 \text{ UFC/g}$  contrairement à notre échantillon dont nous avons remarqué que la charge dominante est présente dans le milieu MRS est représentée par la bactérie lactique 1 ( $0,7 \times 10^4 \text{ UFC/g}$  et  $12,22 \times 10^4 \text{ UFC/g}$ ) respectivement pour Taher et Texanna ainsi que les milieux MRS et M17 présentent une faible charge de bactérie lactique 2 et 3 ( $0,027 \times 10^4$  et  $0,12 \times 10^4 \text{ UFC/g}$ ) et ( $0,09 \times 10^4 \text{ UFC/g}$  à  $0,13 \times 10^4 \text{ UFC/g}$ ) respectivement dans les régions de Taher et Texanna.

D'après les résultats de nos échantillons, la différence entre la charge microbienne des bactéries lactiques indique probablement que la méthode de préparation du Zebda qui est changé d'une région à une autre peut influencer la flore, aussi il y a d'autres facteurs tels que le climat et la période de prélèvement qui ont un fort effet sur le développement des bactéries lactiques.

#### IV.2.9.1. Isolement et identification des bactéries lactiques à partir du Zebda traditionnel

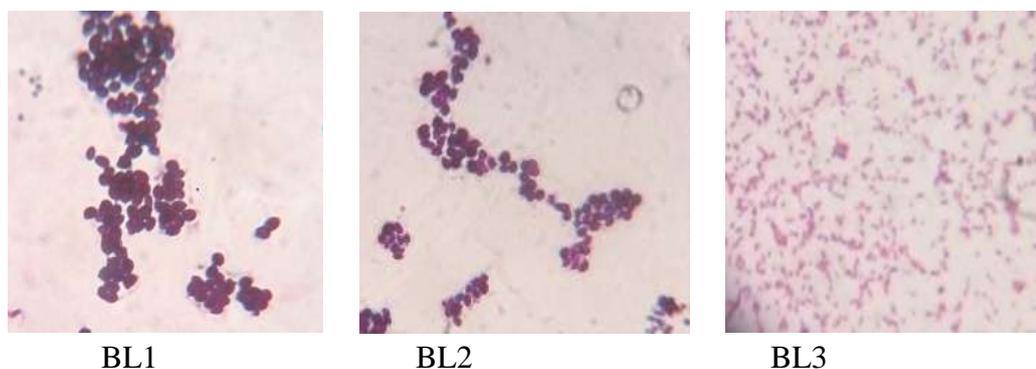
Lors de cette étude, nous avons identifié les souches isolées à partir du Zebda par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques et biochimiques.

##### ➤ Critères macroscopique

L'aspect macroscopique du développement des bactéries lactiques sur milieu solide déterminé par une loupe binoculaire, les isolats ont donné des colonies blanchâtres, crémeuses, semi bombées à contour régulier et lisse, de petite tailles d'environ 0,5 à 2mm de diamètre, des exemples d'aspects culturels sont donnés dans la figure 18 dans l'annexe (**Guiraud, 2003**).

##### ➤ Critères microscopiques

L'observation microscopique des souches après coloration des de Gram a identifié des isolats de forme cocci et quelques formes bacillaires. Les cellules sont disposées sous forme isolée, en paires, en chaînes ou sous forme de grappes de raisin (Figure 18).



**Figure 18** : L'aspect microscopique des souches isolées.

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classifier les germes des bactéries lactiques, de ce fait, les bactéries sont divisées arbitrairement en bacilles (BL 1) et coques (BL2 et BL3). La classification se fait aussi selon le type de Gram et le mode d'association de ces bactéries. Le tableau 6 présente les principaux caractères morphologiques.

**Tableau 6 :** Résultats des tests de coloration de Gram, et observation microscopique.

Souches \ Tests	BL 1	BL2	BL3
Morphologie cellulaire	Bacille	Coque	Coque
Mode d'association	Chainette, isolé, amas	Amas, graine de raisin, chainette	Amas, chainette, isolé
Gram	+	+	+

➤ **Tests biochimiques**

Autre que les caractères macroscopiques et microscopiques. Des tests biochimiques pour identifier les isolats sont effectués, les résultats obtenus après l'incubation montrent que tous les isolats peuvent dégrader l'arginine (ADH+), catalase négatif. Les résultats des autres tests représentés dans le tableau 7.

