

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



## MEMOIRE

Présenté En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master Académique

Filière : biologie

Option: Microbiologie appliquée

### Thème

**Contribution à la caractérisation de la flore  
lactique du beurre traditionnel *Dhan***

Présenté Par :

LAOUAR Khaoula  
KHENFRI Meriem

Encadrée par :

Dr. MERABTI R.

Devant le Jury :

Présidente : Dr .DEROUICHE F.

MCB U.A.L.Khenchela

Promotrice : Dr. MERABTI R.

MCB U.A.L.Khenchela

Examinatrice : Mme. LEULMI N.

MAA U.A.L.Khenchela

**2016-2017**

---

Ce travail a été réalisé au niveaux des laboratoires pédagogiques de Microbiologie,  
Université Abbes Laghrou- Khenchela



# Remerciement

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Au terme de ce travail, il est agréable de présenter nos remerciements les plus sincères à, pour m' **Dr Merabti Ryma** avoir proposé ce sujet si intéressant et nous avons accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de nos travail avec leur judicieux conseils et sa constante disponibilité, c'est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.*


*Nos vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepter de juger ce travail:*

*Nous avons le grande plaisir de présenter nos remerciement à Mm la présidente **Dr DEROUICHE F** et Mm l'examinatrice **LELEMI N** pour évaluée ce travaille.*

*Nous remercie aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie Université de Khenchela. Qui ont contribués pour mener à bien ce travail*

*Nos remerciements vont également à nos enseignants qui m'ont accompagné pendant nos cursus universitaire.*

*Enfin j'adresse nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*





## *Dédicace*

*Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux*

*A ma très chère mère **Noura** le symbole de bonté ; la source de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite tu m'as tellement donné aussi que je n'ai pas assez de mots pour t'exprimer, tout d'abord ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse. Vous avez toujours été près de moi lorsque j'avais du chagrin, mais aussi lors de multiples moments de pur bonheur que nous avons vécus ensemble. Je ne peux que prier afin que le Bon Dieu te maintienne très longtemps parmi nous et en bonne santé.*

*A mon très cher Père **Yahya** qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, qui m'a permis de les suivre dans les meilleures conditions possibles ; qui n'a jamais cessé de m'encourager et qui a veillé tout au long de ma vie. Vous avez le droit de recevoir mes chaleureux remerciements ; Si j'en suis là aujourd'hui, c'est grâce à*

***Dieu** et à vous, je vous aime très fort.*

*A mes frères: **Abd-Arhim, Ryad, Rami, Khaled, Saif-edine, Firass***

*A mes sœurs : **Imen, Maissa, Najet***

*A ma grand-mère **Aicha***

*A mes oncles et A mes adorables tantes*

*A mon bébé **Djana**.*

*A mon binôme et ma sœur **Meriem***

*A mes amis : **Wafia, Alima, Houda, Hadjer, Ikram, Kanza***

*A ma fiancé **Fahd***

*A toutes qui connaît **Khaoula**. A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.*

## *Khaoula*

## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant;  
À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon  
bonheur .A Celle qui matant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui ma guidé dans le  
droit chemin, toi qui ma appris que rien est impossible...A toi Ma cher maman: **Farida***

*À l'homme, de ma vie*

*Mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de  
bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, Que  
dieu te garde dans son vaste paradis,*

*À toi mon père **Ahmed***

*À mes chers sœurs : **Randa, Oumaima***

*Et surtout mon adorable sœur **Sihem** et son mari **Hichem** et leurs enfants: **Houda, Assil***

*À mes cher frères : **Radjeb, Haithem***

*À mes oncles et tantes paternels et maternels*

*Au reste de ma famille*

*À mes cousins: **Cherif, Salim, Yacin, Hamza, Mouataz, Adel***

*À mes amies surtout : **Manel, Rofaida, Nawel, Meriem** pour tous les bons moments que  
nous avons partagés*

*À mon binôme et ma sœur **Khaoula***

*À toute la promotion master II 2016-2017 /Option Microbiologie Appliquée du  
Département des sciences biologique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,  
Université Abbes **Laghrour Khenchela**.*

*Meriem*

**TABLE DES MATIERES**

**Liste des abréviations .....I**  
**Liste des figures .....II**  
**Liste des tableaux .....III**

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

Introduction générale..... 1

**Chapitre I : les produits Laitiers Fermentés**

1. Introduction ..... 2

2. Les produits laitiers dans le monde.....3

    2.1 Le fromage.....3

    2.2 Le yaourt.....3

3. Les produits laitiers traditionnels Algériens.....3

    3.1 Le lait fermenté.....3

        3.1.1 *Raïb* .....4

        3.1.2 *L’ben*.....4

    3.2 Les fromages traditionnels.....4

        3.2.1 *J’ben*.....4

        3.2.2 *Klila*.....4

        3.2.3 *Bouhezza* .....5

        3.2.4 *Takammart* .....5

        3.2.5 Le beurre .....5

        3.2.6 *Dhan*.....6

**Chapitre II : les bactéries lactiques et les levures**

1. Introduction .....8

2. Les bactéries lactiques.....9

    2.1 Historique.....9

    2.2 Définition.....9

    2.3 Habitat .....9

    2.4 Caractéristiques.....9

    2.5 Taxonomie.....11

    2.6 La culture des bactéries lactiques.....13

3. Intérêt des bactéries lactiques .....13

    3.1 Dans l'industrie agroalimentaire.....14

    3.2 Dans la santé, probiotique .....14

4. Critères de sélection des souches pour l'élaboration des ferments .....15

    4.1 Activité acidifiante.....15

    4.2 Activité protéolytique.....15

    4.3 Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux.....15

    4.4 Activité bactériostatique (production de bactériocines) .....15

5. Levures et moisissures.....15

    5.1 Les levures .....15

    5.2 Les moisissures.....16

**Chapitre III : activité antimicrobienne des BL**

1. Introduction .....17

2. Les substances antibactériennes .....	17
2.1 Les acides organiques.....	17
2.2 Peroxyde d'hydrogène .....	17
2.3 Les bactériocines .....	18
2.3.1 Classification des bactériocines.....	18
3. L'activité antifongique des bactéries lactiques.....	19

### **PARTIE EXPERIMENTALE**

#### **Matériel et méthodes**

1. L'enquête.....	20
1.1 But de l'enquête.....	20
1.2 Matériel.....	20
1.3 Lieu et période de l'enquête.....	20
2. Echantillonnage .....	20
3. Mesure de pH- mètre.....	21
4. Les isollements des différentes flores.....	21
4.1 Isolements des bactéries lactiques .....	21
4.2 Isolement des levures .....	21
4.3Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) .....	22
5. Identification des bactéries lactiques.....	22
5.1 Les caractères morphologique.....	22
5.1.1 Examen macroscopique .....	22
5.1.2 Examen microscopique .....	22
a) Etats frais .....	22

## TABLE DES MATIERES

---

b) La coloration de Gram .....	22
5.2 Les caractères biochimiques.....	22
5.2.1 Test de catalase .....	22
5.2.2 Le type fermentaire .....	23
5.2.3 Croissance en présence de Na Cl .....	23
5.2.4 Test des températures de croissance et thermorésistante.....	23
5.2.5 Croissance à pH 4,4 et 9,6.....	23
6. L'activité antifongique .....	24
<b>Résultats et discussions</b>	
1. Les résultats de L'enquête.....	25
1.1 Description du procédé.....	28
2. Dénombrement des différentes flores.....	30
3. L'identification macroscopique et microscopique des isolats lactique .....	32
4. Identification partielle des bactéries lactiques.....	34
5. Activité antifongique.....	37
Conclusion .....	38
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>40</b>
<b>Résumés.....</b>	<b>52</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>55</b>

### LISTE DES ABREVIATION

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique ribosomique

**A.*flavus*** : Aspergillus flavus

**BL** : Bactérie lactique

**CO<sub>2</sub>**: Dioxyde de Carbone

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**GC**: Guanine Cytosine

**H<sub>2</sub>O**: L'eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène

**KDa**: Kilodalton

**Lb**: Lactobacillus

**Lc**: Lactococcus

**MEVAG**: Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides)

**Min** : Minute

**NaCl**: Chlorure de sodium

**MRS**: Man Rogosa et Sharp

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PDA**: Agar de dextrose de pomme de terre

**PH** : Potentiel d'hydrogène

**PCA** : Plate Count Agar

**Sp**: Espèce non précisée

**UFC** : Unités Formant Une colonie

**WFH**: Wheat flour hydrolysate agar

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1:</b> <i>Dhan</i> traditionnelle et <i>Chakoua</i> .....	6
<b>Figure2:</b> Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels .....	7
<b>Figure3:</b> Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques.....	10
<b>Figure4:</b> Arbre phylogénique des bactéries lactiques .....	11
<b>Figure5:</b> Echantillons de <i>Dhan</i> : (a) de six mois, (b) de trois jours.....	21
<b>Figure6:</b> Répartition des enquêtes par communes selon la connaissance ou non de la pratique de <i>Dhan</i> .....	26
<b>Figure7:</b> Répartition des enquêtés par zones urbaines et rurales.....	26
<b>Figure8:</b> Répartition de l'utilisation du lait de vache et de chèvre par les enquêtés des différentes communes.....	27
<b>Figure9:</b> Répartition des enquêtes selon l'origine de la matière première.....	27
<b>Figure10:</b> Diagramme de la fabrication de <i>Dhan</i> .....	29
<b>Figure11:</b> (A) Echantillon 1, (B) Echantillon 2 Dénombrement du champignon (levure) sur le milieu sabouraud et (C) observation microscopique.....	31
<b>Figure12:</b> Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats14 (A) Coloration de Gram +, (B)Aspect et couleur des colonies sur M17 ,(C) Aspect et couleur des colonies sur MRS agar, (D) Aspect des cultures en bouillon MRS.....	32
<b>Figure13 :</b> Antagonisme vis à vis d' <i>Aspergillus flavus</i> , d' <i>Aspergillus. sp2</i> , d' <i>Aspergillus .sp3</i> et d' <i>Alternaria. sp</i> .....	37

**LISTS DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1:</b> Principaux genres des bactéries lactiques.....	12
<b>Tableau 2:</b> Classification des bactériocines de bactéries lactiques.....	19
<b>Tableau 3:</b> Les souches fongiques testées .....	24
<b>Tableau 4:</b> Effectifs des personnes questionnées.....	25
<b>Tableau 5:</b> Dénombrement exprimé en UFC/g.....	30
<b>Tableau 6:</b> Les Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 14 isolats sélectionnés.....	33
<b>Tableau 7:</b> Tests biochimiques de l'identification partielle des 10 isolats sélectionnés.....	34
<b>Tableau 8:</b> Résultats d'identification partielle des 10 isolats.....	35
<b>Tableau 9:</b> Résultat de l'activité antifongique.....	36

# *Introduction*

### Introduction

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 (**Bekhouche et Boulahrouf, 2005**).

La **préservation** des aliments se base essentiellement sur la prévention ou l'inhibition de la croissance des microorganismes contaminants. Les méthodes physico-chimiques de préservation provoquent des altérations de qualité nutritionnelle, et organoleptique des aliments, et une diminution de leurs utilités suite au développement des résistances par les microorganismes contaminants pathogènes. Cette résistance est attribuée à l'utilisation abusive et souvent prolongée des produits chimiques, ce qui permet aux souches de développer des mécanismes de résistance (**Gould, 2000**). Face à ces problèmes, la recherche scientifique s'oriente vers une approche qui est la biopreservation (**Gould, 2000**). La recherche des bactéries lactiques, qui ont un rôle dominant dans la production de beaucoup de produits laitiers fermentés, avance avec une vitesse très impressionnante développant une alternative dans le domaine de l'alimentation (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

En **Algérie**, de nombreux types d'aliments traditionnels de différentes régions du pays sont actuellement produits au niveau des ménages ou de façon artisanale. Le *Dhan* est un exemple de ces produits du nord-est de l'Algérie (région des Chaouia). D'après la littérature, l'écosystème du beurre traditionnel est dominé par la flore lactique indigène associée parfois aux levures. Afin de caractériser le microbiote du *Dhan* et d'étudier le potentiel biopréservateur de la flore lactique présente, nous avons ciblé, dans ce travail, les objectifs suivants :

- Enquêter sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles du *Dhan* algérien ;
- Isoler et caractériser la microflore dominante du *Dhan* traditionnel ;
- Évaluer l'activité antifongique des souches isolées.

*Chapitre I*

*Les produits*

*laitiers fermentés*

**Les produits laitiers fermentés****1. Introduction**

Le lait le premier aliment de l'homme .Il est le seul à pouvoir revendiquer en tout temps et tous lieux le statut d'aliment universel, au moins pour la première partie de la vie de l'être humain. L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb avec une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110/habitant/an en 2010 (**Benelkadi, 2005**).

La production du lait en Algérie, reste très insuffisante malgré tout les efforts déployés par l'état pour subvenir à une demande qui ne cesse d'accroître d'une année à l'autre. A l'échelle nationale de la production laitière, il faut souligner que la filière lait est caractérisée par une faible productivité des élevages laitiers dus essentiellement à une insuffisance en unités fourragères (**Meslem A.M, 2011**).

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 certains moments de l'année, il est difficile de le conserver et facilement périssable, surtout dans les zones à climat très 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 pastorale, ont toujours été les principale protagonistes auteurs de la transformation du lait (**Claps et Morone, 2011**). Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Certains sont voisins, mais présentés sous des noms variés. Beaucoup d'entre eux contiennent l'une ou les deux bactéries spécifiques du yaourt associées d'autres micro-organismes.

**2. Les produits laitiers dans le monde****2.1 Le fromage**

Beaucoup variétés de fromage à partir du lait de chèvre, de brebis et de vache, sont fabriquées, à travers le monde, dans des fermes suivant des techniques traditionnelles, sans addition intentionnelle de levains, et sont généralement conçues comme des " fromages artisanaux"(**Randazzo et al ., 2009**). On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. On peut aussi faire appel à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière a obtenir un produit fini (**Carole, 2002**).

**2.2 Le yaourt**

Le yaourt est un lait fermenté moderne. Selon le Codex Alimentarius (norme N°A-11(a) 1975) « le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par la fermentation lactique à partir du lait frais, ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition (de lait en poudre, poudre de lait ...). Les microorganismes doivent être viables et abondants » (**France, 2009**).

**3. Les produits laitiers traditionnels algériens**

Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs wilayas algériennes et qui diffèrent par leur matière première, leur technologie, leur flore microbienne, leur goût, leur texture et leur durée de conservation.

**3.1 Le lait fermenté**

Plusieurs types de produits laitiers fermentés comptés à (**Tamime, 1997 ; Stanely, 1998**). Quant il s'agit de sa nature plusieurs facteurs entre en jeu notamment le type de lait utilisé, le prétraitement, les conditions de fermentation et le traitement ultérieur. En fait, la production des produits laitiers fermentés était pour but de prolonger la durée de conservation du lait. Pendant des siècles et des siècles, ces aliments traditionnels existent encore, non seulement sous la forme artisanale mais, au fur et à mesure ils ont envahis le monde de l'industrie en s'appuyant sur des cultures spécifiques (starter) et de nouvelles techniques (**Cogan, 1996 ; Oberman, 1998**).

### **3.1.1 *Raiïb***

Le *Raiïb* est un produit qui n'aura aucun traitement thermique préalable et laissé s'acidifier par fermentation spontanée jusqu'à l'obtention d'un caillé (Touati ,1990). Il peut être consommé comme boisson après une simple homogénéisation, ou additionné aux autres plats traditionnels (Couscous, Mesfouf). Il entre dans la fabrication du *L'ben* (Aissaoui. Z, 2004).

### **3.1.2 *L'ben***

*L'ben* ; c'est du lait débarrassé de sa crème, et qui a subi ensuite une fermentation lactique, l'acide lactique produit provient du dédoublement de la molécule de lactose par l'action du bacille lactique. L'acide lactique a la propriété, lorsqu'il se forme en excès, d'amener la coagulation de la caséine du lait. Cette coagulation est d'autant plus active que la température ambiante est plus élevée (Bendanou, 1981). La composition chimique du « *L'ben* » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (El Baradei *et al.* , 2008).

