



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Aya BEN ACHOUR

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

**Evaluation de la qualité mycologique et nutritionnelle du
lait cru de vache collecté de différentes fermes de la région
de Biskra et de Barika**

Jury :

Mme. Widad BOUGUENOUNE	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Sara REDOUANE-SALAH	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Aicha MEDJADBA	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

Je remercie avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé tout au long de ma vie, dans toutes les années d'étude et m'avoir donné la croyance, la volonté, la patience, la santé et le courage pour achever ce travail.

Ensuite, j'exprime mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mme REDOUANE-SALAH Sara Maître de conférence -A- à l'Université de Biskra pour voir bien voulu m'encadrer, pour ses aides, ses conseils, sa disponibilité, ses orientations, sa patience, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

J'espère qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie les membres de jury chacun de son nom, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Sans oublier de remercier vivement l'équipe de laboratoire de notre Département, l'équipe de bibliothèque de biologie, les travailleurs de l'administration et les agents de la faculté.

À tous les étudiants de master de la promotion 2019.

Je voudrais également remercier toutes les personnes qui nous ont donné confiance pour nous donner les échantillons de lait.

Mes vifs remerciements s'adressent à mon très cher frère aîné Tarek, de m'avoir accompagné et aidé dans mes sorties pour prélever les échantillons de lait.

J'exprime ma reconnaissance pour toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Je saisis l'opportunité de la fin de ce travail pour exprimer ma gratitude envers ma famille, en particulier ma très chère mère, pour son amour et ses sacrifices, pour enfin me voir soutenir mon mémoire de master. Merci maman, sans toi, je n'aurais jamais été ce que je suis aujourd'hui.

Dédicace

Je commence ma dédicace au nom du Dieu et le salut sur Mohamed le messager de

Dieu

Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce travail à :

Ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance (Aucune dédicace ne peut exprimer ma profonde reconnaissance et mon grand amour pour eux)

Ce qui a attendu avec patience les fruits d'une bonne éducation a celle qui ma donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite à ma mère.

À la mémoire de mon très cher papa qui nous a quittés, il y a de cela 7 ans

À mes très chères frères : Tarek et Abderrahmane et mon cousin Issam

À mes très chères sœurs : Khalissa, Afaf et son mari Abdelmalik et leurs fils Mohamed Sadok et Badreddine

À mes oncles et leurs épouses ; Mes tantes et leurs époux

À ma Grand-père et mes grand-mères ; À mes cousins et cousines

À tout la famille Ben achour et Lemtai sans exception.

À mes tous amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort : Rawia, Sara, Hassiba, Hiba, Fatima, Rebayha, Asma, Manal, Salsabil je suis très heureuse de ces années passées avec vous.

À tout mes collègues en particulier : Férial, Fatima et Soumaya.

A tous ceux que j'aime, qui m'aiment.

Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des Tableaux I

Liste des Figures II

Liste des abréviations III

Introduction générale..... 1

Première partie: Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Le lait de vache

1.1. Définition du lait.....	2
1.2. Compositions du lait.....	2
1.3. Propriétés du lait.....	3
1.3.1. Qualité organoleptique du lait.....	3
1.3.1.1. Couleur.....	3
1.3.1.2. Odeur.....	4
1.3.1.3. Saveur.....	4
1.3.1.4. Flaveur.....	4
1.3.2. Propriétés physico-chimiques.....	4
1.3.2.1. pH :.....	4
1.3.2.2. Acidité de titration ou acidité Dornic.....	4
1.3.2.3. La densité.....	5
1.3.2.4. Point de congélation :.....	5
1.3.2.5. Point d'ébullition.....	5
1.4. Importance Nutritionnelle.....	5

Chapitre 02: Moisissures et Mycotoxines

2.1. Moisissures.....	6
2.1.1. Généralités sur moisissures.....	6
2.1.2. Structure des moisissures.....	6
2.1.3. Classification.....	7
2.1.4. Reproduction.....	8

2.1.4.1. Reproduction sexuée	8
2.1.4.1. Reproduction asexuée	8
2.2. Mycotoxines	9
2.2.1. Définition	9
2.2.2. Origine	9
2.2.3. Localisation	9
2.2.4. Effets des mycotoxines	9

Deuxième Partie : Partie Expérimentale

Chapitre 03: Matériel et Méthode

3.1. But de travail	10
3.2. Échantillonnage	10
3.3. Analyses physico-chimiques	10
3.3.1. Détermination de l'acidité ionique (pH)	10
3.3.2. Détermination de l'acidité titrable	10
3.3.3. Détermination de la densité	11
3.3.4. Détermination de la matière sèche totale	12
3.3.5. Dosage des protéines.....	13
3.4. Analyse mycologique	13
3.4.1. Isolement des moisissures.....	13
3.4.1.1. À partir du lait cru des vaches.....	13
3.4.1.2. À partir des aliments de bétail :.....	13
3.4.2. Purification de la souche.....	14
3.4.3. Identification de la souche	14
3.4.3.1. Caractères cultureux (macroscopique) :.....	14
3.4.3.2. Identification microscopique :.....	14
3.4.4. Préparation des frottis pour la microscopie	14
3.4.6. Expression des résultats	15

Chapitre 4: Résultats et discussion

4.1. Résultats et discussion des paramètres physico-chimiques	17
4.1.1. Résultat de la mesure de l'acidité ionique (pH).....	17
4.1.2. Résultat de la mesure de la densité	18
4.1.3. Résultat de la mesure de l'acidité titrable	19

4.1.4. Résultat de la mesure de la matière sèche.....	20
4.1.5. Résultat de la mesure du taux de protéine	21
4.2. Résultats et discussion de l'analyse mycologique :	22
4.2.1. Les moisissures isolées des aliments de bétail.....	33
4.2.1.1. La fréquence d'isolement et la densité relative des aliments de bétail	33
A. La densité relative (DR%) :	34
B. La fréquence d'isolement (FR%) :	36
4.2.2. Les moisissures de lait de vache	37
4.2.2.1. La fréquence d'isolement et de densité relative de lait cru :	38
B. La fréquence d'isolement (FR%) :	41
Conclusion.....	44
Bibliographie.....	46
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Composition chimique du lait de vache.....	2
Tableau 2. Aspect des boites de Pétri des échantillons non contaminés par les Souches fongiques.....	22
Tableau 3. Genres de moisissures isolés à partir d'échantillons des aliments de bétail et lait cru de vache de la wilaya de Biskra et Batna.....	23
Tableau 4. Analyse mycologique des échantillons d'aliment de bétail.....	32
Tableau 5. Analyse mycologique des échantillons de lait cru de vache.....	36