**Tableau 7 :** Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.

Souches		BL1	BL2	BL3
Catalase		-	-	-
ADH		+	+	+
Types fermentaires		Hétéro-fermentaire	Hétéro-fermentaire	Homo-fermentaire
MEVAG	Glucose	+	+	+
	Galactose	+	+	+
	Adonitol	-	-	+
	Glycérol	-	-	+
Nitrate réductase		+	+	-
TSI	H <sub>2</sub> S	-	-	-
	Gaz	-	-	-
	Glucose	+	+	+
	Saccharose	+	+	+
	Lactose	+	+	+
Mannitol-Mobilité	Mannitol	-	-	+
	Mobilité	+	+	+
Clark et Lubs	RM	+	+	+
	VP	-	-	-
Urée Indole	Indole	-	-	-
Citrate de Simmons	Utilisation de citrate	-	-	+
ONPG		-	-	-

+ : test positif, - : test négatif

Zebda contient une charge microbienne représentée par la flore totale aérobie mésophile et la flore fongique. On a noté également l'absence de la bactérie pathogène *Staphylococcus aureus*. Les dénombrements ont donné des valeurs nettement inférieures aux normes fixées par le journal officiel algérien et aux travaux de plusieurs auteurs. Dans la législation algérienne, on n'a pas trouvé des normes concernant la flore totale aérobie mésophile, les coliformes fécaux, les *Clostridium* sulfito-réducteurs, pour le Zebda. Par ailleurs, la charge microbienne n'a pas diminué de la matière première (lait cru) vers le produit qu'est le Zebda. **Beerens et Luquet (1987)**, ont rapporté l'existence d'un transfert de microorganismes du lait vers le zebda. Les flores microbiennes semblent peu gênées par l'acidification du lait. Le beurre fabriqué ne contient pas de *Clostridium* sulfitoréducteurs.

À partir du résultat microbiologique (phénotypique, biochimique et physiologique) des différents échantillons choisis pour l'isolement et l'identification des bactéries lactiques originaires du Zebda, nous avons isolé 3 souches appartenant à trois différents germes qui sont : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus* (**Guiraud, 2003**).

## Conclusion

---

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, et il s'avère très bénéfique pour l'adulte. On peut le consommer à l'état frais aussi ; on peut le préserver comme des produits laitiers (Raïb, l'ben, Zebda, ...). Parmi ces produits, Zebda représente un produit alimentaire à large utilisation dans la pratique culinaire. Sa fabrication traditionnelle passe par acidification du lait cru. Cette pratique influence énormément la flore résiduelle. L'écologie des bactéries lactiques qui s'y trouvent constitue une donnée utile dans la mesure d'amélioration et d'exploitation de cette flore dans la fabrication du Zebda.

Face au manque de travaux et de publications qui traitent cette denrée, nous avons essayé de faire des analyses et contribuer à apporter une définition de ses caractéristiques. Pour ce faire, deux échantillons du Zebda fabriqué traditionnellement ont été prélevés de deux points de vente de la ville de Jijel, et ont été soumis à différentes analyses physicochimiques, microbiologiques.

Les différents échantillons ont des pH acides variant entre 5,03 et 5,21, la matière sèche entre 80% et 85%, la matière grasse tourne autour de 82%. Les valeurs de ses paramètres sont généralement comprises dans des intervalles proches des normes retenues pour ce produit. À l'exception, le dosage des métaux lourds montre qu'ils sont détectés sous forme de traces, cadmium, cuivre, zinc avec des concentrations inférieures à la valeur de la norme exigée.

Des données représentatives et détaillées sur la composition en acides gras ont été obtenus par GC/MS, les profils chromatographiques des acides gras des deux échantillons du Zebda relatent l'existence des acides gras saturés à un fort pourcentage par rapport aux insaturés.