## **3.2 Les fromages traditionnels algériens**

Les fromages traditionnels sont peu nombreux, en Algérie non entièrement recensés et Aussi peu étudiés, environ dix types de fromages sont connus dans différentes régions du pays (Aissaoui zitoun *et al.* , 2011). Les fromages *Madeghissa*, *Mechouna* et *Bouhezza* sont fabriqués dans la région des *Chaouia* (Nord-est), *Aoules* et *Takammart* dans le sud, *Igounanes* dans la région de Kabylie (Aissaoui zitoun *et al.* , 2011), *J'ben* et *Klila* sont connus dans plus d'une région (Hallel, 2001). Ces fromages restent encore non labellisés, leur fabrication est destinée à l'autoconsommation au niveau familial.

### **3.2.1 *J'ben***

*J'ben* ; c'est un fromage traditionnel frais obtenu par coagulation enzymatique (extrait à partir de la caillette de veau). Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et présure égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques. (Lahsaoui, 2009).

### **3.2.2 *Klila***

La *Klila* est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs région de l'Algérie. La *Klila* est préparée à partir du *L'ben* chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour

favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin. La *Klila* peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (**Touati, 1990**).

### **3.2.3 Bouhezza**

Ce type de fromage est répandu dans le territoire de l'Aurès (zone Chaouia). Il est fabriqué à partir de lait de brebis, de chèvre, ou de vache baratté et écrémé (*L'ben*) (**Touati, 1990 ; Hallal, 2001**). Sa spécificité est l'utilisation d'une peau d'animaux « *Chekoua* » comme contenant de la matière première et séparateur de lactosérum-et aussi du *L'ben*. Un salage en masse et des ajouts successifs de *L'ben* et de lait cru permettent l'accumulation de la pâte fromagère dans la *Chekoua*. Ainsi, et après au-moins 4 semaines le fromage est affiné.

### **3.2.4 Takammart**

D'après **Hellal (2001)**, c'est un fromage du Hoggar, il est fabriqué par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait, après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte et sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne de l'arome. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'à durcissement du fromage. Le fromage peut subir un affinage durant un mois (**Gast et coll, 1969 cité par Abd Elaziz et Ait Kasi, 1992**).

### **3.2.5 Le beurre**

Selon la norme du Codex Alimentarius, le beurre 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 (**Luquet et Corrieu, 2005**).Le beurre est fabriqué à partir de la crème (le barattage) et il contient 0,8 g de protéines pour 100g (**Vilain, 2010**). À la fin du barattage une quantité limitée (environ 10% de volume de lait) d'eau chaude ou froide est ajoutée pour ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre. La récupération du beurre s'effectue généralement à la .Le beurre traditionnel 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 chez les Bédouins, 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« *Chekoua* » à température ambiante (**Makhloufi, 2013**).

### 3.2.6 Dhan

Un beurre traditionnel est fabriqué à partir du lait de vache non pasteurisé. Tout d'abord, le lait est laissé à température ambiante jusqu'à ce qu'il s'acidifie. Une agitation manuelle est utilisée dans une peau de chèvre jusqu'à la séparation de la crème au lait écrémé, pendant l'agitation d'une petite quantité d'eau fraîche est ajoutée. Cette eau permet de rassembler les globules gras. Cette agitation dure quelques dizaines de minutes. Les matières grasses sont collectées et elles représentent le beurre (**Bettache *et al.*, 2012**).



**Figure 1:** *Dhan* traditionnel et *Chakoua*

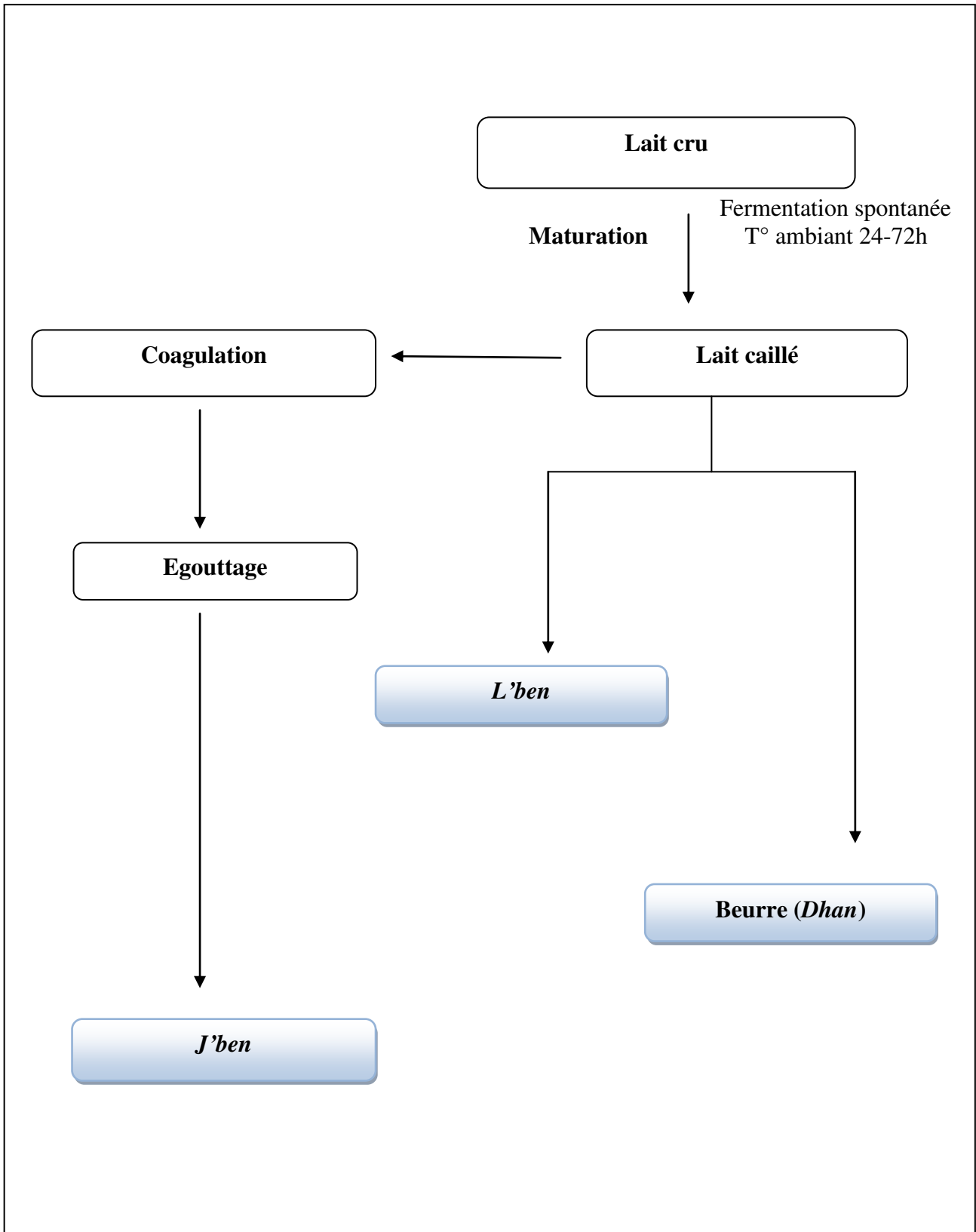


Figure 2 : Diagramme de fabrication des produits laitiers traditionnels (Benkerroum et Tamime, 2004)

# *Chapitre II*

## *Les bactéries lactiques*

**Les bactéries lactiques et les levures****1. Introduction**

Les bactéries lactiques ont toujours occupé une place importante parmi les auxiliaires de fabrication alimentaire. Leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement exploités dans l'agro-alimentaire (**Bull, 1999**). Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont Gram+, généralement immobiles, a sporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellaglio et al ., 1994**). Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire .Elle sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C ou thermophiles entre 30°C et 45°C .La majorité de souches se développent à pH 4,0 et 5 ,0 Certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (**Jozala et al ., 2005**).

Il est possible de les classer suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides. En effet les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> en plus de l'acide lactique.

**2. Les bactéries lactiques (BL)****2.1 Historique**

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes dont les ancêtres auraient pu voir le jour il y a trois milliards d'années. Elles seraient donc apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques qui ont transformé l'atmosphère terrestre ancienne sans oxygène en atmosphère aérobie (**Dridier et Prevost, 2009**). Les BL sont utilisées par les producteurs de lait depuis 65 millions d'années (**Tailliez, 2001**). Elles ont été utilisées pour la fermentation des aliments depuis 4000 ans. Ce n'est qu'à la fin du 19<sup>e</sup> siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que certaines chercheuses ont isolé un streptocoque (**Poulain, 1994**).

**2.2 Définition**

Bien avant que l'on soit conscient de l'existence des bactéries lactiques, elles n'ont été utilisées que récemment dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et de fruits (**Paul Ross et al ., 2002**). Les BL sont utilisées dans de nombreux produits laitiers dont les laits fermentés, les fromages et les yogourts. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments ainsi qu'à la production de composés aromatiques. Les bactéries lactiques inhibent la prolifération de micro-organismes par la production de composés inhibiteurs telles les bactériocines (**Piard et Desmazeaud, 1991, 1992**) et en abaissant le pH par la production d'acide lactique (**Gilliland, 1985**). La présence de BL est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (**De Roissart et Luquet, 1994**).

**2.3 Habitat**

Les BL sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien, en tant que bactéries de la flore commensale, de la flore intestinale ou de la flore alimentaire. Une caractéristique commune permet cependant de les unifier en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique (**Dellaglio et al ., 1994**).

**2.4 Caractéristiques**

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, chimio- organotrophes et hétérotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoles, et catalase négative (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, acides gras, glucides et sels) (**Holzapfel et al ., 2001 ; Gevers, 2002**). Elles se caractérisent par:

- Un métabolisme exclusivement fermentaire qui les conduit à produire à partir du glucose de quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO<sub>2</sub> autres acides organiques)
- Elles ont une faible capacité de biosynthèse (Luquet, 1986).
- Elles produisent des quantités abondantes d'acide lactique par fermentation de substance carbonée.
- Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage de GC (Muto & Osawa, 1987).
- Elles sont de métabolisme chimio-organotrophes, ce qui signifie qu'elles utilisent comme source énergétique des substances hydrocarbonées telles que les sucres, les alcools et les acides organiques (voir figure 3).

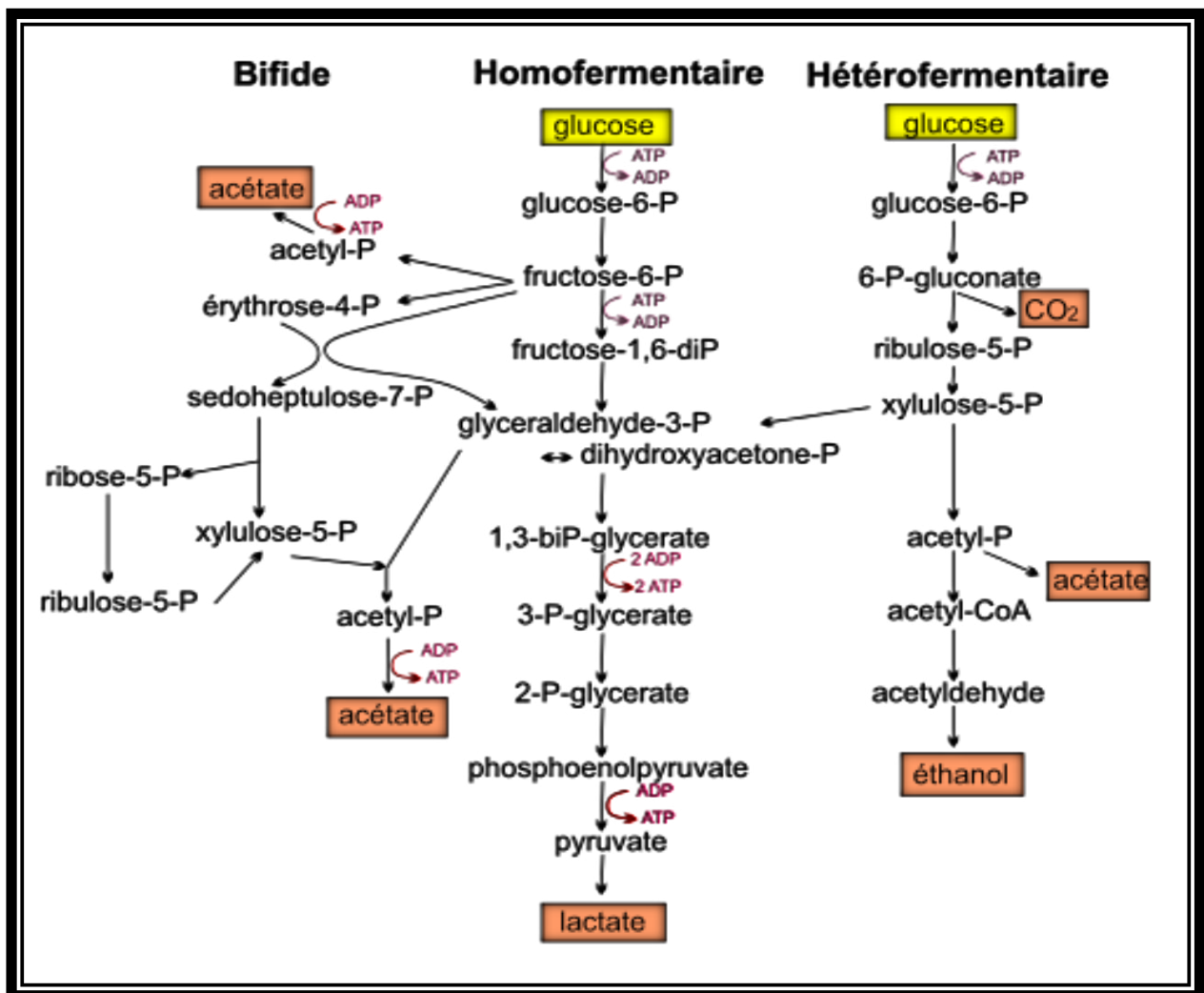
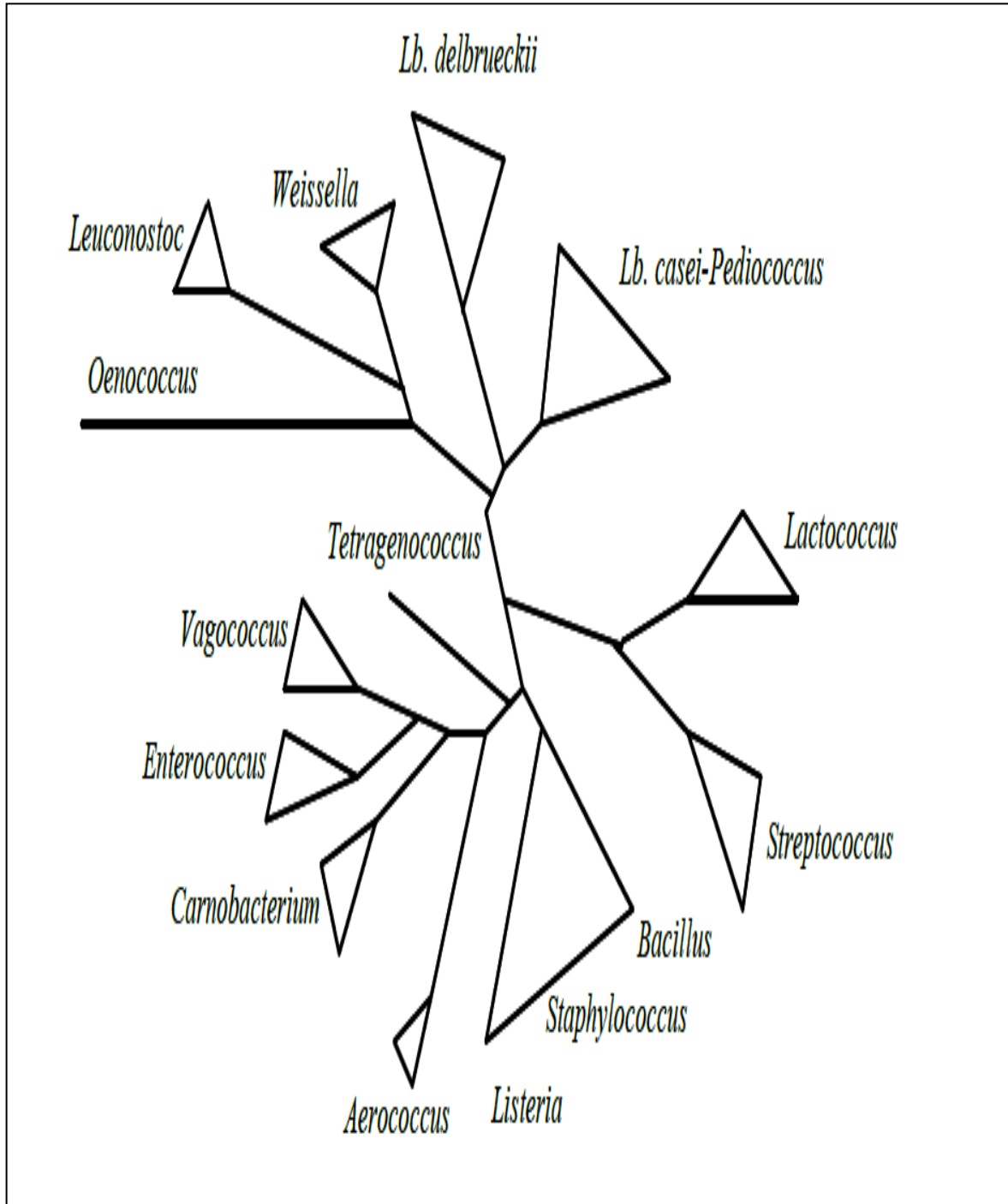


Figure 3: Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactique (adapté de Dellagio et al., 1994)

**2.5 Taxonomie** Ils regroupent 12 genres dont: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Axelsson, 2004).



**Figure 4 :** Arbre phylogénique des bactéries lactiques d'après Axelsson (2004)

De nombreuses classifications des bactéries lactiques ont été proposées. Parmi elle, figure la classification selon la composition de la paroi cellulaire bactérienne (Ambrosini *et al.*, 1996), incluant la nature des acides gras, tels que l'acide lactobacillique (C19:0) et les acides gras insaturés (C14:0, C16:0, C18:0) qui la composent (Gilarova *et al.*, 1994).