Liste des Figures

Figure 1. Hyphe coenocytique (a) et hyphe septé (b).....	6
Figure 2. Morphologie d'un hyphe, représentation schématique de l'extrémité d'un hyphe montrant les organites typiques et d'autres structures.....	7
Figure 3. Classification des mycètes dans le mande vivant.....	8
Figure 4. Organigramme de la mise en évidence des moisissures.....	16
Figure 5. Variation du pH de lait cru bovin dans les cinq fermes.....	17
Figure 6. Variation de la densité de lait cru bovin dans les cinq fermes.....	18
Figure 7. Variation de l'acidité titrable de lait cru bovin dans les cinq fermes.....	19
Figure 8. Variation des valeurs de la matière sèche de lait cru bovin dans les cinq fermes.....	20
Figure 9. Variation des valeurs du taux de protéine de lait cru bovin dans les cinq fermes.....	21
Figure 10. Densité relative des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons de l'aliment de bétail.....	34
Figure 11. Densité relative du genre <i>Aspergillus</i> dans tous les échantillons d'aliment des fermes analysées.....	35
Figure 12. Densité relative du genre <i>Rhizopus</i> dans tous les échantillons des fermes analysées.....	35
Figure 13. Densité relative du genre <i>Alternaria</i> dans tous les échantillons des fermes analysées.....	36
Figure 14. Fréquence d'isolement des genres de moisissures isolées à partir des échantillons des aliments de bétail.....	37
Figure 15. Densité relative des genres fongiques isolés de l'ensemble des échantillons de lait cru de vache.....	39
Figure 16. Densité relative du genre <i>Aspergillus</i> dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.....	39
Figure 17. Densité relative du genre <i>Alternaria</i> dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.....	40
Figure 18. Densité relative du genre <i>Penicillium</i> dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.....	40
Figure 19. Densité relative du genre <i>Fusarium</i> dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.....	41
Figure 20. Fréquence d'isolement des genres de moisissures isolés à partir des échantillons de lait cru de vache.....	41

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

Dr: Densité relative.

FAO: Food and Agriculture Organization.

Fr : Fréquence d'isolement.

MS : Matière sèche.

NaOH: hydroxyde de sodium.

PDA: Potato Dextrose AGAR.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

TP : Taux protéique

Introduction

Introduction générale

Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens ils apportent la plus grosse part des protéines d'origine animale. L'Algérie est le plus important consommateur du lait au Maghreb, avec une consommation moyenne de 110 litres par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010 (FAO, 2007).

En raison de la richesse du lait en nutriments, il constitue un excellent milieu de culture pour les microorganismes, provoquant des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et libération des composés indésirables (Veisseyre, 1975).

Le lait cru est un produit hautement nutritif sur le plan de la nutrition. Sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine. Plusieurs facteurs déterminent la qualité du lait à savoir des facteurs liés à l'animal (race, âge) et d'autre au milieu (régime alimentaire, les bonnes pratiques de l'élevage).

La contamination de l'aliment distribué au bétail par les moisissures qui peuvent produire des métabolites secondaires (les mycotoxines) est susceptible de représenter un danger pour la santé humaine et animale parce que ces toxines peuvent également transférés dans les produits d'origine animale (lait, œufs, viande ou abats).

Notre travail a pour objectif l'étude de la qualité physico-chimique et mycologique de lait cru de vache et des aliments de bétail collecté de différentes fermes de la région de Biskra (Doucen, Foughala, El-Ghrous, Ras El-Miaad) et Batna (Barika).

Notre travail est divisé en deux parties :

- ❖ Une partie bibliographique (généralité sur le lait de vache, moisissures et mycotoxines).
- ❖ Une partie expérimentale dans laquelle on a effectué des analyses physico-chimique (pH, la densité, l'acidité titrable, la matière sèche, le taux protéique) et mycologique (L'isolement, la purification et l'identification des souches fongiques à partir des aliments de bétail et à partir de lait cru des vaches laitières).

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Le lait de vache

1. Le lait de vache

1.1. Définition du lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum ».

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaire des mammifères comme la vache et la brebis, destiné à l'alimentation de jeune animal naissant (Alais, 1975).

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

Le lait est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, à une odeur peu marquée et un goût douceâtre. Le lait est sécrété, après parturition par la glande mammaire des animaux mammifères femelles, pour nourrir leur nouveau-né (Abdellaoui, 2007).

1.2. Compositions du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un bon aliment pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes (Frainworth et Mainville, 2010). La composition moyenne du lait de vache est représentée dans le tableau 01.

Tableau 1. Composition chimique du lait de vache (Alais, 1984).

Substances	Quantité en g/l	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) Eau liée (3,7%)
Glucide : lactose	49	Solution
Lipides	35	En solution de globules gras (3-5 μ)
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Partie insaturable (stérol, carotène, tocophérols)	0,5	
Protide	34	Suspension micellaire de phosphocaséinates de calcium (0,08 à 0,12 μ) Solution colloïdale Solution vraie
Caséine	27	
Protéines solubles (albumine, globuline)	5,5	
Substances azotées non protéiques	1,5	
Sel	9	Solution ou état colloïdale (sel K, Ca, Na, Mg...)
Acide citrique	2	
Acide phosphorique (H ₂ PO ₄)	2,6	
Acide chlorhydrique (HCl)	1,7	
Constituants divers :		
Vitamines, enzymes, gaz dissous,	Trace	
Extrait sec total	127	-
Extrait sec non gras	92	

1.3. Propriétés du lait

1.3.1. Qualité organoleptique du lait

Les principales qualités organoleptiques présentes dans les points suivent :

1.3.1.1. Couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait).

1.3.1.2. Odeur

L'odeur est une caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs de l'animale. Elles sont liées à l'ambiance de la traite et à l'alimentation. Au cours de la conservation, le lait est caractérisé par une odeur aigre due à l'acidification par l'acide lactique (Vierling, 2003) in (Kizi et Makdoud, 2014).

1.3.1.3. Saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru.

1.3.1.4. Flaveur

Résulte d'un équilibre subtil entre de multiples composés : acides, alcools, ester, amines, composés carbonyles et soufre ...etc. En interaction avec une matière lipidique et protéique (Vierling, 1998) in (Kizi et Makdoud, 2014).

1.3.2. Propriétés physico-chimiques

1.3.2.1. pH :

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car : $pH = \log 1/[H_3O^+]$. A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (CIPC lait, 2011).

1.3.2.2. Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de lait est une notion importante pour l'industrie laitière. Elle permet de juger l'état de conservation du lait. Elle résulte d'une titration qui consiste à ajouter au lait un volume nécessaire de solution alcaline titrée pour atteindre le point de virage d'un indicateur, en générale

la phénophtaléine. Elle est exprimée en “degré Dornic” ($^{\circ}\text{D}$), ce dernier exprime la teneur en acide lactique : $1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g}$ d’acide lactique. L’acidité titrable est comprise entre 15°D et 18°D (Alais, 1984). Elle varie entre 0,13 et 0,17% d’équivalent d’acide lactique (Vignola, 2002).

1.3.2.3. La densité

La densité de lait d’une espèce donnée, n’est pas une valeur constante, elle varie d’une part, proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension et d’autre part, avec la proportion de la matière grasse. La densité de lait de vache est comprise entre 1030 et 1033 à une température de 20°C , à des températures différentes, il faut effectuer une correction. La densité est mesurée par le thermo-lacto-densimètre (Alais, 1984). D’après Vignola, (2002), la densité du lait augmente avec l’écémage, et diminue avec le mouillage.