Concernant la qualité microbiologique, le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, entérobactéries montre que ces germes sont présents à des nombres ne dépassant pas les normes. Une absence de *Staphylococcus aureus*, des Salmonelles, coliformes, Streptocoques et *Clostridium*, avec présence de la flore fongique à des nombres variables et ne dépassent pas les normes.

A l'issue de ce qu'il a été réalisé, trois souches de bactéries lactique ont été isolées et purifiées à partir des échantillons du Zebda, après leur culture sur milieu spécifique, nous avons identifié les souches isolées par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les bactéries lactiques isolées et identifiées sont généralement : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*.

## Références bibliographiques

---

### A

**Adriane J., Potus J., Poiffait A., Dauvillirer P. (1998).** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Technologie et Documentation. Lavoisier, p : 24-52, 167.

**Afif A., Faid M., Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *ReviewsinBiology and Biotechnology. Canada-Marocco*, 7: 2-7.

**Amiot J., Paul P., Fournier S., Rebeuf Y., Simpson R. (2010).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Dans : Vignole C.L. *Science et technologie du lait, transformation du lait*, p : 1-73.

**AFNOR E. (1986).** Méthodes d'essai. Recueil des normes Françaises.

**Aissaoui Z. (2004).** Le fromage traditionnel algérien « bouhezza ». Séminaire d'animation régional. "Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires, p : 118 - 124.

**Aissaoui Z., Pediliggieri C., Benatallah L., Lortal S., Licitra G., Carpine S. (2012).** Bouhazza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goatskin bags. *Journal of Food, Agriculture et Environnement*, 10(2):289-295.

**Alaoui M., Guilal J., Hamama A., Saidi B., Zahar M. (2016).** Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. *International Journal of Multi-disciplinary Sciences*: 2421-9606.

### B

**Bachtarzi N., Amourache L., Dehkal G. (2015).** Quality of raw milk for the manufacture of a camembert-type soft cheese in a dairy of Constantine (Eastern Algeria). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 17:34-42.

**Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Quzrout. R. (2005).** Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de deux populations locales Arabia et Kabyle. *Science et Technologie*, 23:30-37.

**Beerens H., Luquet M.F. (1987).** Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Paris : Technologie et Documentation, Lavoisier, p : 1-144.

**Benkerroum N., Tammie A.Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4): 399-413.

**Benkerroum N., Mekkaoui M., Bennani N., Hidane K. (2004).** Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1): 39-43.

## Références bibliographiques

---

**Benkerroum N. (2013).** Traditional fermented foods of North African Countries: Technology and Food Safety Challenges with Regard to Microbiological Risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12: 54.

**Belyagoubil L., Abdelouahid D.E. (2013).** Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional Algerian dairy products. *Advances in Food Science*, 35(1): 84-85.

**Bensalah F., Labtar A., Delorme C., Renault P. (2011).** Occurrence, isolation and DNA identification of involved in Algerian traditional butter "Smen". *African Journal of Biotechnology*, 10: 17251-7.

Berger S., Popodopoulos M., Schreiiiber U., Kaisers W., Roitsch T. (2004). Complex regulation of gene expression. Photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato, p: 419-428.

**Bettache G., Adjoudj F., Hadadji M., Kihal M. (2012).** Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits. *World Applied Sciences Journal*, 17(4) : 480-488.

**Biatcho D.N.S. (2006).** Appréciation de la mise en oeuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar le Dirfel :de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé ou Sow Pur. Université Cheikh ANTA Diop de Dakar. Ecole inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires, p : 124-125.

**Bimben E., Feutry F. (2007).** Quelques bases sur microbiologie du lait et du fromage. Ed. INRA de Recherche en Technologie et Analyses laitières et CDEO.Paris, p : 60.

### C

**Chandan R.C., Kiara A., Shah N. P. (2008).** Dairy Processing et Quality Assurance, USA : Wiley- Blachwell, p: 95.

**Claps S., Morone G. (2011).** Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, p : 57-77.

**Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STN 206-1999, p : 1-4.

### F

**Faye B., Loiseau G. (2002).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France, p : 11-13.

**Fotou k., Tzorz A., Voidarou Ch., Alexopoulos A., Plessas S., Avgeris I., Bezirtglou E., Akrida-Demertzi K., Demertzi P.G. (2011).** Isolation of Microbiol pathogens subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epuris (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe*, 17: 315-319.