Une autre classification, basée sur les différents modèles de fermentation du glucose définit 3 groupes (Mcleod *et al.*, 2008).

- **Le groupe I** : Renferme les bactéries réalisant exclusivement l'homofémentation. Ce groupe comporte majoritairement des *Lactobacillus*.
- **Le groupe II** : Inclut les bactéries réalisant l'hétérofémentation et regroupe les *Leuconostoc*, les *Oenococcus*, les *Weissella* et quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus*.
- **Le groupe III**: Ce groupe présente une position intermédiaire entre le groupe I et II réalisant ainsi l'homofémentation ou l'hétérofémentation selon les conditions environnementales (Mcleod *et al.*, 2008). Il est regroupe quant à lui quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus* et la majorité des espèces appartenant au genre *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*.

**Tableau 1:** Principaux genres des bactéries lactiques (sutrati et Federighi, 1998)

	<i>Morphologie</i>	<i>Fermentation</i>	<i>Température d'optimisation</i>	<i>Nombre d'espèces</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacille</i>	<i>Homofémentation</i> ou <i>Hétérofémentation</i>	<i>Thermophile</i> ou <i>Mésophile</i>	<i>G1:23</i> <i>G2:16</i> <i>G3: 22</i>
<i>Carnobacterium</i>	<i>Bacilles</i>	<i>Hétérofémentaires</i>	<i>Psychrophiles</i>	6
<i>Lactobacoccus</i>	<i>Coque</i>	<i>Hétérofémentaires</i>	<i>Mésophile</i>	5
<i>Streptococcus</i>	<i>Coque</i>	<i>Hétérofémentaires</i>	<i>Thermophile</i> ou <i>mésophiles</i>	19
<i>Enterococcus</i>	<i>Coques</i>	<i>Homofémentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	13
<i>Vagococcus</i>	<i>Coques mobiles</i>	<i>Homofémentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	2
<i>Pediococcus</i>	<i>Coques en tétrades</i>	<i>Homofémentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	7

<i>Tetragenococcus</i>	<i>Coques en tétrades</i>	<i>Homofermentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	<i>1</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Coques</i>	<i>Homofermentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	<i>11</i>
<i>Oenococcus</i>	<i>Coques</i>	<i>Homofermentaires</i>	<i>Mésophiles</i>	<i>1</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Forme irréguliers</i>	<i>Acide acétique et lactique</i>	<i>Mésophiles</i>	<i>25</i>

## 2.6 La culture des bactéries lactiques

Les BL demandent des milieux riches en différents nutriments pour Croître (sucres, acides aminés, acides gras, sels, vitamines) et pauvres en oxygène (**Hammes et Herte, 2006**). Elles sont essentiellement cultivées dans :

- Le milieu Man Rogosa Sharpe (MRS). Ce milieu est très riche, permet un développement rapide de toutes les espèces de lactobacilles, qui à culture difficile différentes sources de carbone et d'azote, telles que les peptones, le glucose et le Tween 80 (**Sakili et Issoual, 2003**).
- Le milieu Chalmers. Ce milieu permet une meilleure reconnaissance de ces bactéries qui s'entourent d'une auréole transparente caractéristique de leur présence.
- Le milieu hypersaccharosé : Le Tween 80 était initialement utilisé comme émulsifiant dans la préparation des milieux de culture avant d'être considéré comme source de carbone pour les bactéries.
- Milieu MEVAG sans sucre.
- Milieu Lait écrémé tournesolé.
- M17 agar (**Georgieva et al., 2009**).

## 3. Intérêts des bactéries lactiques

Grâce à leurs effets bénéfiques, les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs secteurs d'activités, notamment dans le domaine de l'agriculture, de la santé et de l'industrie agroalimentaire. Le champ d'application des bactéries lactiques est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (**Casaburi et al., 2007; Muthukumarasamy et al., 2006**)

**3.1 Dans l'industrie agroalimentaire**

Les bactéries lactiques furent et sont encore utilisées sous la forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capable d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (**Leveau et Bouix, 1993 ; Pfeiler et Klaenhammer, 2007**). Les bactéries lactiques produites comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou un mélange appartenant aux genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium*. (**Leveau et Bouix, 1993**).

Dans les laits fermentés l'acidification provoque la formation d'un caillé plus au moins ferme selon les bactéries lactiques présentes selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé, kéfir) pour obtenir une croissance déterminée. L'utilisation de souches plus ou moins acidifiantes peut être combinée à celle de souches productrices de polysaccharide (**Sutro et Federighi, 1998**). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (**Dortu et Thonart, 2009**).

Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité de d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (**Marth et Steele, 2001**).

**3.2 Dans la santé: probiotique**

**La FAO et l'OMS (2002)**, ont définis les probiotiques comme suit: « les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère ». Les bactéries lactiques assurent :

- L'amélioration de la digestibilité du lactose.
- L'abaissement du taux de cholestérol sanguin.
- Des effets sur l'activation du système immunitaire.
- L'inactivation de composés toxiques et la protection contre certaines infections intestinales (**Laurant et al., 1998**).

**4. Critères de sélection des souches pour l'élaboration des ferments****4.1 Activité acidifiante**

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques, les bactéries lactiques provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone. Dans la fermentation homolactique, l'acide lactique est le produit prépondérant (plus de 95%). Il provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par lactate déshydrogénase. Cette activité est faible chez le genre de *Leuconostoc* lorsqu'ils sont croître a des base pH (**Badis et al ., 2004**).

**4.2 Activité protéolytique**

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases, des peptidase nécessaire à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristique du produit final (**Chahbal et al ., 1991 et 1993**).

**4.3 Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux**

Certaines BL sont capable de produire des composer d'aromes qui participent aux qualités organoleptiques des beurres. La plupart des compos&s d'aromes sont issus du métabolisme du citrate: l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (**Tamime, 1990**).

**4.4 Activité bactériostatique : production du bactériocines**

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens le plus souvent cationiques, modifiés ou non post-traductionnellement, de masses moléculaires comprises entre 2 et 6 KDa (**Heng et al ., 2007 in Makhloufi, 2011**). Ces peptides antimicrobiennes sont synthétisés par un très grand nombre des souches de bactéries lactiques, ils sont généralement thermorésistantes actifs uniquement sur les bactéries à Gram positif (Sutro et Federighi)

**5. Levures et moisissures**

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur structure cellulaire. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (**Abdessalam A. D, 1984**).

**5.1 Les levures**

De forme arrondie ou ovale, volumineuses ou unicellulaires, les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne .Par contre,

d'autres levures peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments ; ce sont : *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces fragilis* et *Saccharomyces lactis*. Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6, ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait Caillé. Elles entraînent des altérations rendant le produit final répugnant: aspect trouble, odeurs désagréable, gonflement des produits ou de leur emballage (**Hicks et al ., 1985; Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993**).

### **5.2 Les moisissures**

Les moisissures sont en général plus complexes dans leur morphologie et dans leur mode de reproduction. Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire à partir du lactose; cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie. C'est ainsi que *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti* sont utilisées dans la fabrication de divers types de fromages (**Hicks et al ., 1985; Jooste et al ., 1985 in Leveau et Bouix, 1993**).

**Chapitre III**  
**Activité**  
**antimicrobienne des**  
**BL**

**Activité antimicrobienne des BL****1. Introduction**

Les produits laitiers, en générale, comme le lait fermenté est les supports d'écosystème dont la composition évolue avec le temps .Les facteurs de sélection qui gouvernent cette évolution sont générés par l'activité métabolique des micro-organismes eux-mêmes. Ceux-ci, à instant donné, créent à la fois les conditions de leur déclin et celle favorisant l'installation d'autres groupes microbiens :

- Par la production des substances inhibitrices ou au contraire celles de facteur de croissance
- Par la modification de facteurs physico-chimique, dont le PH. **(Leyral et Vierling ,2007).**

**2. Les substances antimicrobiennes**

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines **(Dortu et Thonart, 2009).**

**2.1 Les acides organiques**

En général, la production d'acides organiques permet une acidification du milieu qui peut limiter la croissance de certaines bactéries entre autres les bactéries indésirables. Des expositions prolongées dans un milieu acide peuvent entraîner la mort de plusieurs bactéries, y compris les ferments lactiques **(Champagne et al ., 1992).** Ainsi, les acides organiques ont différentes actions telles qu'un excellent pouvoir bactéricide ou un effet bactériostatique contre les micro-organismes pathogènes se trouvant dans le tube digestif **(Jedidi, 2007).**

**2.2 Le peroxyde d'hydrogène**

Les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase typique contenant un noyau hème pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents micro-organismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires **(Zalan et al ., 2005).** Certaines bactéries lactiques peuvent néanmoins se protéger contre le peroxyde d'hydrogène qu'elles produisent par la synthèse de catalase hexamérique ou métamérique contenant du manganèse et qui sont parfois décrites comme étant des pseudocatalases **(Strus et al ., 2006).**

La concentration de peroxyde d'hydrogène produite par des *Lactobacilles* varie entre 0,001 et 8 mm, en fonction de l'espèce, de la souche et des conditions de cultures (**Sakamoto et al ., 1998; Kullisaar et al ., 2002; Zalan et al ., 2005; Strus et al ., 2006**).

Son action se manifesterait aussi bien sur les germes indésirables que sur ceux qui sont indispensables au bon déroulement de la fermentation. Il est donc rarement utilisé pour son activité inhibitrice. D'autre part, son action oxydante peut avoir un effet néfaste sur la santé humaine (**Zalan et al ., 2005**).

### **2.3 Les bactériocines**

**Klaenhammer (1988)** a défini les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram positif. Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques avec une activité contre des bactéries Gram négatives n'a été décrite, la membrane externe des bactéries Gram négatives ne permettant pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité (**Dortu et Thonart, 2009**).

À la suite de leurs travaux sur les colicines (bactériocines de bactéries Gram négatif) (**Tagg et al ., 1976**). Citent les critères requis pour qu'une substance chimique soit dénommée bactériocine :

- La présence d'une partie biologiquement active de nature protéique.
- Un spectre d'activité inhibitrice étroit et centré sur les espèces homologues.
- Un mode d'action bactéricide.
- L'adsorption à des récepteurs spécifiques.

#### **2.3.1 Classification des bactériocines**

On trouve des souches productrices de bactériocines chez tous les genres de bactéries lactiques. Le nombre de bactériocines de bactéries lactiques caractérisées a augmenté de façon exponentielle au cours des dix dernières années.

Tableau 2 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques (Luquet et Corrieu, 2005)

Classe	Sous-catégorie
<b>Classe I : l'antibiotique</b>	Type A : molécules linéaires Type B : molécules globulaires
<b>Classe II : bactériocines non-modifiées</b> <b>Thermostables</b>	Classe : anti-listeria Classe : bactériocines à deux composants Classe : autres bactériocines
<b>Classe III : bactériocines de grande</b>	taille, sensibles à la chaleur.

### 3. L'activité antifongique des bactéries lactiques

Les moisissures constituent une flore d'altération naturellement présentes sur les aliments tels que les produits laitiers, le fromage, le pain, les produits agricoles en stockage et les ensilages (Bullerman 1977; Moon, 1983 ; Bonestroo *et al.* , 1993 ; Filtenborg *et al.* , 1996). Les genres les plus courants sont *Penicillium* et *Aspergillus* sur le café, le cacao, l'arachide, les fruits secs, les fruits frais, et les légumes et *Fusarium* sur les céréales (Filtenborg *et al.* , 1996 ; Jefca, 2001).

L'idée de l'utilisation des bactéries lactiques pour le contrôle de la croissance des moisissures dans les aliments vient de la cohabitation entre bactéries et moisissures sur ces aliments, mais aussi de la résistance croissante des moisissures aux antibiotiques. Ainsi certaines souches de *Penicillium*, *Saccharomyces* et *Zygosaccharomyces* se développent bien en présence de sorbate de potassium et de benzoate (Nielsen et Boer, 2000 ; Davidson, 2001). De plus le nombre de moisissures dégradant le sorbate est sans cesse croissant (Nielsen et Boer, 2000).

# *Matériel et méthodes*

### 1. L'enquête

#### 1.1 But de l'enquête

Le but de cette enquête est de prospecter la pratique traditionnelle du *Dhan* dans la wilaya de Khenchela et la collecte des échantillons à analyser.

#### 1.2 Matériel

Notre enquête est fondée sur un questionnaire, réalisé auparavant sur le beurre traditionnel *Dhan*. Le questionnaire utilisé est structuré comme suit (Annexe 1) :

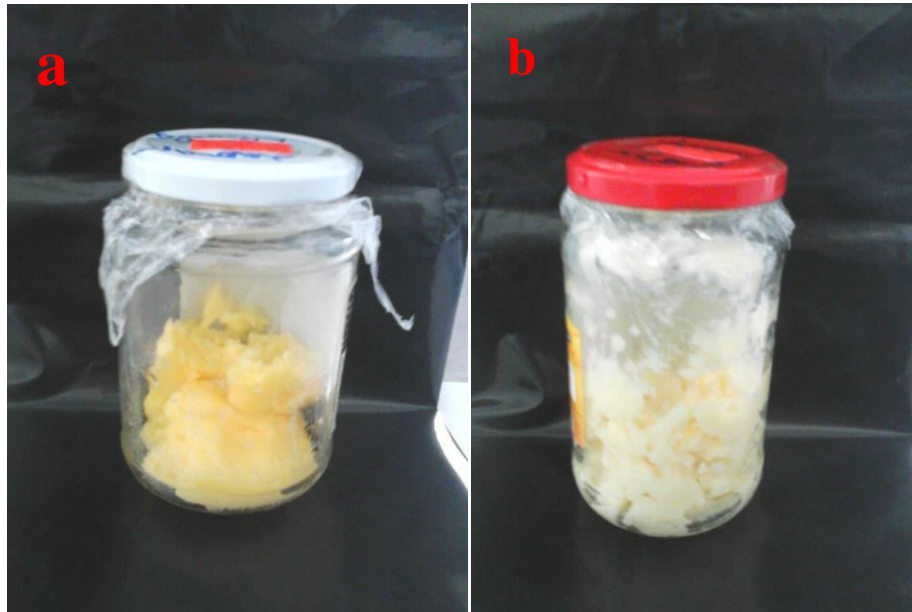
- **Identité des ménages** : cette section nécessite la collecte des informations sur les personnes à enquêter ; âge, sexe, situation professionnelle et familial.
- **Matière première** : cette partie vise à la description de la matière première et les matériaux utilisés, plus les origines et les sources des procédés.
- **Préparation du *Dhan*** : comprend des informations sur le traitement du beurre avant fermentation et les processus de fermentation.
- **Mode de conservation du *Dhan*** : comprend les conditions de conservation du produit.
- **Mode de consommation** : cette section a pour but recueillir des informations sur la consommation et les habitudes de l'utilisation du *Dhan*.