1.3.2.4. Point de congélation :

Le point de congélation du lait est l’une de ses caractéristiques physiques les plus constantes, Sa valeur moyenne se situe entre $-0,54^{\circ}\text{C}$ et $-0,55^{\circ}\text{C}$ (Mathieu, 1998).

1.3.2.5. Point d’ébullition

On définit le point d’ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi, comme pour le point de congélation, le point d’ébullition subit l’influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d’ébullition de l’eau, soit $100,5^{\circ}\text{C}$. Cette propriété physique diminue avec la pression. On applique ce principe dans les procédés de concentration du lait (Vignola, 2002).

1.4. Importance Nutritionnelle

Selon Kizi et Makdoud. (2014). Le lait joue un rôle très important dans l’alimentation humaine, tant au point de vue calorique que nutritionnel. Un litre de lait correspond à une valeur d’environ 750 Kcal facilement utilisables. Comparativement aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle. L’intérêt alimentaire du lait est :

- Une source de protides d’excellente valeur biologique.
- La principale source de calcium
- Une source de matière grasse
- Une bonne source de vitamines (Leroy, 1965)

Chapitre 2

Moisissures et Mycotoxines

2. Moisissures et Mycotoxines

2.1. Moisissures

2.1.1. Généralités sur moisissures

Les moisissures peuvent être définies comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique (Nicklin *et al.*, 2000). Ubiquitaire, non chlorophylliens.

Les spores sont issues de plusieurs modalités de reproduction sexuée ou asexuée qui représentent le principal critère de leur classification (Tabuc, 2007).

D'une façon générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines (Cahagnier, 1998).

2.1.2. Structure des moisissures

L'appareil végétatif des champignons est un thalle composé de filaments (hyphes) ramifiés dont l'ensemble constitue le mycélium (Nguyen, 2007). Certaines moisissures comme chez les phycomycètes, les cellules sont séparées par des cloisons transversales : le thalle est dit coenocytique ou «siphonné» : mucorales (*mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*...). Par contre, chez les septomycètes, l'hyphe est cloisonnée : le thalle est dit «septé » ; dans ce cas, des perforations assurent la communication entre les cellules (Botton *et al.*, 1990), (Figure 1).

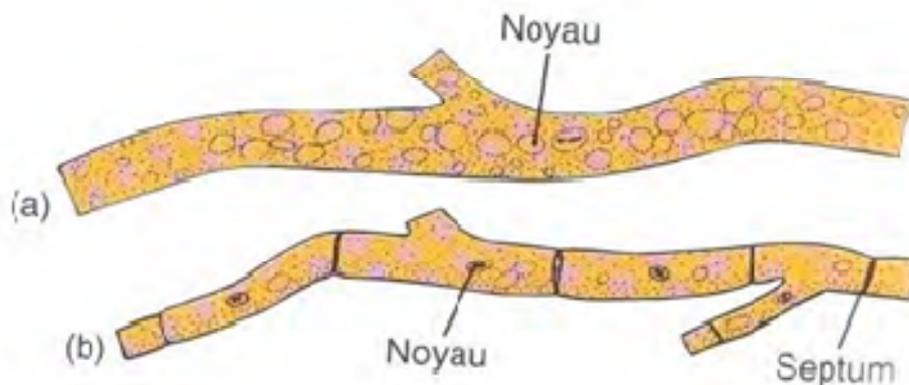


Figure 1.Hyphes coenocytiques (a) et hyphes septées (b) (Prescott *et al.*, 2007).

Les hyphes sont composés d'une paroi cellulaire externe et d'un espace interne qui contient le cytosol et les organites. Une membrane plasmique adjacente à la paroi cellulaire, entoure le cytoplasme.

La nature filamenteuse des hyphes donne une surface relativement grande par rapport au volume de cytoplasme ce qui rend possible une absorption nutritive adéquate (figure 02), (Prescott et *al.*, 2007).

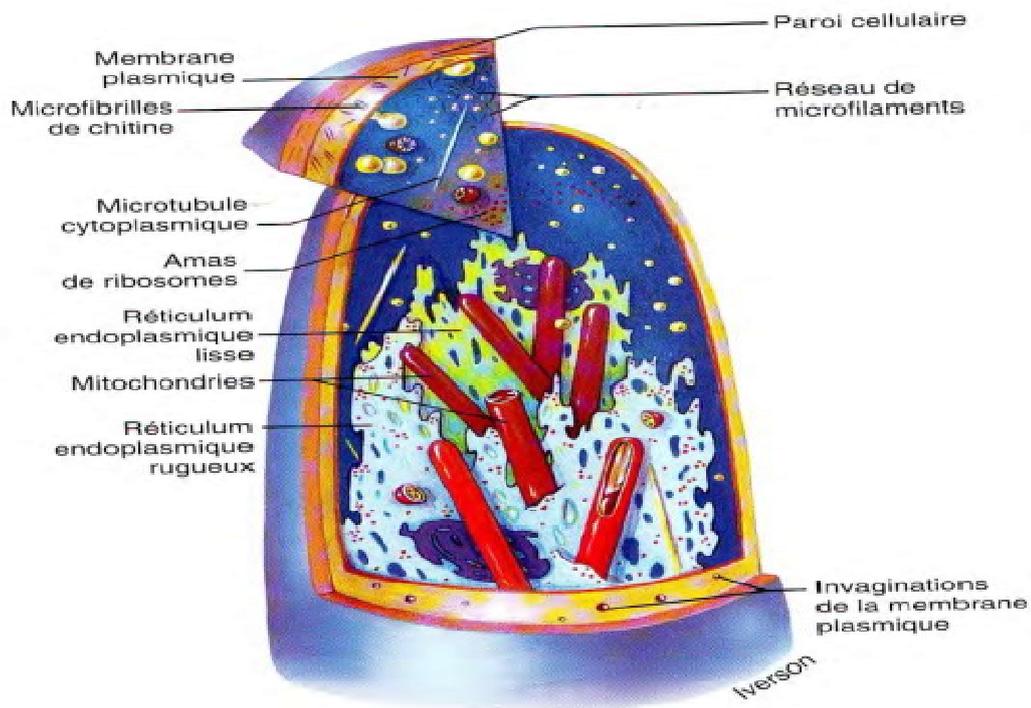


Figure 2. Morphologie d'un hyphe, représentation schématique de l'extrémité d'un hyphe montrant les organites typiques et d'autres structures (Prescott et *al.*, 2007).

2.1.3. Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction. Les Eumycètes (les vrais champignons) forment un groupe très vaste incluant les classes principales des moisissures, à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes (Dendouga, 2006).