## Références bibliographiques

---

**Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Technologie et Documentation, Lavoisier, p : 397.

**Fredot E. (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique,Technologie et Documentation, Lavoisier, p : 397.

### G

**GhasemloyInchek K.H., Hassanzadazar H., Forouzan, S.H., BanafshehchinE.I., Mozafarian, E.I., Aminzare M.,Hashemi M. (2017).**A survey on the quality of traditional butters produced in West Azerbaijan province. Iran International Food Research Journal, 24(1): 327-332.

**Guiraud J.P., Galzy G. (1980).**L'analyse microbiologique dans les industries alimentaire. Les éditions de l'Usine Nouvelle Paris,p :76.

**Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie Alimentaire. Edition : Dunod, Paris, 652p.

**Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p : 136-433.

**Guiraud J.P., Rosec. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. France, p : 113,114.

**Graille T. (2003).**Lipides et corps gras alimentaire.Technologie et Documentation. Lavoisier, p: 162-187.

### I

**Idoui T., Benhamada N., Leghouchi E. (2010).** Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional butter produced from cows' milk in East Algeria, Grasas y Aceites, 61(3): 232-236.

### J

**Jeantet R., Croguenne., Skhuk P., Brule G. (2008).**Fondement physicochimique de la technologie laitière.Technologie et Documentation, Lavoisier, p : 36 -59.

**Joffin C., Joffin J.N. (1999).** Microbiologie alimentaires 5<sup>ème</sup> édition. Collection Biologie Technique,p :211.

**Journal Officiel de la République AlgérienneN° 96** de Ramadhan 1419 correspondant au 23 décembre 1998, arrête interministériel du 21 Chaâbane 11419 correspondant 10/12/1998. Spécification des techniques des beurres et aux modalités de leur mise à la consommation (Art : 3, Art : 7, Art : 8).

**Journal Officiel de la République Algérienne N° 39** de Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017, arrêté du 26 RabieEthani 1438 correspondant 25/1/2017 modifiant l'arrêté du 19 Joumada Ethania 1935 correspondant au 20 avril 2014 portant désignation des membres du conseil d'administration du fonds de garantie des crédits de la pépète et moyenne entreprise.

### K

**Kalandi M., Sow A., Guigma W., Zabre., Bathiy A., Sawadogo J. (2015).** Evaluation de la qualité nutritionnelle du lait cru dans les élevages traditionnels de Kaolackau Sénégal, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2) : 901 -909.

**Kacem M., Karam N.E. (2006).** Physicochemical and microbiological study of “smen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts, *Grasas y Aceites*, 57:198–204.

### L

**Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E., Ouhssine M. (2009).** Étude physico-chimique et Microbiologique de lait crus. *Bulletin de la Société Pharmacie. Bordeaux*, 148: 7-16.

**Larpent J.P. (1997).** Microbiologie alimentaire .Techniques de laboratoire. Paris.3<sup>ème</sup> édition. Technique et documentation, p : 273.

**Leary M.J. (2004).** Manuel de transformation du lait. Chapitre 13, p : 249.

**Leyral G., Vierling E. (2001).** Microbiologie et toxicologique des aliments.3<sup>ème</sup> édition Doin. France, p : 87-114.

**Le Quellec J.L., Treal C., Ruiz J.M. (2006).** Maisons du Sahara : habiter le désert. Hazan,Paris, p :180.

**Lubun D. (1998).** Lait de consommation et les produits laitiers dans la nutrition humaine.In. Collection FAO, p : 42.

**Luquet F.M.,Corrieu G. (2005).**Bactéries Lactiques et probiotiques Edition Technologie et Documentation, Lavoisier, Paris, p : 343-408.

### M

**Mahaut M., Jeantet R., Schuck P., Brule G. (2000).** Les produits industriels laitiers.Édition,Technologie et Documentation, Lavoisier, paris, p : 2-14.