#### 1.3 Lieu et période de l'enquête

Ce travail est réalisé au niveau de 6 communes de la wilaya de Khenchela : Khenchela, Baghai, Manchar, M'toussa, Kais et Chechar connues par la consommation du *Dhan*. L'enquête est effectuée en mai 2017 durant 1 mois et cible les commerçants des produits laitiers au niveau des fermes et des communes citées.

### 2. Echantillonnage

Deux échantillons de *Dhan*, de trois jours et de six mois, sont collectés à partir d'une ferme dans la commune de Baghai (wilaya de Khenchela). Les échantillons de *Dhan* transportés au laboratoire de microbiologie de l'université, sont conservés à température au frais (4°C) jusqu'à leur analyse.



**Figure 5** : Echantillons de *Dhan* : **(a)** de six mois, **(b)** de trois jours

### **3. Mesure du pH des échantillons**

20 grammes de chaque échantillon de *Dhan* sont homogénéisés avec 180 ml d'eau peptonée à 1%. Le pH des échantillons est déterminé directement en utilisant un pH-mètre (**Owusu-Kwarteng, 2012**).

### **4. Isolement des différentes flores**

20 g de chaque échantillon (*Dhan*) sont ajoutés à 180 ml d'eau peptonée à 1%, et homogénéisés pendant 45 min sur la plaque d'agitation. A partir de cette dilution  $10^{-1}$ , des dilutions décimales (de  $10^{-2}$  à  $10^{-7}$ ), (annexe 13), sont préparées et pour chaque dilution un volume de 0,1 ml de la suspension microbienne est étalé en surface des différents milieux.

#### **4.1 Isolement des bactéries lactique**

Les milieux utilisés sont le MRS et le M17 (annexes 5 et 6). Les dilutions sont réparties sur la surface par râteau puis incubées à 30 °C dans les conditions d'anaérobiose pendant 48–72h. L'anaérobiose est créée par le biais d'une bougie.

#### **4.2 Isolement des levures**

L'isolement des levures est réalisé sur le milieu Sabouraud (annexe 7) maintenue dans des boîtes de pétri et réparties sur la surface par râteau puis incubées à 30 °C pendant 48–72h.

### 4.3 Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la FTAM est réalisé en mettant 1 ml de chaque dilution au centre de la boîte de pétri puis on a coulé environ 15 ml de la gélose PCA préalablement fondue et refroidie à 45°C. On a mélangé soigneusement l'inoculum dans le milieu de culture et laissé les boîtes se solidifier sur la palliase puis en ajoute un couche très mince de milieu PCA. La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 30°C (GUIRAUD, 1998).

## 5. Identification des bactéries lactiques

Sur chacune des boîtes servant aux dénombrements, nous classons les colonies en catégories selon leur aspect macroscopique. Dans chaque catégorie, nous choisissons aléatoirement une colonie supposée représentative parmi celles, observées pour réaliser les premiers tests d'orientation. L'identification des souches a été basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques (Lamouliatte *et al.* , 1992 ; Mégraud, 1994).

### 5.1 Caractère morphologiques

#### 5.1.1 Examen macroscopique

Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu solide (taille, aspect, pigmentation, viscosité et contour).

#### 5.1.2 Examen microscopique

L'observation microscopique au grossissement (G x100) permet de classer les bactéries selon leur mode d'association, leur Gram et leur morphologie cellulaire (Joffin et Leyral, 1996)

##### a) Etat frais

Pour vérifier la forme et la mobilité, une lame additionnée d'une goutte de chaque suspension bactérienne est observée au microscope.

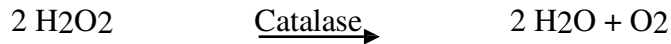
##### b) Coloration de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit en ( annexe 2).

### 5.2 Les caractères biochimiques

#### 5.2.1 Test de catalase

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on ajoute une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (**Guiraud, 2003**).

### 5.2.2 Le type fermentaire

Ce test permet de discriminer les isolats lactiques homofermentaires des hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO<sub>2</sub>). La culture des isolats est faite sur bouillon MRS (annexe 8). Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, la production de CO<sub>2</sub> se traduit par une présence de gaz par agitation manuelle (**Holzappel et Gerber, 1983 ; Müller, 1990 ; Carr et al., 2002**).

### 5.2.3 Croissance en présence de NaCl

La méthode implique àensemencer des bouillons hypersalés à concentrations finales en NaCl de 18% et 6,5% par des cultures jeunes. Après incubation à 30°C pendant 24 à 72 h, l'aptitude à croître sur ces milieux se traduit par l'apparition d'un trouble. La croissance est appréciée par examen des milieux de culture et par comparaison avec un tube témoin (**Sherman, 1937 ; Carr et al., 2002 ; Axelsson, 2012**).

### 5.2.4 Test des températures de croissance

Il est effectué par ensemencement d'une culture pure de deux séries de bouillons MRS. La première série est incubée à 10°C pendant 24h à 48h et la seconde à 45°C pendant 24 à 48 heures. La turbidité des tubes ensemencés est comparée à un tube témoin non ensemencé et incubé dans les mêmes conditions. Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des thermophiles. (**Carr et al., 2002 ; Badis et al., 2004**).

### 5.2.5 Croissance à pH 4,4 et 9,6

La méthode consiste sur bouillons hyperacide (pH 4,4) et hyperalcalin (pH 9,6). Après une incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube de milieu de culture non ensemencé incubé à la même température (**Carr et al., 2002 ; Mathara et al., 2004**).

## 6. L'activité antifongique

Dans cette partie, les isolats sélectionnés sont testés contre 4 souches fongiques mentionnées dans le tableau 3. Ces dernières font parties des moisissures d'altération et de production de mycotoxines.

Pour étudier l'activité antifongique des isolats sélectionnés, la méthode décrite par (C. Je lay *et al.*, 2016) à été adoptée. Les isolats sont mis en culture dans le milieu MRS pendant 24 h à 30°C. Les cultures fraîches (200µl) sontensemencées en profondeur dans le milieu WFH (annexe 11). Les boites sont incubées pendant 24-48 h à 30°C en aérobiose. Les gélosesensemencées, par touche au centre, de la moisissure test préalablement repiqués sur milieu PDA. Les boites sont ensuite incubées pendant 3 à 5 jours à température ambiante. L'activité est estimée par l'observation de l'absence de croissance des moisissures testées ou par l'inhibition de ces dernières.

**Tableau 3 :** Les souches fongiques testées

<b>Cible</b>	<b>Référence</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>UBOCC-A-106028</i>
<i>Aspergillus. sp 2</i>	Ce sont des souches de la contamination trouvées dans les isolements
<i>Aspergillus. sp 3</i>	
<i>Alternaria. sp</i>	

*Résultats et  
discussions*

La présente partie regroupe toutes les informations relatives à la caractérisation du *Dhan* selon les résultats d'une enquête réalisée dans la zone des *Chaouia*. Ses principaux objectifs sont la délimitation géographique de la zone de fabrication du *Dhan* et la collecte d'un maximum d'informations sur cette pratique traditionnelle avec un échantillon de familles.

### 1. Les résultats de l'enquête

Les personnes questionnées sont des sexes masculin et féminin, appartenant à une tranche d'âge comprise entre 21 et 83. Les résultats de l'investigation sont résumés dans les tableaux 4 et les figures 6, 7, 8, 9.

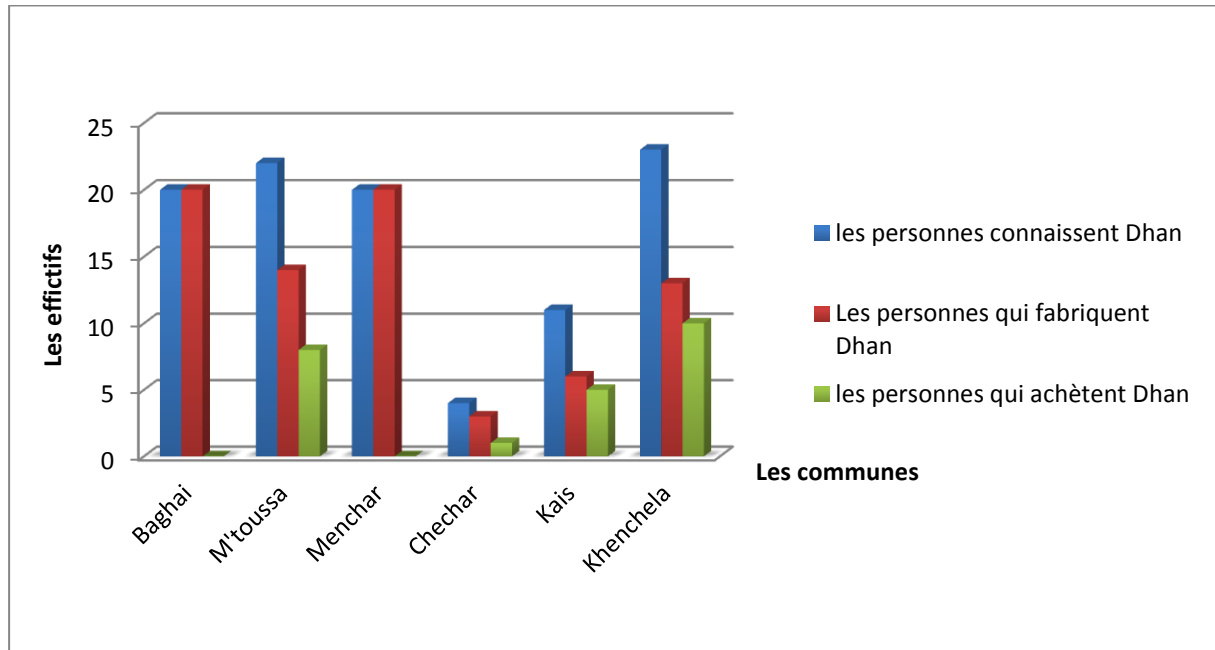
**Tableau 4 : Effectifs des personnes questionnées**

Wilaya	Commune	L'âge	Zone urbaine	Zone rurale	A	B	C	Totale
Khenchela	Baghai	23 à 83	00	20	20	20	00	20
	M'toussa	35 à 70	06	16	22	14	08	22
	Manchar	35 à 58	00	20	20	20	00	20
	Checher	55 à 70	02	02	04	03	01	04
	Kais	48 à 63	09	02	11	06	05	11
	Khenchela	21 à 83	23	00	23	13	10	23
<b>Totale</b>								<b>100</b>

A : Les personnes qui connaissent le *Dhan*

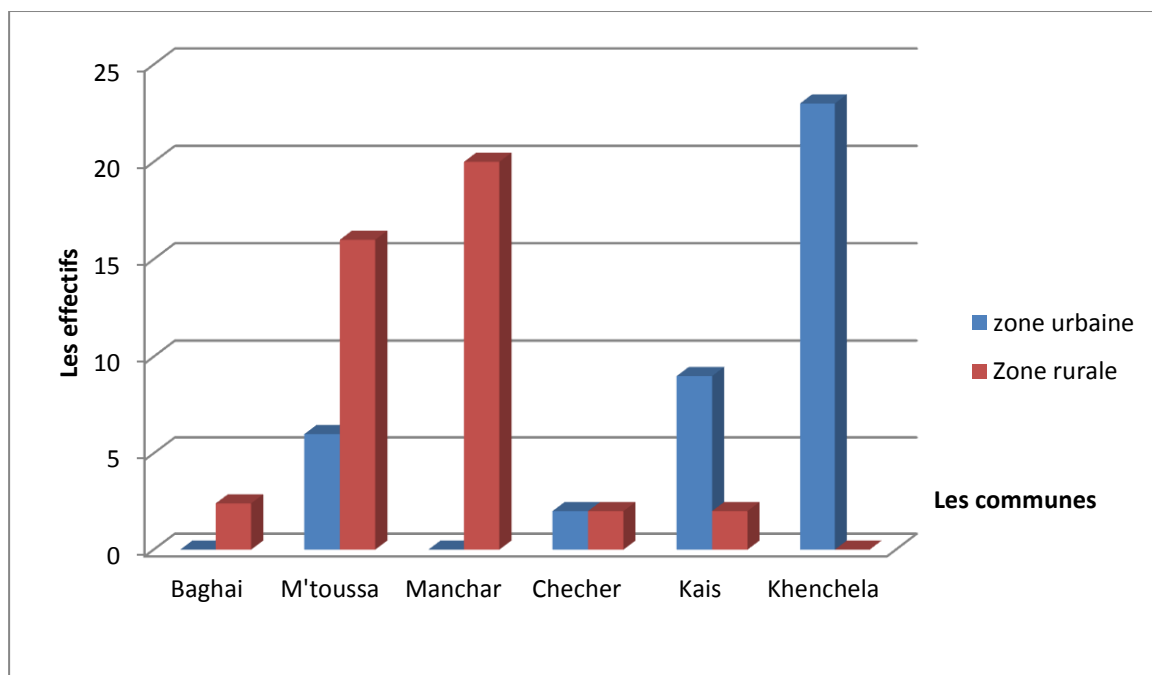
B : Les personnes qui fabriquent le *Dhan*

C : Les personnes qui achètent le *Dhan* en vente

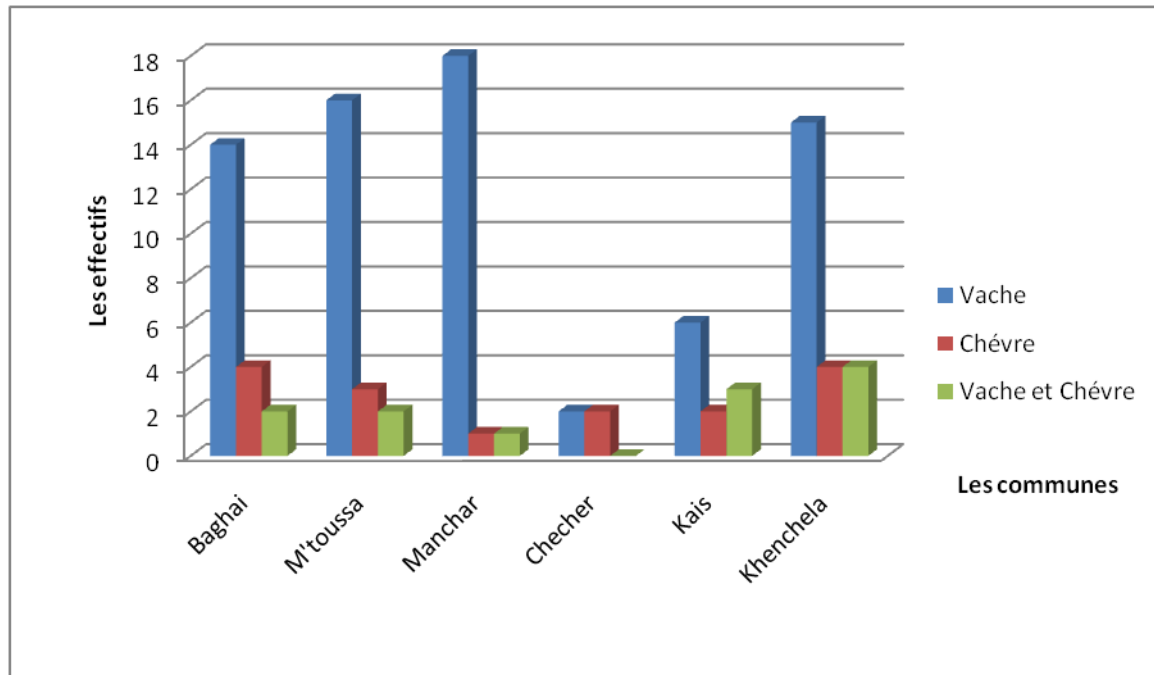


**Figure 6 :** Répartition des enquêtés, par communes, selon la connaissance ou non de la pratique de *Dhan*

D'après la figure 6, nous remarquons que la majorité (plus de la moitié) des participants fabrique le *Dhan* à la maison, les autres achètent le produit. La fabrication du *Dhan* se concentre dans la région des *Chaouias*. Cette pratique traditionnelle est transmise de génération en génération. La fabrication d *Dhan* est très répandue dans les communes de Baghay, Manchar et M'toussa.