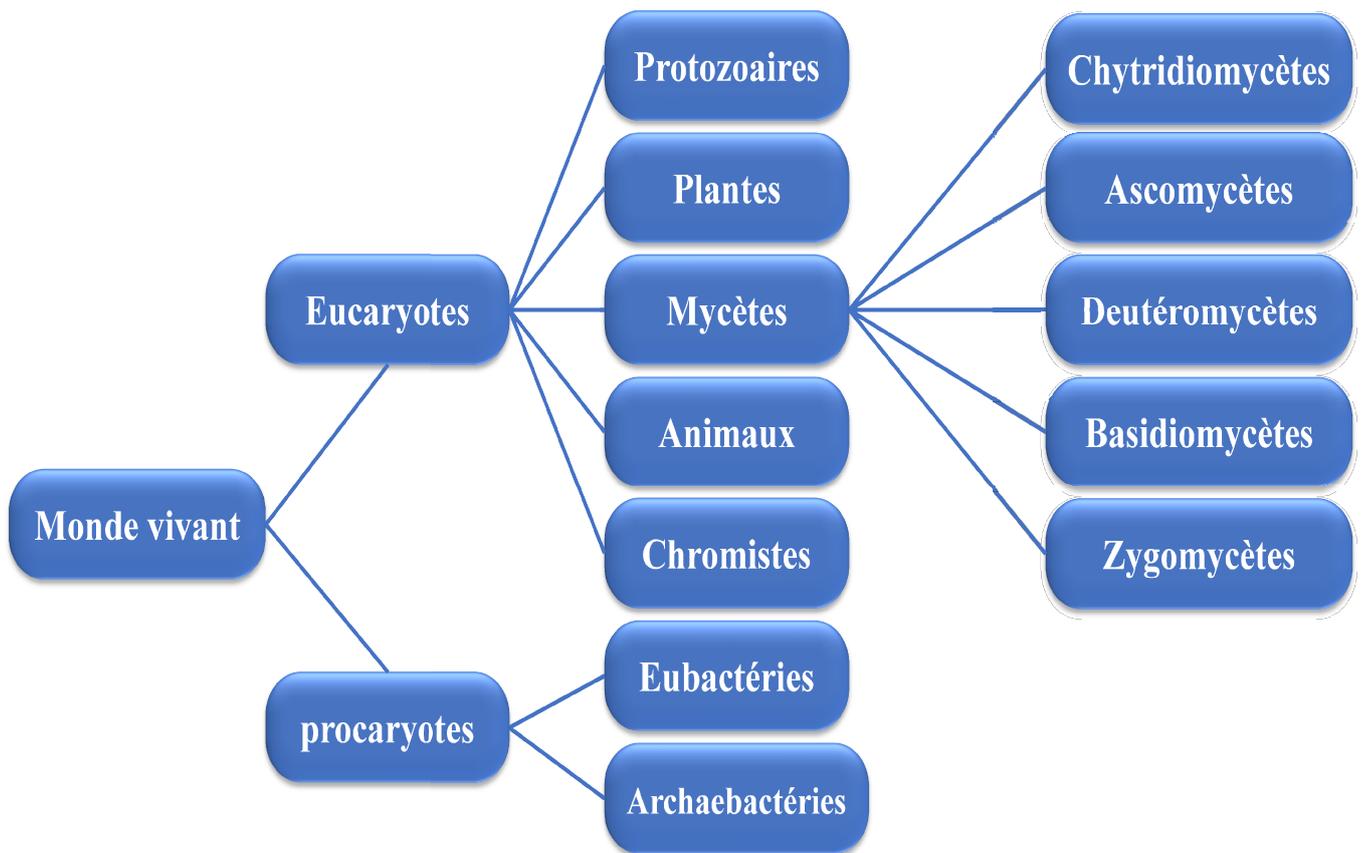


Figure 3. Classification des mycètes dans le monde vivant (Blackwell et *al.*, 2012).

2.1. 4. Reproduction

2.1.4.1. Reproduction sexuée

Ce type de reproduction permet la recombinaison des caractères héréditaires. Les cellules jouant le rôle de gamètes se forment à partir des hyphes déjà différenciés. La cellule résultant de la fécondation des gamètes subit des transformations plus ou moins importantes pour donner une spore. Les champignons issus de ce type de reproduction sont dits téléomorphes ou parfaits.

On connaît quatre sortes de spores issues de la reproduction sexuée : Les zygospores ; Les oospores ; Les ascospores. ; Les basidiospores (Redouane Salah, 2016).

2.1.4.1. Reproduction asexuée

Au cours de laquelle une spore ou un fragment de mycélium croit et se développe sur un substrat. Le mycélium émet des conidiospores à l'extrémité des quels des conidies sont émises puis disséminées (Boudih, 2011).

2.2. Mycotoxines

2.2.1. Définition

Le terme mycotoxine dérive du grec « mycos », signifiant champignon et du latin toxicum signifiant « poison ». Les mycotoxines sont des molécules capables, à de faibles concentrations, d'induire un effet toxique. Ce sont des métabolites secondaires produits après la phase de croissance du champignon. Ils se distinguent des métabolites primaires comme par exemple les produits de la glycolyse, qui sont primordiaux pour tout être vivant (Boudih, 2011), un grand nombre d'espèces de moisissures appartenant principalement aux trois genres très communs *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, présentes dans l'air ambiant, le sol, sur les cultures sont capables de synthétiser et excréter des mycotoxines.

2.2.2. Origine

Les mycotoxines sont élaborées par des champignons -ou micromycètes- lors de quatre processus différents mettant en jeu respectivement le métabolisme secondaire fongique, la bioconversion de composés végétaux (dicoumarol), la réaction de la plante à des agressions (coumestrol), ou l'association plante-champignons (cas des champignons endophytes), (Redouane Salah, 2016).

2.2.3. Localisation

Les mycotoxines se retrouvent accumulées dans le mycélium et les spores fongiques, elles sont aussi adsorbées dans les poussières et sont transportées sous forme d'aérosols en agrégats liés à des particules minérales ou organiques. Ce qui constitue une autre voie d'exposition pour l'homme par inhalation (Atoui, 2006).

2.2.4. Effets des mycotoxines

Les mycotoxines constituent un danger imminent qui tire le signal d'alarme, en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'homme, sur la productivité animale et sur le commerce national et international. La **FAO** estime que plus de 25 % des récoltes mondiales sont significativement contaminées par des mycotoxines (Sakhri, 2012).

Deuxième Partie
Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthode

3.1. But de travail

De nombreux facteurs liés à l'animale et à son alimentation notamment, influents sur la composition du lait. Notre étude consiste à l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques ainsi que la qualité mycologique de lait cru de vache et des aliments de bétail. Les échantillons ont été provenus de cinq fermes, quatre échantillons de la région de Biskra (Doucen, Foughala, El-Ghrous, Ras El-Miaad), et un échantillon de la région de Barika (wilaya de Batna).

3.2. Échantillonnage

Les prélèvements des aliments de vaches ont été mis dans des sacs en plastique propres, ceux du lait cru ont été mis dans des flacons stériles placés à 4°C dans une glacière. Puis acheminés directement au laboratoire du département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Khider (Biskra), pour les analyses.

3.3. Analyses physico-chimiques

3.3.1. Détermination de l'acidité ionique (pH)

Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions H⁺ contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré frais si son pH est compris entre [6,4 à 6,8] ; (Kizi et Makdoud, 2014).