**Marth E. H., Steele J. L. (2001).** Applied Dairy Microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition, New york: revised and expanded, p: 127.

**Mennane Z., Faid M., Lagzouli M., Ouhssine M., Elyachioui M., Berny E., Ennouali M., Khedid K. (2008).** Physico-chemical. Microbail and sensory characterization of maroccan Klila, *Journal of Scientific Research*, 2: 1990 -9233.

**Mechai A.,Kirane D. (2008).**Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. *African Journal of Biotechnology*,7 (16): 2908-2914.

## Références bibliographiques

---

**Moulay M., Aggad H., Benmeckhernene Z., Guessas B., Henni D.E., kihal M. (2006).** Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat is Milk and Their prteolyticActivity. WourdJournal of Dairy and Food Sciences, 1 (1): 12-18.

**Multon J.L., Bureau G. (1991).** L’emballage des denrées alimentaire de grande consommation. Technologie et documentation. Lavoisier, p : 851-452.

### O

**Quadghiri M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d’origine marocaine. Thèse de doctorat de Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V. Rabat, Faculté des Sciences, p :132.

### P

**Park J.H., Lamb D., Paneerselvam P., Choppala G., Nanthi Bolan N., Chung J.W. (2011).** Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. Journal of Hazardous Materails, 185, p : 549-574.

**Paul A. (2010).** Beurre et factions de matière grasse laitière, dans :vingoleC.L. Science et Technologie du lait, presse polytechnique, p : 323-34.

### Q

**Quasem J. M., Mazahreh A. S., Abu-Alruz K. (2009).** Development of vegetable-basedmilk from decorticated sesame (Sesamumindicum). American Journal of Applied Sciences, 6(5), 888.

**Quigley L., O'Sullivan O., Stanton C., Beresford T. P., Ross R. P., Fitzgerald G. F., Cotter P. D. (2013).** The complex microbiota of raw milk. FEMS Microbiology Reviews, 37: 664-698.

### R

**Roudaut H., La franc E. (2005).** Alimentation théorique. Edition sciences des aliments.

### S

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

**Shan-na L., Han Y., Zhi-jiang Z. (2011).** Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. Food Research International, 44: 643–651.

**Singleton P. (1999).** Bactériologie.4<sup>ème</sup> édition. Dunod, Paris, p : 317.

**Serhan M. (2008).** Valorisation durable des laits de la région du Nord Liban. Transformation en fromageDarfiyeh et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de création d’une appellation d’origine (thèse de doctorant ; Institut National Polytechnique de Lorraine), p: 24-25.

## Références bibliographiques

---

**Snappe J.J., Hasni-Alaoui I., Hamma A., Faye B. (2010).** Protéines lactières. In. Technique de l'ingénieur. Traité Agroalimentaire, p: 136-139.

### T

**Takahiro M., Nobuhiko K., Toshinao G. (2007).** Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults, *Nutrition Research*, 27: 395–399.

### V

**Vignola C. (2002).** Sciences et technologie du lait transformation du lait. Presses Internationales Polytechnique. Canada, p : 600

**Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2<sup>ème</sup> édition, Doin éditeurs, centre Régional de la Documentation Pédagogique d'Aquitaine, p : 270.

**Vierling E. (2008).** Aliments et boissons : filières et produits. 3<sup>ème</sup> édition Biosciences et Techniques. Paris, p : 15-16.

**Vilain A. (2010).** Qu'est-ce que le lait ?, *Revue Française d'Allergologie*, 50:124-127.

### W

**Walstra P., Geurts T.J., Noomen A., Jellema A., VAN Boekel M.A.J.S. (1999).** Dairy technology, principles of milk properties and processes. Food Science and Technology. New York-Basel : Marcel Dekker Inc, 325-515

### Z

**Zagorec M., Christeans S. (2012).** Flores protectrices pour la conservation de l'aliment, 2<sup>ème</sup> édition, p : 45-49.