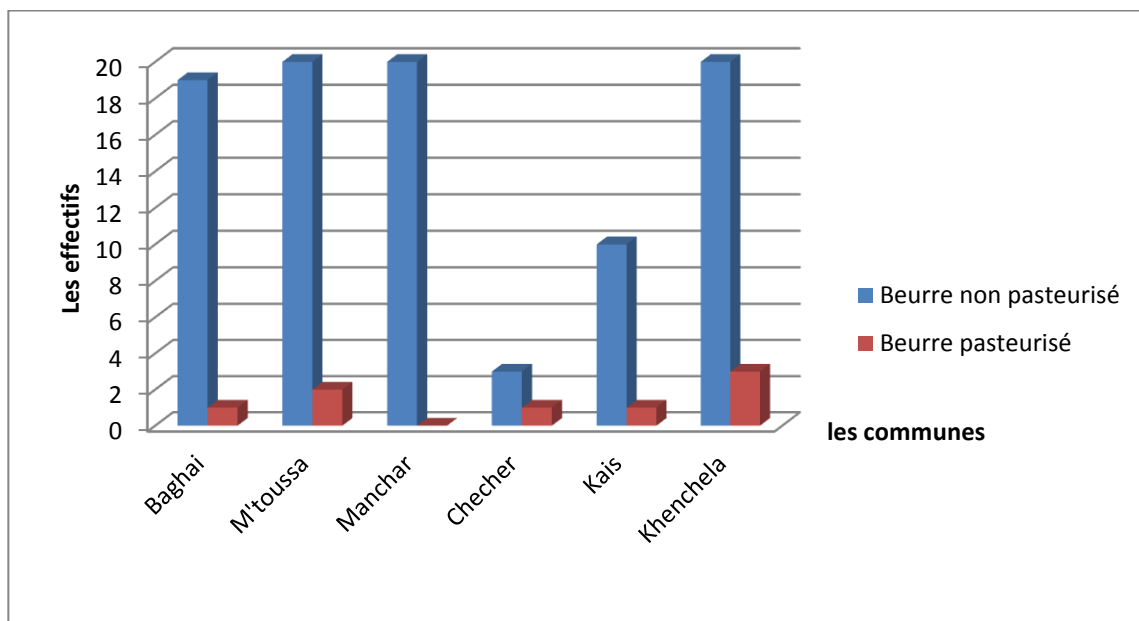


**Figure 7 :** Répartition des enquêtés par zones urbaines et rurales



**Figure 8 :** Répartition, par commune, des types des laits utilisés dans la fabrication

Nos résultats montrent que, 71% des personnes fabriquent le *Dhan* avec le lait de vache, 16% le lait de chèvre et 13 % peuvent mélanger les deux types de lait. En se rapportant aux déclarations des familles, le lait de vache est de plus en plus utilisé, vue sa disponibilité. Le lait de vache est surtout utilisé en zones rurale. Toutes les informations sur le type de lait utilisé, par les enquêtées des différentes communes, montrent qu'il dépend du type de l'élevage pratiqué par les familles.



**Figure 9 :** Répartition des enquêtes selon l'origine de la matière première

Selon la figure N°8, 92% des personnes, soit la majorité, préfèrent le beurre non pasteurisé au beurre pasteurisé dans la fabrication de *Dhan*.

### 1.1 Description du procédé

Les résultats de l'enquête, nous ont permis d'établir le diagramme de fabrication le plus répondu parmi les populations questionnées. Chez toutes les familles qui connaissent et fabriquent le *Dhan*, la fabrication du beurre commence par la préparation de la matière première. Tout d'abord, le lait est laissé à température ambiante 24 à 72 h jusqu'à ce qu'il s'acidifie. Une agitation manuelle de 45 min est utilisée dans une peau de chèvre jusqu'à la séparation de la crème du lait écrémé. Elle est obtenue par barattage de la crème du lait. Le beurre est fabriqué à partir de la crème (le barattage) par le biais de la *Chakoua*. À la fin du barattage une quantité limitée d'eau chaude ou froide est ajoutée pour ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (figure 10).

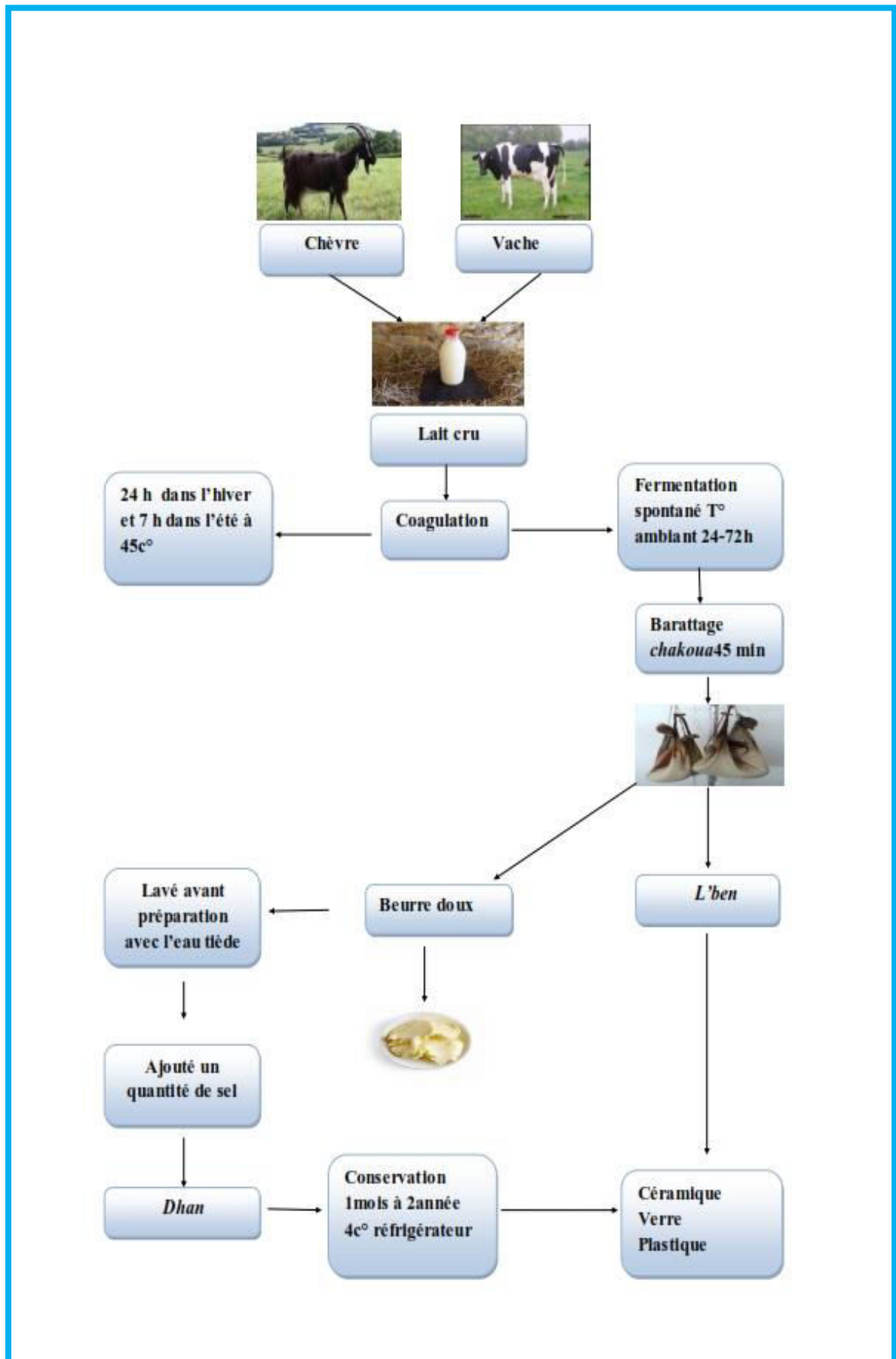


Figure 10: Diagramme de la fabrication de Dhan

## 2. Dénombrement des différentes flores

Les dénombrements, des FTAM sur milieu PCA, de la flore lactique sur milieu M17 et MRS, et des levures sur milieu Sabouraud sont présentés dans le tableau 5 :

**Tableau 5:** Dénombrements exprimés en UFC/g

Echantillons	Milieux			
	MRS	M17	PCA	Sabouraud
<b>E1</b> (pH 5,272±0.005)	2.09x10 <sup>6</sup>	2.97x 10 <sup>6</sup>	1.89x10 <sup>6</sup>	8.5x10 <sup>5</sup>
<b>E2</b> (pH 5,485±0.044)	5.8x 10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>5</sup>	3.1x10 <sup>5</sup>	9x10 <sup>4</sup>

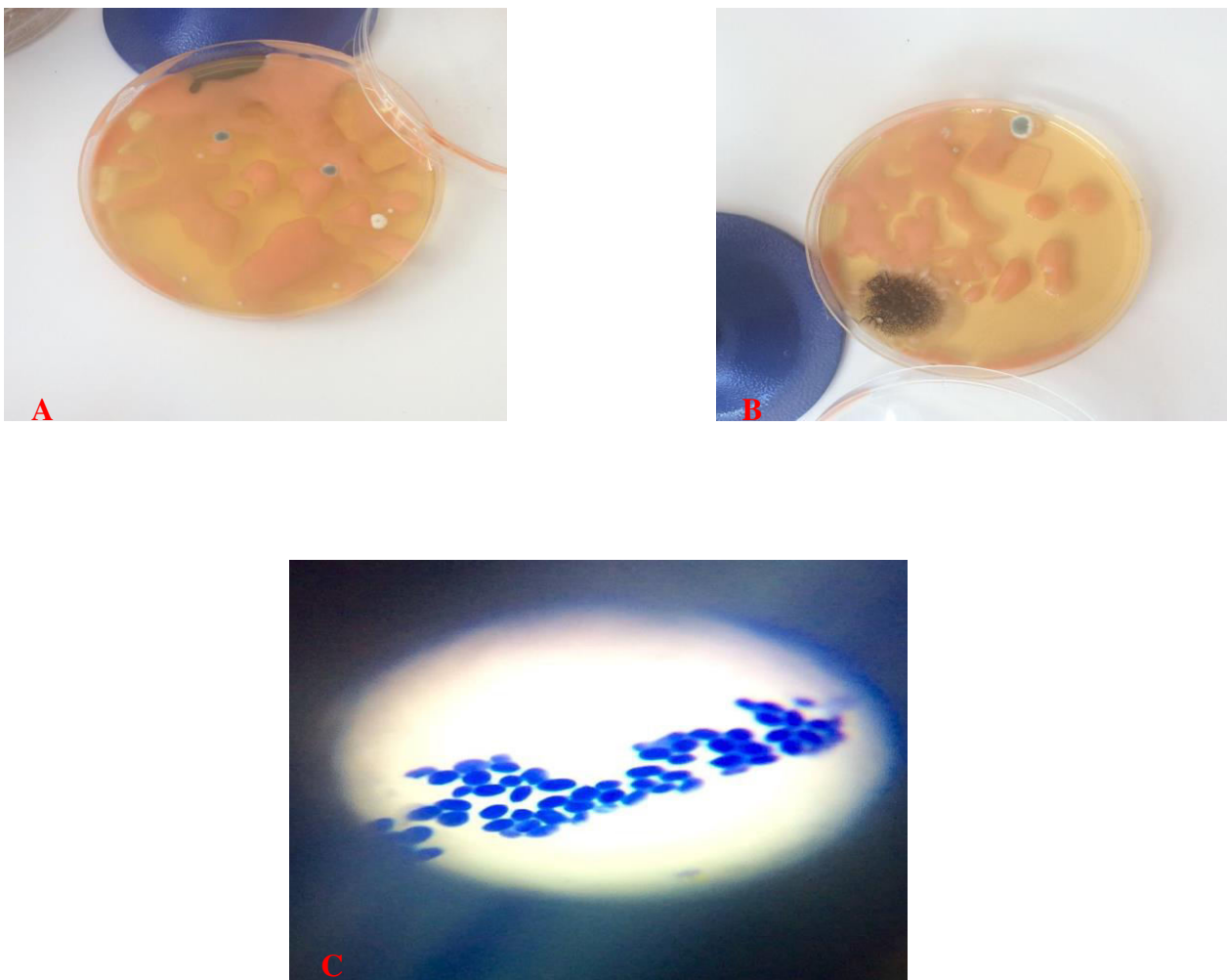
Les résultats de mesure du pH montrent que le *Dhan* possède un pH moyen de 5,378 ± 0,150. Certaines normes françaises imposent généralement un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 pour le lait fermenté (**Luquet et Corrieu., 1998**). Selon les travaux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** le pH de *Dhan* wilaya de Laghouat à une valeur de 4,71. La différence des valeurs du pH de *Dhan* par rapport aux autres produits est probablement due à la méthode de préparation, au type de lait, à la date de préparation ou au type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri., 2009**).

Le dénombrement de la FTAM montre que le *Dhan* de nos échantillons possède une charge microbienne moyenne de 2.2x10<sup>6</sup>UFC/g, Cette valeur est relativement inférieure aux résultats mentionnés par **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** où le *Dhan* de la wilaya de Laghouat possède une FTAM de 4x10<sup>7</sup> UFC/g. Par ailleurs, la FTAM de nos échantillons, témoignent d'une bonne qualité marchande avec un indice de qualité marchande inférieur 10<sup>8</sup> UFC/g (**Bonnefoy et al.,2002**).

Dans la présente étude, les échantillons de *Dhan* possèdent une charge moyenne de bactéries lactiques égale à 2.67x10<sup>6</sup>UFC/g sur le milieu MRS et de 3.17x10<sup>6</sup> UFC/g sur milieu M17. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs, qui ont montré que l'écosystème de ce type de beurre traditionnel ou de produits similaires, est dominé par la flore lactique indigène. **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** ont trouvés que la *Zebda* de la

région d'Adrar à une charge bactérienne de  $5 \times 10^4$  et de  $2.4 \times 10^5$  UFC/g sur les milieux MRS et M17 respectivement.