➤ Mode opératoire

- Etalonner le pH mètre avec deux solutions tampons de pH=4 et pH=7.
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée.
- Plonger l'électrode (Annexe 01) dans un bécher contenant du lait bien homogénéisé à température ambiante et lire la valeur de pH stabilisée sur l'appareil de pH-mètre.

3.3.2. Détermination de l'acidité titrable

Elle est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude ((NaOH) 1/9 N) en présence de la phénolphtaléine (1%), comme indicateur coloré, qui indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (Annexes 01).

L'acidité titrable du lait est exprimée en degré dornic (1°D = 0.1 g d'acide lactique par litre du lait (par exemple $1.8 \times 10 = 18^\circ\text{D}$), (AFNOR, 1985).

➤ **Mode opératoire**

- Dans un bécher introduire 10 ml du lait frais bien homogénéisé

- Ajouter au lait 0,3 ml de la solution de phénolphaléine à 1%.

-Titrer avec la soude (NaOH N/9) jusqu'au virage de couleur vers le rose. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes (AFNOR, 1999).

➤ **Expression des résultats**

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

$$A=V.10$$

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

3.3.3. Détermination de la densité

La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C (Mathieu, 1998).

➤ **Mode opératoire**

-Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air.

-Remplir l'éprouvette de 250 ml jusqu'à un niveau tel que le volume restant soit inférieur à celui de la carène de lactodensimètre (il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette).

-L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait provoque un débordement qui est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse-qui gêneraient la lecture.

-Maintenu le lactodensimètre dans l'axe de l'éprouvette en le retournant dans sa- descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre

-Placer l'éprouvette ainsi remplie en position verticale, il est recommandé de la plonger dans le bain à 20°C lorsque la température du laboratoire n'est pas comprise entre 18°C et 22°C.

-Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température (AFNOR 1999).

➤ **Expression des résultats**

Si la température du lait n'est pas à 20°C, il faudra corriger la densité lue par la relation suivante :

• **Correction**

-La densité lue + 0,0002 pour chaque degré en plus (si la température du lait est supérieure à 20°C).

-La densité lue - 0,0002 pour chaque degré en moins (si la température du lait est inférieure à 20°C).

3.3.4. Détermination de la matière sèche totale

Selon les conditions décrites par la norme (AFNOR, 1985), la matière sèche du lait est le produit résultant de la dessiccation du lait.

➤ **Mode d'opérateur**

-Homogénéiser l'échantillon du lait cru par une légère agitation.

- Introduire 5 ml de lait dans une capsule propre et sèche dans une étuve de dessiccation à 103±2°C jusqu'à l'obtention d'une couche sèche et blanchâtre.

- Retirer la capsule sèche de l'étuve de dessiccation, et la mettre dans un dessiccateur.

- Après refroidissement peser les capsules.

➤ **Expression des résultats**

La matière sèche exprimée en gramme par litre de lait (g/l) est égale à :

$$MS = (M_1 - M_0) \times 1000/V$$

M0 : masse en grammes de la capsule vide.

M1 : masse en gramme de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

V : volume en millilitres de la prise d'essai 5ml.

3.3.5. Dosage des protéines

La matière protéique du lait est dosée par la méthode de titration au formole.

➤ Mode d'opérateur

- Dans un bécher un échantillon précis de lait liquide frais de 20 ml est versé.

- Ajouter quelques gouttes de solution de phénolphtaléine à 1%.

- Titrer le mélange avec une solution de NaOH 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose stable pendant 30 secondes sans relever le volume de soude.

- Ajouter dans le bécher 4ml de formaldéhyde préalablement neutralisé avec NaOH jusqu'à la disparition de la couleur rose, noter le volume de NaOH (V1).

➤ Expression des résultats

$$\% \text{ de protéine} = V_1 \times 0.959$$

-0,959 est le coefficient de conversion pour les matières protéiques du lait.

3.4. Analyse mycologique

3.4.1. Isolement des moisissures

3.4.1.1. À partir du lait cru des vaches

Une petite quantité de lait est prélevée stérilement (près d'un bec bunsen), à l'aide d'une pipette Pasteur. Quelques gouttes de lait ont été ensuite déposées dans une boîte de Pétri contenant de milieu de culture PDA (voir annexe 02) et étalées stérilement sur toute la surface de la gélose à l'aide de la même pipette recourbée en râteau.

3.4.1.2. À partir des aliments de bétail :

La méthode directe est la méthode préférée pour détecter, évaluer et isoler des mycètes des nourritures particulières telles que des grains et des noix. Elle Consiste à déposer des grains ou des fragments d'aliment du bétail directement, sur le milieu de culture (PDA), (Nguyen, 2007).

➤ Incubation

L'incubation des boîtes de Pétri des aliments de bétail et des boîtes de Pétri du lait, se fait à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 5 à 7 jours.

3.4.2. Purification de la souche

La purification des souches a été effectuée après plusieurs repiquages des souches de moisissures sur le milieu de culture PDA dans les mêmes conditions d'incubation, jusqu'à l'obtention de souches pures.

3.4.3. Identification de la souche

L'identification des moisissures est basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des colonies.

3.4.3.1. Caractères cultureux (macroscopique) :

Selon Nguyen, (2007), les paramètres d'identification macroscopiques d'une espèce fongique sont les suivantes :

- Vitesse de croissance ;
- Couleur de colonies en fonction du temps ;
- Couleur de revers des colonies ;
- Aspect des colonies ;

3.4.3.2. Identification microscopique :

Les caractères morphologiques ou microscopiques :

- Cloisonnement des hyphes ;
- Mycélium diffus, épais, coloré, incolore ;
- Présence et type de spores ;
- Présence et type de structures particulières (Guiraud, 1998).

3.4.4. Préparation des frottis pour la microscopie

Pour observer les moisissures en microscope un frottis a été préparé par la technique de scotch qui consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame.

- Les observations microscopiques ont été réalisées au grossissement (**x40**) et (**x100**).

3.4.6. Expression des résultats

Selon la méthode de Gonzalez et *al.*, (1995) et Kollu et *al.* (2009), La fréquence d'isolement (**Fr**) et la densité relative (**RD**) des espèces ont été calculées in (Redouane Salah, 2016).

$$\mathbf{Fr\ (\%)} = \frac{\mathbf{Nombre\ d'échantillons\ avec\ une\ espèce\ ou\ d'un\ genre}}{\mathbf{Nombre\ totale\ des\ échantillons}} \times \mathbf{100}$$

$$\mathbf{Dr\ (\%)} = \frac{\mathbf{Nombre\ d'isolats\ d'une\ espèce\ ou\ d'un\ genre}}{\mathbf{Nombre\ total\ de\ champignons\ isolés}} \times \mathbf{100}$$