## Résumé

Le contrôle microbiologique et physicochimique des produits alimentaires destinés à la consommation humaine est indispensable pour éviter tout risque de contamination et veiller sur la santé du consommateur. Ce travail a porté sur l'étude de la qualité hygiénique et le contrôle des analyses physico-chimiques et microbiologiques des échantillons du Zebda fabriqué traditionnellement et plusieurs paramètres physicochimiques et microbiologiques ont été déterminés. Le but de notre travail est confirmé si le produit « Zebda » préparé traditionnellement est consommable. Après les analyses physicochimiques, nous avons observé tous les paramètres qui ont été déterminés et conformes aux normes algériennes.

Les analyses microbiologiques des échantillons montrent l'absence totale des germes pathogènes, à savoir : les streptocoques fécaux, *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*, ainsi que les spores des anaérobies Sulfito-réducteurs et aussi les germes indicateurs de contamination à l'exception des germes aérobies, les entérobactéries et la flore fongique avec une faible présence ne dépassant pas le seuil d'acceptabilité. Le dénombrement de la flore lactique du produit traditionnel qui a été effectué, trois souches de bactéries lactiques ont été isolées sur les milieux M17 et MRS à une température d'incubation 37°C. Ces souches ont pu être identifiées aux genres : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*.

**Mots clés :** Zebda, Analyse physicochimiques, analyse microbiologiques, bactéries lactiques, identification.

## Summary

The microbiological and physicochemical control of food products intended for human consumption is essential to avoid any risk of contamination and to ensure the health of the consumer. This work focused on the study of hygienic quality and control of physico-chemical and microbiological analyzes of samples of traditionally manufactured Zebda and several physicochemical and microbiological parameters were determined. The purpose of our work confirmed if the product "Zebda" prepared traditionally is consumable. After the physicochemical analyzes, we have observed all the parameters that have been determined and conform to Algerian standards.

The microbiological analyzes of the samples show the total absence of the pathogenic germs, namely: fecal streptococci, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*, as well as the spores of the anaerobes Sulphito-reducers and the indicator germs of contamination with the exception of the aerobic germs, enterobacteria and fungal flora with a low presence not exceeding the threshold of acceptability.

The enumeration of the lactic flora of the traditional product, which has been carried out, three strains of lactic acid bacteria were isolated on the M17 and MRS media at an incubation temperature of 37 ° C. These strains could be identified with the genera: *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Lactococcus*.

**Key words:** Zebda, physicochemical analysis, microbiological analysis, lactic acid bacteria, identification.

## ملخص

يعد التحكم الميكروبيولوجي والفيزيائي الكيميائي للمنتجات الغذائية المعدة للاستهلاك البشري ضرورياً لتجنب خطر التلوث ولضمان صحة المستهلك. ركز هذا العمل على دراسة الجودة الصحية والتحكم في التحليلات الفيزيائية والكيميائية للميكروبيولوجية لعينات من Zebda المصنعة تقليدياً، وتم تحديد العديد من المعاملات الفيزيائية والكيميائية للميكروبيولوجية. يتم تأكيد الغرض من عملنا إذا كان المنتج "زبدة" المعد تقليدياً مستهلكاً. بعد التحليلات الفيزيائية والكيميائية، لاحظنا جميع المعاملات التي تم تحديدها وتوافقها مع المعايير الجزئية. تُظهر التحليلات الميكروبيولوجية لعينات الغياب التام للجرثيمات المسببة للأمراض، وهي:

المكورات العقدية البرازية والسالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية، فضلاً عن جرثيمات مخفضات الأكسجين الهوائية أيضاً. الجراثيم الملوثات للتلوث، باستثناء الجراثيم الهوائية، الأمعاء والبكتيريا والنباتات الفطرية مع وجود مخفضات يتجاوز عتبة القبول.

تم حساب تعداد النباتات اللبنية للمنتج التقليدي الذي تم تنفيذه، وتم عزل ثلاث سلالات من بكتيريا حمض اللبنيك على وسائط MRS و M17 عند درجة حرارة حضنة قدرها 37 درجة مئوية. يمكن تحديد هذه السلالات لعناوينها التالي:

*Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Lactococcus*.

**الكلمات المفتاحية:** زبدة، التحليل الفيزيائي الكيميائي، التحليل الميكروبيولوجي، بكتيريا حمض اللاكتيك، التحديد.