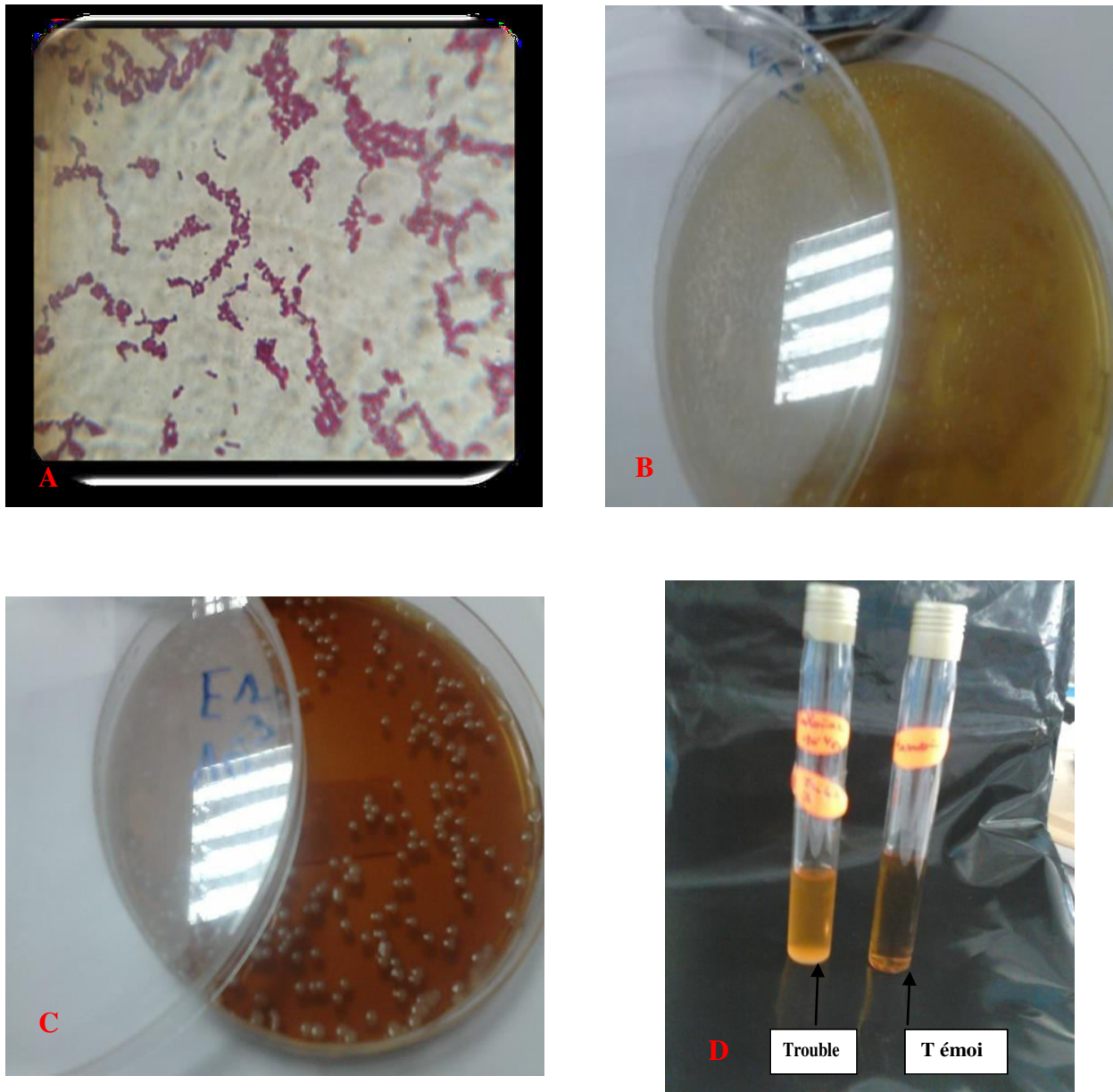
Le dénombrement des levures sur milieu Sabouraud montre que les deux échantillons de Dhan possèdent une charge moyenne de  $9.4 \times 10^5$  UFC/g. Les levures présentes dans cet écosystème peuvent appartenir soit au microbiote fermentaire ou à la flore d'altération, à l'instar de l'espèce *Rhodotorula mucilaginosa*.



**Figure 11:** Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des levures sur milieu Sabouraud : (A) ; Echantillon 1, (B) ; Echantillon 2. (C) ; observation microscopique Gr x 40

### 3. L'identification macroscopique et microscopique des isolats lactiques

Les tests macroscopiques et microscopiques de la flore lactique isolée à partir des échantillons de *Dhan* nous ont permis de sélectionner 14 isolats, présentant des caractères similaires aux bactéries lactiques (Gram+, catalase-) (figure 12 et tableau 6).



**Figure 12:** Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats. (A) : coques à Gram + Gr x 100, (B) : aspect et couleur des colonies sur M17, (C) : aspect et couleur des colonies sur MRS agar, (D) : aspect des cultures bouillon MRS.

**Tableau 6 :** Les Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 14 isolats sélectionnés

Isolats	Caractéristiques macroscopiques		Caractéristiques microscopiques		
	Aspect et couleur de la colonie	Aspect de la culture en bouillon	Gram	Forme Des Cellules	Catalase
<b>BL1</b>	Crémeuse, plate	Petit culot + trouble Claire	+	Coque	-
<b>BL2</b>	Blanche, bombée	Culot moyen+ trouble intense	+	Coque	-
<b>BL3</b>	Crémeuse, blanche	Culot moyen+ trouble intense	+	Bacille	-
<b>BL4</b>	Crémeuse, blanche	Culot moyen+ trouble léger	+	Coque	-
<b>BL5</b>	Petite, transparente	Culot moyen+ trouble léger	+	Coque	-
<b>BL6</b>	Plate, blanche	Petit culot + trouble Claire	+	Coque	-
<b>BL7</b>	Blanche, bombée	Petit culot + trouble léger	+	Coque	-
<b>BL8</b>	Petite, blanche	Culot moyen + trouble intense	+	Coque	-
<b>BL9</b>	Petite, blanche	Petit culot + trouble léger	+	Bacille	-
<b>BL10</b>	Crémeuse, plate	Petit culot + trouble Claire	+	Coque	-
<b>BL11</b>	Blanche, bombée	Culot moyen+ trouble intense	+	Coccobacilles	-
<b>BL12</b>	Petite, transparente	Culot moyen+ trouble intense	+	Coque	-
<b>BL13</b>	Blanche, bombée	Culot moyen + trouble léger	+	Bacille	-
<b>BL14</b>	Crémeuse, plate	Petit Culot + trouble Claire	+	Coque	-

**+ : Teste positive ; - : Teste négative**

#### 4. Identification partielle des bactéries lactiques

10 isolats sur les 14 présélectionnés sont retenus pour l'identification partielle. Les résultats de la caractérisation biochimique sont mentionnés dans le tableau 7.

**Tableau 7:** Tests biochimiques de l'identification partielle des 10 isolats sélectionnés

Isolat	Co2		NaCl		PH		Température	
			18%	6.5%	4,4	9,6	10° C	45°C
<b>BL1</b>	-	-	+	+	+	+	+	+
<b>BL2</b>	-	-	-	-	-	+	-	+
<b>BL3</b>	-	-	-	-	-	-	-	+
<b>BL4</b>	+	-	+	+	-	-	-	+
<b>BL5</b>	-	-	+	+	+	+	+	+
<b>BL6</b>	+	-	+	+	+	+	+	-
<b>BL7</b>	-	-	-	-	-	-	-	+
<b>BL8</b>	+	-	+	+	-	-	+	-
<b>BL9</b>	-	-	-	-	-	-	-	+
<b>BL10</b>	-	+	-	-	+	+	-	+

**+ Croissance ; - pas de croissance**

En se basant sur les différentes caractéristiques des bactéries lactiques mentionnées par **Axelsson (2005)**, les résultats des tests de l'identification partielle de la flore lactique du *Dhan* traditionnel, nous avons permis de répartir les 10 isolats lactiques qui peuvent être apparentés probablement à 6 genres : *Lactococcus sp*, *Leuconostoc sp*, et *Lactobacillus sp*, *Enterococcus sp*, *Streptococcus sp* et *Pediococcus sp* (tableau 8).

**Tableau 8:** Résultats de l'identification partielle des 10 isolats

<i>Lactobacillus.</i> <i>sp</i>	<i>Enteroco</i> <i>ccus. sp</i>	<i>Lactococcus</i> <i>. sp</i>	<i>Leuconostoc .sp</i>	<i>Streptococcus</i> <i>.sp</i>	<i>Pediococcus.</i> <i>Sp</i>
<b>BL3</b>	<b>BL1</b>	<b>BL9</b>	<b>BL4</b>	<b>BL2</b>	<b>BL10</b>
<b>BL7</b>	<b>BL5</b>		<b>BL6</b> <b>BL8</b>		

Les tests de caractérisations préliminaires ont démontré que, tous ces isolats à Gram positif et catalase négative se répartissent comme suit : 8 coques, 2 bacilles, avec différents modes d'associations. Ces résultats sont en accord avec des études sur la flore lactique de *Dhan*, où les coques sont décrits comme étant les plus dominants dans ce type de beurre traditionnel. Notre identification présomptive des genres des 10 isolats concorde également avec les genres lactiques décrits dans des produits laitiers fermentés où les genres de *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* sont fréquemment isolés, en association ou non, à partir de ces beurres traditionnels (Aissaoui *et al.* , 2011, 2012, 2014 ; Bouadjaib ,2013 ; Abid , 2015) .

### 5. L'activité antifongique

L'ensemble des résultats de l'activité antifongique est résumé dans le tableau 10 et la figure 14. Dans la présente étude, 2 isolats sur un total de 10 isolats de BL testées (1-4) ont montré une activité antifongique. Cependant les autres isolats ont une faible activité antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2.* et *Altarnaria sp.* Yousef, *et al.*,(2007) et Belal *et al.*,(2011), ont rapportés des résultats similaires aux notre. Ils ont trouvé que des isolats du genre *Leuconostoc sp* possédaient une activité contre *Aspergillus sp3* et *Altarnaria sp.* Les BL exercent un antagonisme par la production de substances antifongiques, largement démontrée dans de nombreux travaux de recherche (Mandal *et al.* , 2013; Crowley *et al.*, 2013).

**Tableau9:** Résultat de l'activité antifongique

Isolats	Identification	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus sp2</i>	<i>Aspergillus sp3</i>	<i>Altarnaria sp</i>
BL1	<i>Enterococcus sp</i>	-	-	++	-
BL2	<i>Streptococcus sp</i>	-	-	-	-
BL3	<i>Lactobacillus sp</i>	-	-	-	-
BL4	<i>Leuconostoc sp</i>	-	-	+	++
BL5	<i>Enterococcus sp</i>	-	-	-	-
BL6	<i>Leuconostoc sp</i>	-	-	-	-
BL7	<i>Lactobacillus sp</i>	-	-	-	-
BL8	<i>Leuconostoc sp</i>	-	-	-	-
BL9	<i>Lactococcus sp</i>	-	-	-	-
BL10	<i>Pediococcus sp</i>	-	-	-	-

- Pas d'inhibition, + inhibition partiel, ++inhibition totale

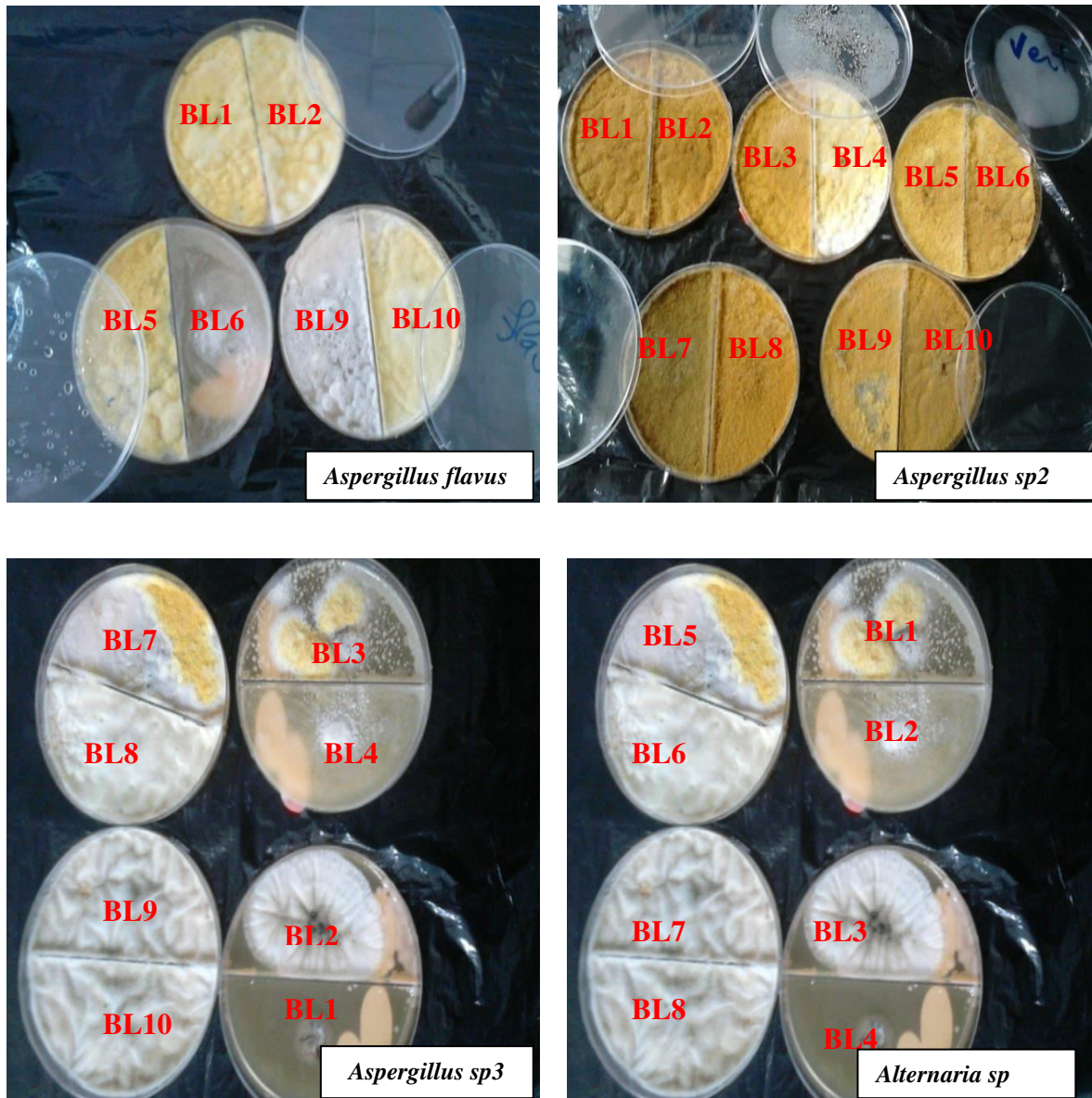


Figure 13 : Antagonisme vis à vis d'*Aspergillus flavus*, d'*Aspergillus. sp2*, d'*Aspergillus .sp3* et d'*Alternaria. sp*

*Conclusion et  
perspective*

**Conclusion**

L'objectif principal de notre travail est de caractériser le microbiote d'échantillons de beurre traditionnels *Dhan* produit localement. Nous avons effectué une enquête sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles de *Dhan* algérien. La majorité des questionnés, fabriquent le *Dhan* à la maison les autres achètent le produit. La fabrication du *Dhan* se concentre dans la région des *Chaouias*. Cette pratique traditionnelle est transmise de génération en génération. La fabrication de *Dhan* est très répandue dans les communes de Baghay, Manchar, et M'toussa. Nos résultats montrent que, 71% des personnes fabriquent le *Dhan* en utilisant lait de vache, 16% le lait de chèvre et 13 % peuvent mélanger les deux types de lait à la fabrication. En se rapportant aux déclarations des familles, le lait de vache est de plus en plus utilisé, vue sa disponibilité.

Le dénombrement de la FTAM montre que le *Dhan* de nos échantillons possède une charge microbienne moyenne de  $2.2 \times 10^6$  UFC/g, Cette valeur de FTAM témoigne d'une bonne qualité marchande avec un indice de qualité marchande inférieur  $10^8$  UFC/g. D'autre part, les échantillons de *Dhan* possèdent une charge moyenne de bactéries lactiques égale à  $2.67 \times 10^6$  UFC/g sur le milieu MRS et de  $3.17 \times 10^6$  UFC/g sur milieu M17. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs, qui ont montré que l'écosystème de ce type de beurre traditionnel ou de produits similaires, est dominé par la flore lactique indigène. Le dénombrement des levures sur milieu Sabouraud montre que les deux échantillons de *Dhan* possèdent une charge moyenne de  $9.4 \times 10^5$  UFC/g. Les levures présentes dans cet écosystème peuvent appartenir soit au microbiote fermentaire ou à la flore d'altération, à l'instar de l'espèce *Rhodotorula mucilaginosa*.