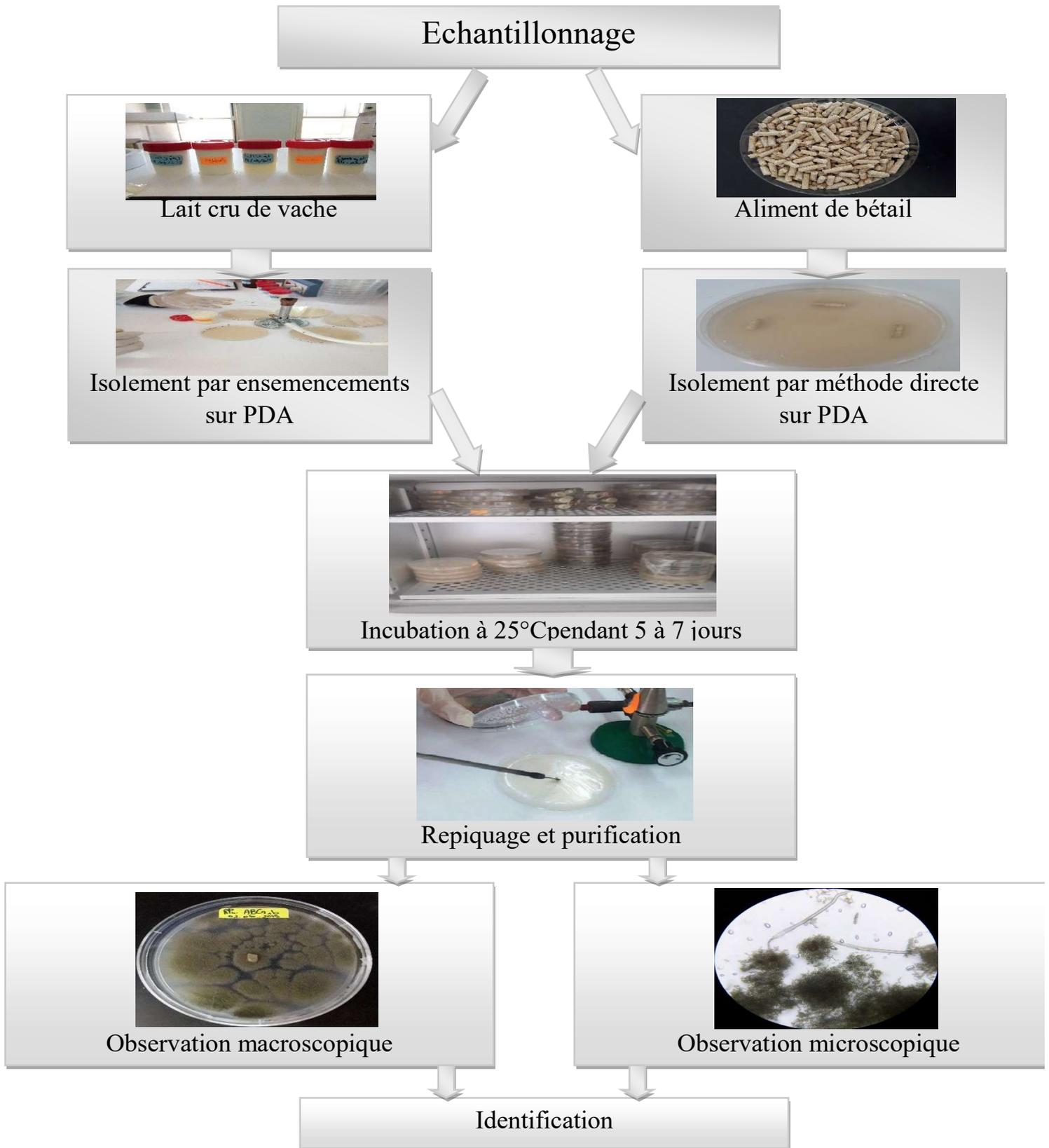


Figure 4. Organigramme de la mise en évidence des moisissures.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

4.1. Résultats et discussion des paramètres physico-chimiques

4.1.1. Résultat de la mesure de l'acidité ionique (pH)

Les résultats de la mesure du pH des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 05.

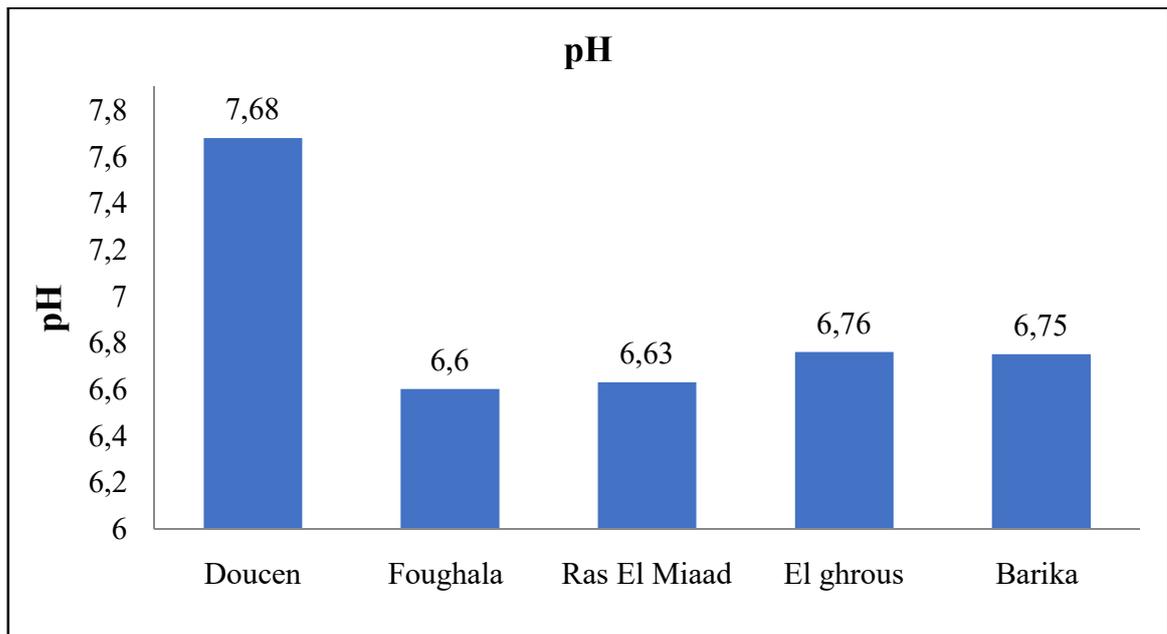


Figure 5. Variation du pH de lait cru bovin dans les cinq fermes.

Les valeurs obtenues du pH se situent entre 6,51 et 6,75 pour le lait collecté au niveau des fermes suivantes : **Foughala** : 6.6 ; **El-Ghrous** : 6.76 ; **Ras El-Miaad** : 6.63 ; **Barika** : 6.75. Ces valeurs sont acceptables en comparaison avec les normes de (Vignola, 2010), qui oscillent entre [6,6-6,8], mais aussi supérieure aux normes citées par (Sboui et *al.*, 2009), qui ont signalé une moyenne de $6,41 \pm 0,18$. Le pH de l'échantillon de lait de la région de **Doucen** (7.68) paraît supérieur à la norme.