La microflore dominante de *Dhan*, est formée essentiellement de BL. Les tests macroscopiques et microscopiques de la flore lactique du *Dhan* nous ont permis de sélectionner 14 isolats, présentant des caractères similaires aux bactéries lactiques (Gram positif, catalase négative). 10 isolats sur les 14 présélectionnés sont retenus pour l'identification et la caractérisation partielle en utilisant différents test phénotypiques et biochimiques. En comparant avec les résultats des tests de l'identification partielle de la flore lactique du *Dhan* les 10 isolats lactiques sont assignés aux genres : *Lactococcus*, *Leuconostoc*, et *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus*. Dans la présente étude 2 isolats sur un total de 10 isolats de BL testées (BL1-BL4) ont montré une activité antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2* et *Altarnaria sp*.

En termes de perspectives, ce travail mériterait d'être complété par plus de recherches sur le microbiote du *Dhan* fabriqué avec d'autres types de lait (chèvre, brebis ou le mélange). Il serait également intéressant d'étudier les propriétés technologiques des BL isolées afin de sélectionner les meilleurs starters.

*Références  
bibliographiques*

### A

ABDELAZIZ S., AIT KACI F.1992. Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "J'ben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67

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'inocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires p 118 à 124.

AXELSSON L. 2004. Lactic acid bacteria: classification and physiology In: Lactic acid bacteria .Microbiological and functional aspects (Eds: Salminen S, von Wright A, and Ouwehand AC) Third Edition Marcel Dekker Inc New York, pp: 1-66.

AXELSSON L. 2004. Lactic acid bacteria; microbiological and functional aspect. 3rd Rev.And Exp. New York: Marcel Dekker, p. 1-66.

### B

BADIS, A., GUETARNI, D., MOUSSA-BOUDJEMAA, B., HENNI, D.E., TORNADIJO, M.E., KIHAL, M. 2004. Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, 21: 343–349.

BADIS, A., GUETARNI D., MOUSSA-BOUDJEMA B., HENNI D.E., TORNADIJO M.E. et KIHAL M. 2004. Identification of cultivable of lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiol.* 3: 72-78.

BADIS A., GUETARNI D., MOUSSA B.B., HENNI D.E., KIHAL M. 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol*, vol. 21, p.579–588.

BADIS A., LAOUABDIA-SELLAMI N., GUETARNI D., KIHAL M. et OUZROUT R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées a partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales “Arabia et Kabyle”. *Sci et Technol*. 23: 30-37.

BEKHOUCHE, F., BOULAHROUF, A. 2005. Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologies C – N°23*, 38-45.

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

BENDANOU. 1981. L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-Algérien. Communication faite à l'Office Colonial de l'Algérie, 570-580.

BENELKADI K. 2005. Industrie du lait en Algérie, Magazine Magvet, Spécial n°50 Avril - Mai, PP21.

BENKERROUM N., TAMIME, A.Y. 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (*L'ben, J'ben, Smen*) to small industrial scale. *Food Microbiol*. 21: 399–314.

BONESTROO, M. H., DEWIT, J. C., KUSTERS, B. J. M., ROMBOUTS, F. M. 1993 Inhibition of the growth of yeasts in fermented salads. *International Journal of Food Microbiology*, 17, 311–320.

BONNEFOY C, GUILLET F, LEYRAL G, VERNE-BOURDAIS E 2002 Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Doin, Rueil-Malmaison; Bordeaux

BULLERMAN, L. B. 1977 Incidence and control of mycotoxin producing molds in domestic and imported cheeses. *Annales de la nutrition et de l'alimentation*, 31, 435–446.

### C

CARR F.J., CHILI D., MAIDA N., 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol*, vol. 28, n°4, p. 281-370.

CARR F.J., CHILI D. ET MAIDA N. 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literatur Survey. *Crit. Rev. Microbiol*, 28: 4, 281-370.

CASABURI, A., DI MONACO, R., CAVELLA, S., TOLDRA, F., ERCOLINI, D., VILLANI, F. 2007. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food microbiology*, 25: 335-347.

CELINE LE LAY, JEROME MOUNIER, VALÉRIE VASSEUR, AMÉLIE WEILL, GWENAE LE BLAY, GEORGES BARBIER, EMMANUEL COTON. 2016. In vitro and in situ screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds *Food Control* 60 247-255

CHAHBAL M. 1991. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* sp. isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 1901-1906.

CHAHBAL M. 1993. Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1061- 1067.

CHAMPAGNE et AL., 1992. IN BOUDJANI, W. 2009. Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.

CHERIGUENE A., CHOUGRANI F., BEKADA A., EL SODA M., BENSOLTANE A., 2007. Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goat's milk. In African Journal of Biotechnology Vol. 6 (15), PP. 1854-1861.

CLAPS, S., MORONE, G. 2011. Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, CorFilac: 57-77.

COGAN, T. M. 1996. History and taxonomy of starter cultures. In T. M. Cogan and J.-P. Accolas (ed.), Dairy starter cultures. VCH Publishers, Inc., New York, N.Y. Cogan

### D

DELLAGLIO, F., DE ROISSART, H., TORRIANI, S., CURK, M. C. and JANSSENS, D. 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In Bactéries Lactiques, pp. 25-116. Edited by H. de Roissart & F. M. Luquet. Paris: Lavoisier.

DE ROISSART, H. et LUQUET, F.M., 1994. Bactéries lactiques. Volume I, Uriage. Loriga, 605 p.

DE ROISSART, H. et LUQUET, F.M., 1994. Bactéries lactiques. Volume II, Uriage. Loriga, 615 p.

DESMAZEAUD, MJ., ROISSART, H. 1994. Métabolisme général des bactéries lactiques. En: de Roissart, H. Luquet, F.M. (Ed.), Bactéries Lactiques, vol. 1. Loriga, Uriage, pp. 169-207

DORTU, C, THONART, P. 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Bioéthanol. Agron. Société Environ.* 13:349-356.

DORTU C, ET THONART P .2009 . Les bactériocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêt pour la bio conservation des produits alimentaires, *Biotechnologie. Agronomie. Société. Environnement*, vol 13:143-154.

DRIDER J., PREVOST H. 2009. Bactéries lactiques. *Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*. Ed. Economica., Paris. P 99 - 120.

DELARRAS, C. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits.*

### E

EL-BARADEI, G., DELACROIX-BUCHET, A. AND OGIER, J.C. 2008 Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.* 121: 295–301.

### F

FAO., 2002. *Le lait dans la nutrition humaine*. Département économique et sociale

FILTENBORG, O., FRISVAD, J. C., THRANE, U. 1996 Moulds in food spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 85–102.

### G

GAST, M. 1969. Beurre. *Encyclopédie berbère*, (10): 1482-1486.

GEORGIEVA R, DANOVA S., HIEV I., HAERTLE T., CHOBERT J. M. AND IVANOVA S. 2009. technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strain. *Int. Dairy J-* 19 pp: 696 702.

GILAROVÁ R., VOLDRICH M., DEMNEROVÁ K., CEROVSKÝ M. and DOBIÁS J., 1994. Cellular fatty acids analysis in the identification of lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 24(12): 315–319.

GILLILAND, S. E., 1985. Role of starter culture bacteria in food preservation. Bacterial starter cultures for food. Gilliland S. E. Boca Raton, USA, CRC Press Inc.:175 185.

GOULD, G. W. 1996 Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal Food Microbiology*. 33, 51–64.

GOULD, I.M. 2000. A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 43, 459–465.

GUIRAUD J.P. 2003. Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p. 387-433.

### H

HALLAL A., 2001. Fromages traditionnel Algérien. Quel avenir ? *Revue agroligne* n°14, Avril-Mai.

HAMMES W. P. AND HERTEL C. 2006. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., and Stackebrandt, E. (Eds). *The prokaryotes, Vol. (4)*. Springer Science and Business Media. New York, USA. Pp 320- 403.

HENG N. C. K., WESCOMBE P. A., BURTON J. P., JACK R. W., AND TAGG J. R. 2007. The Diversity of Bacteriocins in Gram-Positive Bacteria. In: Riley, M. A., and Chavan, M.A. (Eds). *Bacteriocins: Ecology and Evolution*. Springer Verlag. Berlin Germany. pp45- 92.

HOLZAPFEL W.H., GERBER E.S. 1983. *Lactobacillus* heterofermentative species producing (+) lactate. *Syst. Appl. Microbiol*, vol. 4, p. 522-534.

HOLZAPFEL, W. H., HABERER, P., GEISEN, R., BJORKROTH, J. & SCHILLINGER, U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Is J Clin Nutr* 73, 365-373

### J

JEDIDI, H. 2007. Effet du stress gastro-intestinal sur la physiologie et le métabolisme des bactéries lactiques et probiotiques. Mémoire de Maître Es-Sciences, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Université Laval Québec. 90 pages

JEFCA, (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) 2001 Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food, WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, WHO, Geneva, Switzerland, p. 366.

JOFFIN J.N. ET LEYRAL G. 1996. Microbiologie technique. Centre Régional de documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux, France, pp. 219-223.

JOZALA AF, DE LENCASTRENOVAES LC , CHOLEWA O, MORAES D, ET PENNA TVC .2005.Increase of nisin production by *Lactococcuslactis* in different media .*Afr J Biothecnology*, 4:3:262-265.

### K

KLAENAMMER, T. R. 1993. Genetics of Bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Review* 12: 39-86.

KLAENHAMMER, T. R. 1993. Genetics of Bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Femsn microbiol. Rev.* 12(1-3), 39-85.

### L

LAHSAOUI, S., 2009. Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien

LAMOULIATTE, H., MÉGRAND, F., ET CAYLA, R. 1992 *Helicobacter pylori* et pathologie

gastroduodénale. Encyclopédie Médico-chirurgicale. Editions techniques. EMC.

LEVEAU, J-Y. and BOUIX, M. 1993. Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel. Tec et Doc Lavoisier, Paris, FRANCE

LEVEAU J.Y. ET BOUIX M., 1993. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 85-87.

LEVEAU, J.Y. et BOUIX, M. 1993. Les levures. Dans : Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêt industriel. Eds. Tech. Et Doc. Lavoisier. Paris, pp : 2-39.

LEYRAL, G., VIERLING, E. 2001. Microbiologie et toxicologie des aliments .3ème édition Doin. France. P. 87-114.

LOURENT FEDERIGHI M., JOUVE J L., 1998 - Manuel de bactériologies alimentaire, polytechnica. Paris : 308p.

LUQUET. FM.1986 .Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre);T3;qualité; énergie et tables de composition, Ed technique et de cumentation paris ,442 p.

LUQUET, F.M. ET CORRIEU, G. 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages

## M

MAKHLOUFI A. 2013. Etude des activités antimicrobienne et antioxydant de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat d'état en biologie, Spécialité : Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments, l'universite de Aboubaker Belkaid.

MARTH E. H. ET STEELE, J. L. 2001. Applied dairy microbiology. Marcel Dekker, Inc., New York.

MCLEOD A., NYQUIST O. L., SNIPEN L., NATERSTAD K., and Axelsson L. 2008 .Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods. *Syst Appl Microbiol.*31: 393-403

MESLEM YASMINE, Mémoire de master, « la motivation dans l'apprentissage du FLE. Université de souk Ahras, 2011

MOON, N. J. 1983. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate, and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Bacteriology*, 55, 453–460.

MUTHUKUMARASAMY, P., HOLLEY, R.A. 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111: 164-169.

MUTO, A. and OSAWA, S. 1987. The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacterial evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 84, 166-169.

### N

NIELSEN, P. V., DE BOER, E. 2000. Food preservatives against fungi. In R. A. Samson, E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad, & O. Filtenborg (Eds.), *Introduction to food- and airborne fungi* (pp.357–363). Utrecht: Centraal Bureau voor Schimmelcultures.

NILSEN, T., NES, I.F., HOLO, H. 2003 Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG2333. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(5), 2975-2984.

GALVEZ A., ABRIOUEL H., LOPEZ R. L., BENOMAR N. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 120: 51-7.

### O

OBERMAN, H. and LIBUDZISZ, Z. 1998. Fermented milks, In: B.J.B. Wood (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, second ed., vol. 1, Blackie Academic & Professional, pp. 308–350.

OUADGHIRI, M. 2009. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « *L'ben* » et « *J'ben* » d'origine marocaine. Thèse de doctorat. Université Mohammed v -agdal faculté des sciences rabat. 26-28

OWUSU-KWARTENG, J., AKABANDA, F., NIELSEN, D.S., TANO-DEBRAH, K., GLOVER, R.L. AND JESPERSEN, L. 2012. Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiology*, 32, 72–78.

### P

PAUL ROSS, R., MORGAN, S. AND HILL, C. 2002. Preservation and Fermentation: present and future. *Int. J. Food. Microbiol.*, 79: 3 – 16.

PFEILER, E.A. AND KLAENHAMMER, T.R. 2007. The genomics of lactic acid bacteria, *Trends Microbiol.* 12: 546-553.

PIARD. J.C et DESMAZEAUD. M, 1991, 1992: Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria: 1,2 oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait*, 71; 525-541.

POULLAIN F. 1994. Evolution de la préparation commerciale des ferments lactiques in : les bactéries lactiques, T1, Aspects fondamentaux et technologies. Ed, Lorica, Lavoisier. p 604.

### R

RANDAZZO, C.L., CAGGIA, C. AND NEVIANI, C.L.E. 2009. Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78: 1–9

### S

SAKAMOTO, M., TANO, Y., UCHIMURA, T. KOMAGATA, K. 1998 .Aerobic growth of some lactic acid bacteria enabled by the external addition of peroxidase (horseradish) to the culture medium. *J Fermentation and Bioengineering* 85(6), 627-629.

SAKILI D; ISSOUAL D.2003. Lactic acid bacteria in processing maroccan *Smen*. Copyright Academic d'agriculture de France. Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia, Maroc

SHERMAN J.M. 1937. The Streptococci. *Bacteriol Rev*, vol. 1, p. 3-97.

SINGLETON, P. 1999. *Bactériologie*. 4eme Edition. Dunod, Paris. 317 pages

STANLEY, G. 1998. Cheeses, In: B.J.B. Wood (Ed.). *Microbiology of Fermented Foods*, second ed., vol. 1, Blackie Academic & Professional. pp. 263–307.

STRUS, M., GOSIEWSKI, T., KOCHAN, P., HECZKO, P.B. 2006. The in vitro effect of hydrogen peroxide on vaginal microbial communities. *FEMS Immuno. MedicalMicrobiol.* 48, 56-63.

SUTRAT L. ET FEDERIGHI M .1998. *Manuel de bactériologie alimentaire*. POLYTECHNICA (ed).

### T

TAILLIEZ P 2001. Mini-revue : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait* 81: 1-11.

TAMIME, A. Y. AND MARSHALL, V.M.E. 1997. Microbiology and technology of fermented milks, In: B.A. Law (Ed.). Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Blackie Academic and Professional, pp. 57–152

TAMIME A.Y., 1990 .Microbiology of starter cultures. InRobinson R. K. (Ed) Dairy Microbiology, vol .2.Elsvier, London .pp. 131-201.

TAGG ET AL. 1976. IN BOUDJANI, W. 2009. Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.

TOUATI K., 1990. Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la *klila*". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83p.

### V

VILAIN, A.C .2010.Qu'est-ce que le lait ? , *Revue française d'allergologie*, 50 124– 127.

### Z

ZALAN, Z., BARATH, A., HALASZ, A. 2005.Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of Lactobacillus strains. Food Technol. Biotech. 43(3), 219-225.

# *Résumés*

**Résumé**

L'Algérie se caractérise, comme le reste du monde, par des produits alimentaires de terroir très variés. Le lait est habituellement transformé en produits laitiers, par des méthodes traditionnelles, en *L'ben*, beurre cru (*Zebda* ou *Dhan*), fromage traditionnel *Klila*, *Bouhezza* et autres. Ce travail nous a permis d'étudier la qualité microbiologique de deux échantillons de *Dhan* préparés à partir de lait cru de vache au niveau de la wilaya de Khenchela. Nous avons effectué une enquête sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles de *Dhan* algérien (beurre fermenté). Des dénombrements de la flore mésophile totale, de la flore lactique et des levures ont été effectués. L'identification préliminaire, de 10 isolats lactiques sélectionnés, basée sur l'étude macroscopique, microscopique ainsi que les tests biochimiques a révélé que les isolats appartiennent aux genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus*. L'étude de l'activité antifongique des 10 isolats sélectionnés, contre les souches fongiques ; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2*, *Aspergillus sp3* et *Altarnaria sp* a montré que 2 isolats exercent un antagonisme contre les champignons testés. La présente étude, nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbiologique de ce produit laitier traditionnel. Les résultats obtenus montrent que nos produits laitiers traditionnels constituent une source intéressante de flore fermentaire qui mérite d'être valoriser et à exploiter.