Le pH traduit la concentration en ion H^+ , un lait cru de vache normale présente une légère acidité due à la présence des anions phosphoriques et citriques ainsi que de la caséine (Ndiaye, 1991). Le pH n'est pas une valeur constante, selon Labioui et *al.* (2009). Les variabilités sont liées au climat, au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite.

4.1.2. Résultat de la mesure de la densité

Les résultats de la mesure de la densité des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 06.

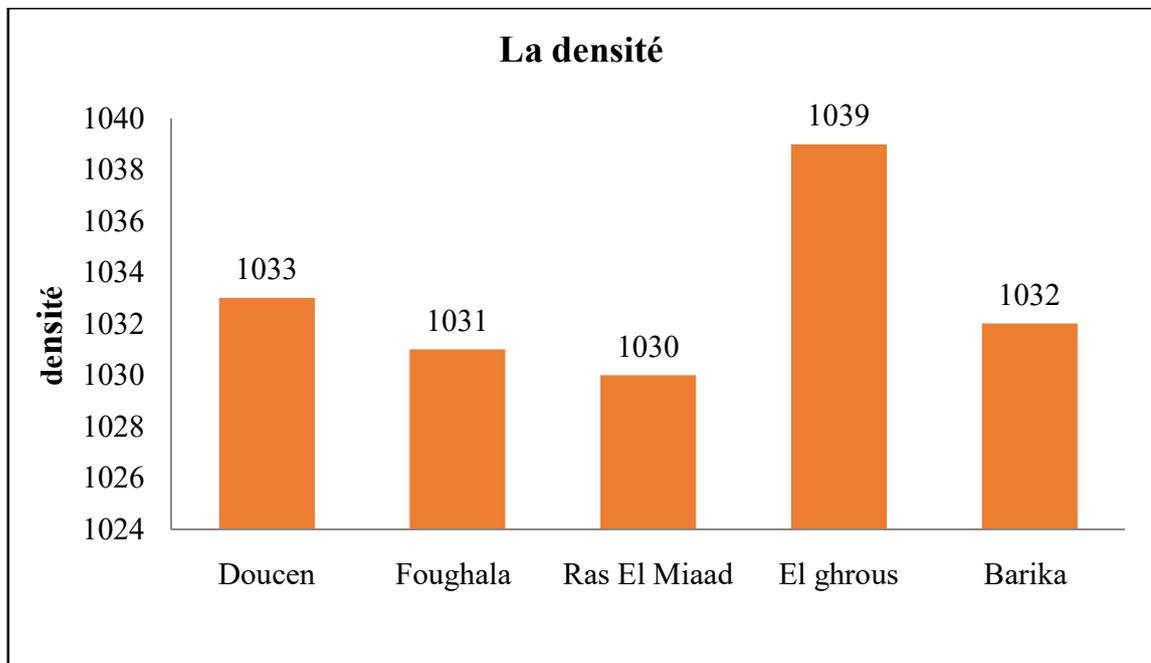


Figure 6. Variation de la densité de lait cru bovin dans les cinq fermes.

D'après les résultats obtenus (Figure 6), on constate que la densité varie de 1.030 (**Ras El Miaad**) à 1,033 (**Doucen**). Ces valeurs sont en parfait accord avec les normes de (Vignola, 2010), [1028-1033]. Une légère augmentation de la densité a été observée dans le lait de la ferme **El Ghrous** (1.039).

La densité est une propriété physique qui varie selon la température (Vignola, 2002). Elle varie en fonction de la composition du lait, notamment de sa teneur en matière grasse qui a un effet prépondérant en raison de sa variabilité suivant la race et l'alimentation (Croguennec et *al.*, 2008).

La densité du lait est la résultante de la densité de chacun des constituants du lait (matière grasse, lactose, protéine) mais aussi de l'augmentation de la température (Labioui et *al.*, 2009).

Pour cela un lait dont la densité est inférieure à 1028, est considéré comme dilué, et un lait avec une densité supérieur à 1033 est écrémé (Benfoh et *al.*, 2002).

4.1.3. Résultat de la mesure de l'acidité titrable

Les résultats de la mesure de l'acidité titrable des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 07.

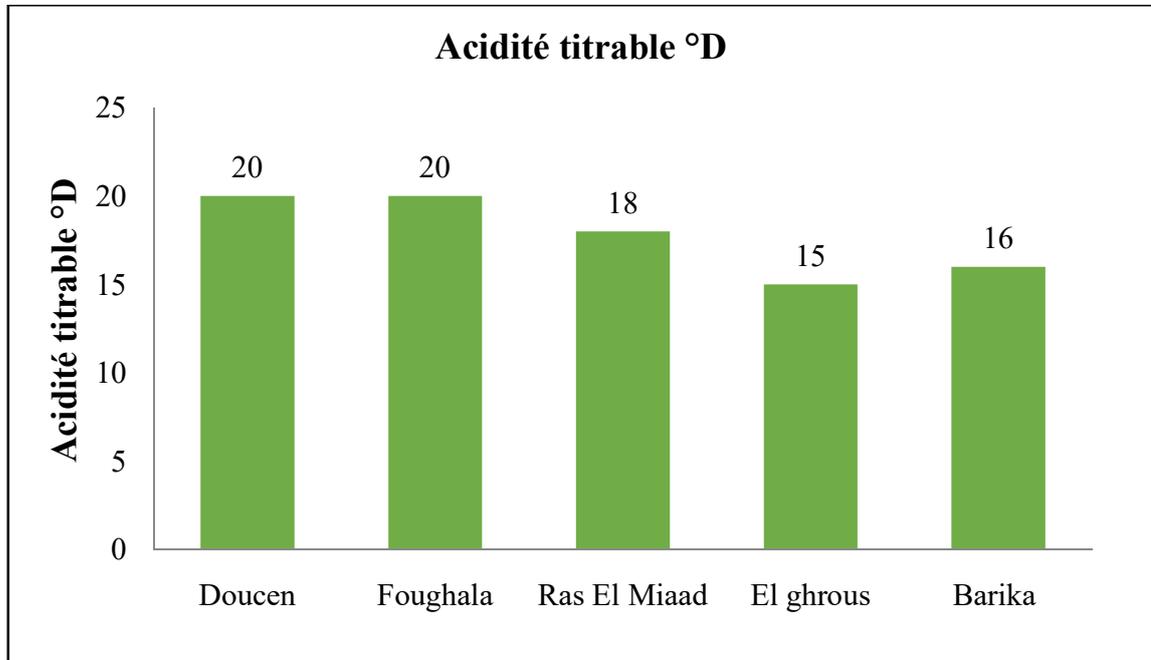


Figure 7. Variation de l'acidité titrable de lait cru bovin dans les cinq fermes.

Deux échantillons de lait présentent une légère augmentation de l'acidité par rapport aux valeurs normes qui sont comprise entre 14 et 18°D citées par (Vignola, 2010). Il s'agit des fermes **Doucen et Foughala** : 20°D. On peut juger donc que l'ensemble des résultats obtenus de l'acidité titrable répondent aux normes précitées.

L'acidité titrable du lait cru représente l'acidité due à la caséine, aux sels minéraux et aux ions et de l'activité métabolique de la flore microbienne du lait (Labioui et *al.*, 2009).