**Mots clés :** *Dhan*, Bactéries lactique, antagonisme, levure.

**Abstract****Contribution to the characterization of the lactic flora of traditional Dhan butter**

Algeria, like the rest of the world, is characterized by a variety of local food products. Milk is usually processed into dairy products, by traditional methods, in *L'ben*, raw butter (*Zebda* or *Dhan*), *Klila*, *Bouhezza* and others. This work has allowed us to study the microbiological quality of two samples of *Dhan* that was prepared from raw cow milk in Khenchela's Wilaya. We have conducted a survey on the traditional methods of making and preserving Algerian *Dhan* (Fermented butter). Counting of the total mesophilic flora, lactic flora and yeasts that they were carried out. Preliminary identification of 10 selected lactic isolates based on macroscopic, microscopic and biochemical tests revealed that the isolates belong to the *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* and *Pediococcus* genera. The study of the antifungal activity of the 10 selected isolates against the fungal strains; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2*, *Aspergillus sp3* and *Altarnaria sp* has showed that 2 isolates exert an antagonism against the tested fungi. This study has given us an idea of the composition of the microbiological flora of this traditional dairy product. The results have show that our traditional dairy products are an interesting source of fermented flora that deserves to be valued and to be exploited.

**Key words:** *Dhan*, Lactic acid bacteria, Antagonism, Yeast.

## المساهمة في توصيف البكتيرية اللبنية من الزبدة التقليدية دهان

تتميز الجزائر كبقية دول العالم بمنتجاتها الغذائية الأصلية والمتنوعة جدا. الحليب عادة ما يتم تحويله بطرق تقليدية الى منتجات لبنية: البن، الزبدة ( الدهان )، الكليلة، بوهزة... الخ. وقد سمح لنا هذا العمل بدراسة الجودة الميكروبيولوجية لعينتين من الدهان محضرة من الحليب الخام على مستوى ولاية خنشلة. قمنا بعمل تحقيق حول الطرق التقليدية للتصنيع وحفظ الدهان الجزائري (زبدة المخمرة). التحديد المستعمل سمح لنا بالحصول على فكرة حول تكوين الكائنات الجرثومية في بكتريا حمض اللاكتيك من منتجات الألبان أيضا التقليدية. بناء على الفحص الإجمالي، كشفت الاختبارات المجهرية والكيمياء الحيوية أن الأنواع التالية: السلالات ربما تتعلق ب: *Enterococcus, Streptococcus et Lactococcus Leuconostoc Lactobacillus*. *Pediococcus* نشاط مضاد للفطريات ل 10 عزلات ضد السلالات الفطرية، *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2, Aspergillus sp3* أظهرت العزلتان ممارسة الحفظ ضد الفطريات المختبرة. سمحت هذه الدراسة أن يكون لدينا فكرة عن تكوين الفلور الميكروبية من هذه الألبان التقليدية. النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تشير إلى أن منتجات الألبان التقليدية هي مصدر الاهتمام للتطوير والتشغيل.

**كلمات المفتاحية:** دهان، البكتيريا اللبنية، الحفظ، الخميرة.

# *Annexes*

**Annexe01** : Questionnaire élaborée par Bousekine Rania dans le cadre de la réalisation de sa thèse de Doctorat sur le Dhan à l'université des Frères Mentouri (Constantine). Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires.

### Questionnaire sur le procédé de fabrication de *D'han* traditionnel

**Questionnaire n°**: ..... **Date**: ..... / ..... / 2017.

**Lieu de l'enquête**: .....

Dans le cadre de ma thèse de doctorat, j'effectue une enquête sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles de *D'han* Algérien (beurre fermenté), voulez-vous collaborer à enrichir ce travail en répondant au questionnaire suivant ?

Nous demandons de bien vouloir répondre à toutes les questions suivantes ; vos réponses seront un élément essentiel à la réussite cette étude.

#### I. Identité des ménages

- Age: ..... ans
- Sexe : Féminin  Masculin
- Lieu de résidence : Wilaya..... Commune.....
- Région : Urbaine  Rurale
- Etes- vous originaire de la région ? Oui  Non
- Situation professionnelle : .....
- Situation familiale : Célibataire  Marié(e)  divorcé(e)  Veuf (ve)

**Q1** - Connaissez-vous *D'han* traditionnel ? Oui  Non

**Q2**- Fabriquez-vous ce produit actuellement ? Oui  Non

Si Non : achetez-vous le *D'han* pré à l'emploi ? Oui  Non

**Q3**- Quel est le nom de produit selon votre région ? .....

**Q4**- Utilisez-vous ce produit ? Oui  Non

Si oui, quel est le type de *D'han* ? Chèvre  Vache  brebis  camelin Autre

#### II. Matière première

##### II.1 Origine de la matière première

**Q5** - Quelle matière première utilisez-vous ?

Beurre fermier  Beurre  pasteurisé Margarine  Autre

**Q6**- Le beurre utilisé est-il préparé à la maison ? Oui  Non

- Si non, citez la source
- Si oui

Q7- Quel est le type de lait utilisé pour sa préparation ?

Cru  Pasteurisé / stérilisé  Reconstitué  Autres

Q7 -1- quelle est l'origine de ce lait ?

Vache  Brebis  Chèvre  Camelin  Mélange (Citer)

Q7-2- Le lait utilisé a-t-il subit un traitement thermique ? Oui  Non

## II.2. Préparation de la matière première

Qs - Quelles sont les conditions de la coagulation de lait ?

Temps: .....

Température: .....

Q9- Ajoutez-vous des additifs pour favoriser la coagulation ou la fermentation ?

Oui  Non

Si oui, citez-les?

Q10- Quel est l'outil utilisé pour le barattage

?.....

Q11- Quel est le temps de barattage

?.....

Q12- comment récupérez-vous le beurre

?.....

Q13- Le beurre préparé, est-il utilisé immédiatement pour la préparation de Dhan?

Oui  Non

- Si non: pour quoi?

: Citez la durée, et la température de conservation.....

## III. Préparation de *D'han*

### III.1. Traitement de beurre avant fermentation :

Q14- Est-ce que le beurre est lavé avant préparation de *D'han* ? Oui

Non

Si oui pour quoi ? .....

Q15- est ce que le beurre subit d'un traitement thermique avant la fermentation ? Oui  Non

- Si oui, citez le couple :

Temps: .....

Température: .....

- Si non, Malaxez-vous le beurre avant fermentation ? Oui

Non

- Si oui, pour quoi ? .....

Q16- Ajoutez-vous des ingrédients au beurre ?

Si oui, citez le type et la quantité, et le moment

d'ajout.....

Q17- Selon vous, pourquoi vous les ajoutez ?

Q18- Complétez le tableau suivant :

	Beurre subit un traitement thermique	Beurre subit d'un malaxage
Quantité de beurre	.....	.....
Éléments éliminés	.....	.....
-Quantité de sel -Moment d'ajout	Avant : ...../Après :	Avant : ..... /Après :
-Autres ingrédients -Moment d'ajout	Avant : ...../Après :	Avant : ..... /Après :

### III.2. Processus de fermentation

Q19- La fermentation se déroule dans un récipient en : Verre  céramique  plastique  Autre

- Pourquoi .....

Q20- Fermez-vous le récipient ? Oui  Non

Pourquoi.....

.....

Q21- Quels sont les conditions de fermentation ?

- A l'obscurité  à la lumière
- Pour quoi ?.....
- La durée : .....
- Température : .....

Q22- Quelle est la méthode utilisée pour la récupération de *D'han*?

- S'il subit d'un traitement thermique, citez la durée et la température : .....

Q23- Est ce qu'il y a des parties qui sont éliminées ? Oui  Non

- Si oui, quels sont.....
- Vous les utilisez pour autres choses ?.....

### VI. Mode de conservation de *D'han*

Q24- *D'han* se conserve dans un récipient en :

Verre  céramique  plastique  Autre

- Pourquoi .....

**Q25-** Quelles sont les conditions de conservation ?

- Température: .....
- Temps: .....
- Aération: .....
- Endroit : .....

**Q26-** Donnez une description du produit prêt à l'utilisation ?

- goût:.....
- couleur:.....
- odeur:.....

#### **V. Mode de conservation de *D'han***

**Q27-** Quelles sont les problèmes rencontrés lors de la préparation et/ou la conservation ?

**Q28-** *D'han* est consommé :

Ajouté dans les plats traditionnels  Autres

**Q29-** Le but d'utilisation de *D'han* est :

- Améliorer le goût
- Apporter plus d'arômes
- Améliorer la qualité nutritionnelle
- Autre

**Q30-** Ce produit traditionnel (*D'han*) est-il commercialisé ? Oui  Non

Si, oui par qui ? .....

Citez la source de provisionnement

**Voilà à la fin du questionnaire, nous vous remercions d'y avoir répondu.**

Nom : **LAOUAR**  
Nom : **KHENFRI**

Prénom : **KHAOULA**  
Prénom : **MERIEM**

Date de soutenance : 28/06/2017

Master Académique en Biologie Option Microbiologie

## **Contribution à la caractérisation de la flore lactique du beurre traditionnel *Dhan***

### **Résumé**

L'Algérie se caractérise, comme le reste du monde, par des produits alimentaires de terroir très variés. Le lait est habituellement transformé en produits laitiers, par des méthodes traditionnelles, en *L'ben*, beurre cru (*Zebda* ou *Dhan*), fromage traditionnel *Klila*, *Bouhezza* et autres. Ce travail nous a permis d'étudier la qualité microbiologique de deux échantillons de *Dhan* préparés à partir de lait cru de vache au niveau de la wilaya de Khenchela. Nous avons effectué une enquête sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles de *Dhan* algérien (beurre fermenté). Des dénombrements de la flore mésophile totale, de la flore lactique et des levures ont été effectués. L'identification préliminaire, de 10 isolats lactiques sélectionnés, basée sur l'étude macroscopique, microscopique ainsi que les tests biochimiques a révélé que les isolats appartiennent aux genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus*. L'étude de l'activité antifongique des 10 isolats sélectionnés, contre les souches fongiques ; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp2*, *Aspergillus sp3* et *Altarnaria sp* a montré que 2 isolats exercent un antagonisme contre les champignons testés. La présente étude, nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbiologique de ce produit laitier traditionnel. Les résultats obtenus montrent que nos produits laitiers traditionnels constituent une source intéressante de flore fermentaire qui mérite d'être valoriser et à exploiter.

**Mots clés :** *Dhan*, Bactéries lactique, antagonisme, levure.

### **DEVANT LE JURY :**

Présidente : Dr. DEROUICHE F.

MCA

Univ.Abes Laghrour-Khenchella

Promotrice: Dr. MERABTI R.

MCA

Univ.Abes Laghrour-Khenchella

Examinatrice: Mme. LEULMIN.

MAA

Univ.Abes Laghrour-Khenchella

**2016-2017**

**Annexe 02: Coloration de Gram**

- 1- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
- 2- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- 3- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes
- 4- Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée
- 5- Couvrir de lugol pendant 30 secondes
- 6- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 7- Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool - acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette
- 8- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 9- Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes
- 10- Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes
- 11- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement. Les cellules Gram(+) absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram(-) qui apparaissent distinctement rosâtres.



**Annexe 03: L'eau Peptonée**

1000 ml de l'eau physiologique stérile (0,9% de NaCl,) additionnée de peptone (0.1%,)

**Annexe 04: Eau physiologique**

NaCl .....	9 g
Eau distillée.....	1000ml

**Annexe05 : Le milieu MRS (milieu de Man, Rogosa et Sharpe)**

Peptone universel .....	10g/l
Extrait de viande.....	5g/l
Extrait de levure.....	5g/l
D(+)-Glucose.....	20g/l
Citrate d'ammonium.....	2g/l
Acétate de sodium.....	5g/l
Sulfate de magnésium.....	0.1g/l
Sulfate de manganèse.....	0.05g/l
Phosphate dipotassique d'hydrogène.....	2g/l
Agar.....	12g/l

Le pH final de ce milieu est de  $6,5 \pm 0,2$  à 37°C. L'autoclavage à 121°C pendant 15 min.

**Annexe 06 : Milieu M17**

Extrait de levure.....	2.5g/l
Extrait de viande.....	5g/l
Peptone de Caséine.....	2.5g/l
Glycérophosphate sodique.....	19g/l
Peptone de Soja.....	..5g/l
Lactose.....	5g/l
Peptone de viande.....	.....2.5g/l
Acide ascorbique.....	0.5g/l
Sulfate de magnésium.....	0.2g/l
Agar.....	12.75/l

Le pH final de ce milieu est de  $6,9 \pm 0,2$  à 25°C.

L'autoclavage à 121°C pendant 15 min.

**Annexe07 : Sabouraud**

Peptone de gélatine .....	10g
Glucose.....	20g

Agar.....	17g
L'eau distillée.....	1000 l
Le pH =5.6	

**Annexe 08 : MRS Bouillon**

Extrait de viande .....	8g/l
Extrait de levure .....	4g/l
Peptone .....	10g/l
Glucose .....	20g/l
Acétate de sodium tri hydraté .....	5g/l
Citrate d'ammonium.....	2 g/l
Tween 80 .....	1ml/l
Hydrogénophosphate de potassium .....	2,0g/l
Sulfate de magnésium heptahydraté .....	0,2 g/l
Sulfate de manganèse tétrahydraté .....	0,05 g/l
pH = 6.2	

**Annexe 09 : PCA**

Tryptone.....	6,0 g
Extrait de levure.....	2,5 g
Glucose.....	1, 0 g
Agar.....	15, 0 g
L'eau distillée .....	1L
pH = 7	

**Annexe 10: milieu PDA**

Pomme de terre.....	100 g
Agar .....	10 g
Glucose.....	10 g
Eau distillé.....	500 l

**Annexe 11: milieu WFH**

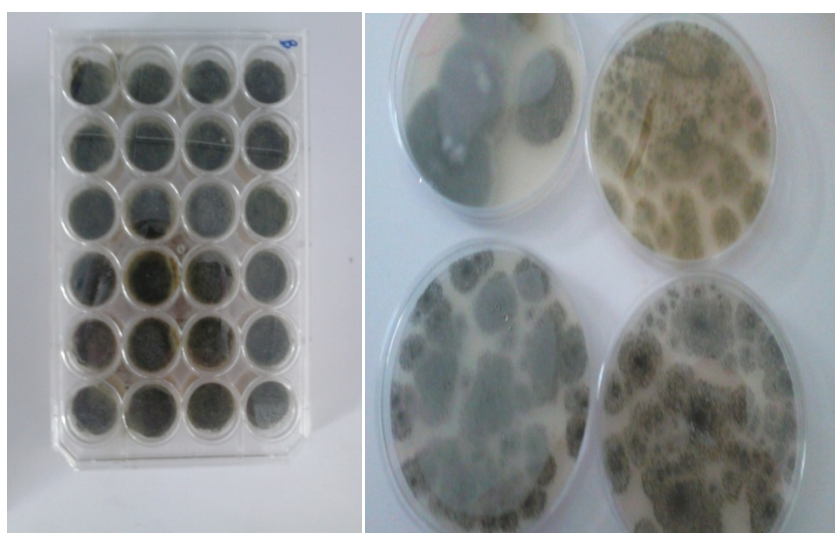
Farina.....	200g
Fructose.....	15g
Saccharose.....	15g
Maltose.....	15g
L'extrait de levure.....	10g
Agar.....	07g
L'eau distillée.....	1000ml

PH=5.

**Annexe 12: La jarre d'anaérobiose**



**Annexe 13: Les souches fongiques**



(A) *Aspergillus flavus*

(B) les souches de la contamination