Il est à noter que deux échantillons différents de lait frais peuvent avoir la même valeur de pH, mais des acidités différentes et inversement. C'est à dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (Redouane-Salah, 2016).

4.1.4. Résultat de la mesure de la matière sèche

Les résultats de la mesure de la matière sèche des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 08.

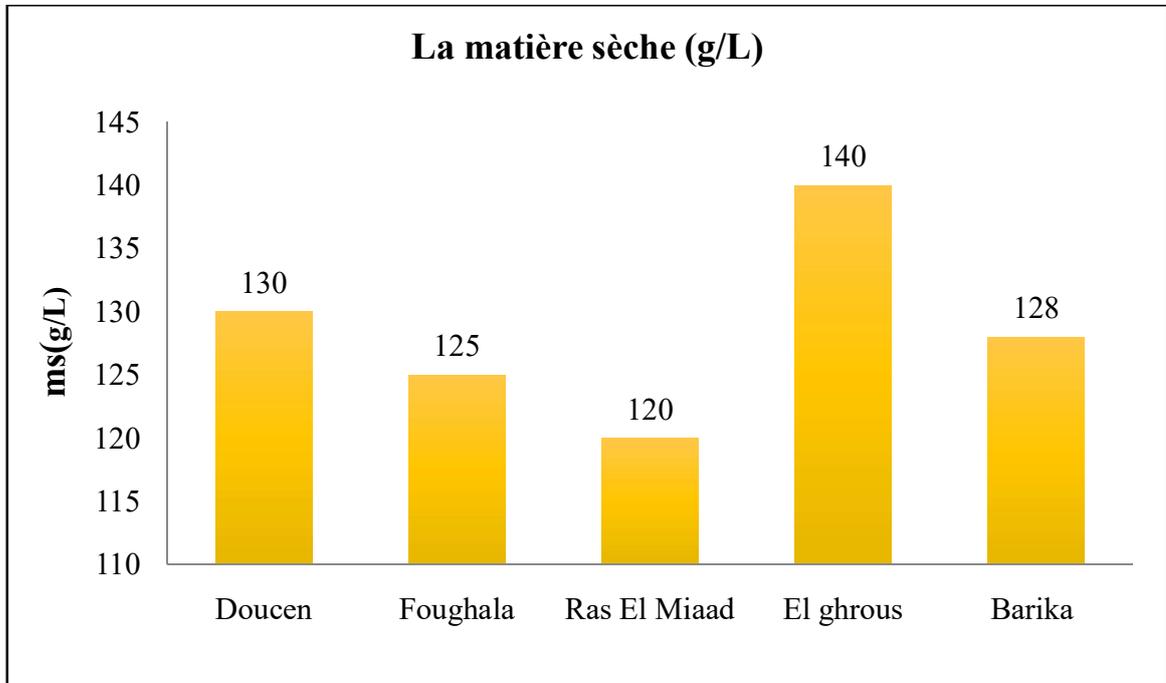


Figure 8. Variation des valeurs de la matière sèche de lait cru bovin dans les cinq fermes.

D'après la figure 08, les valeurs de la matière sèche du lait dans les fermes : **Doucen** (130g/L), **Foughala** (125g/L), **Barika** (128g/L) sont comprises dans les normes de (Wattiaux, 1997) qui ont une fourchette de [125-130 g/L]. En revanche, le lait de la ferme **El-Ghrous** (140 g/L) présente une valeur de la matière sèche supérieure à la norme. Ainsi que le lait de la ferme : **Ras El-Miaad** (120 g/L) présente une valeur de la matière légèrement inférieure à la norme, cette variabilité de la matière sèche dépend de l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales ainsi qu'au stade de lactation.

4.1.5. Résultat de la mesure du taux de protéine

Les résultats de la mesure du taux de protéine des différents échantillons du lait cru analysés sont représentés dans la figure 09.

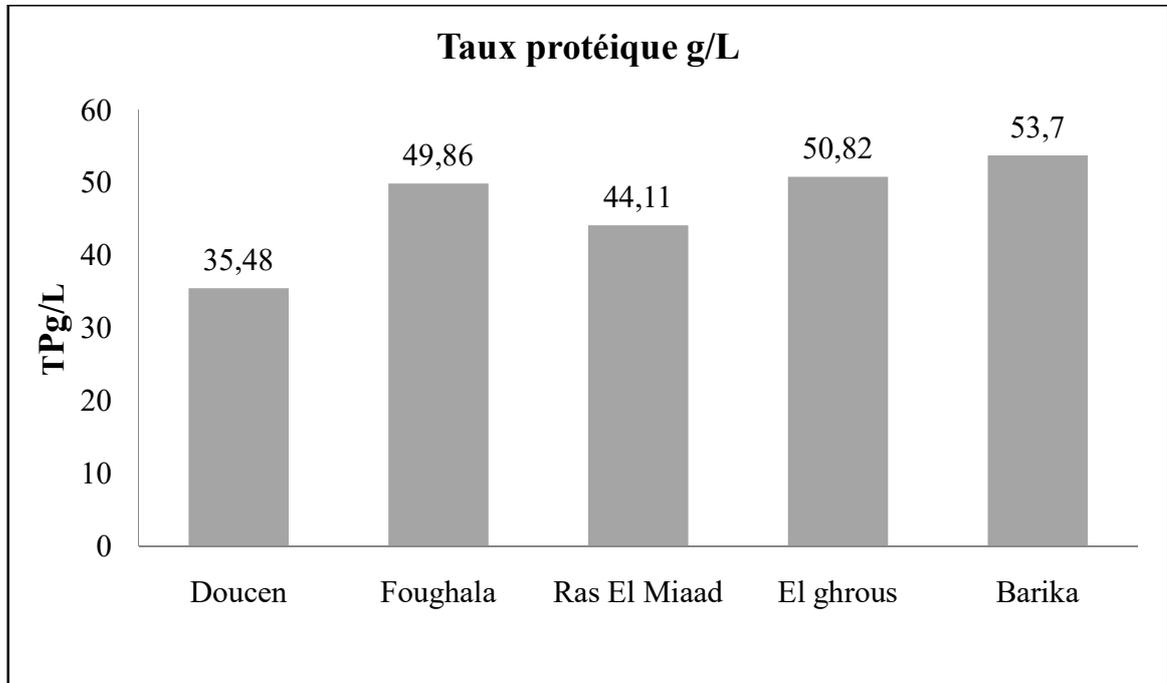


Figure 9. Variation des valeurs du taux de protéine de lait cru bovin dans les cinq fermes.

Dans la présente étude nous avons obtenus des taux protéiques qui varient entre 35,48 et 53,7g/l, (figure 09). Ces valeurs sont comprises dans l'intervalle des normes citées par (Vignola, 2010), [29-55 g/l]. La teneur en matière protéique varie essentiellement en fonction de la race, de l'alimentation et de la photopériode (Labioui et *al.*, 2009).

Le taux protéiques (TP) est une caractéristique importante du lait. Le TP conditionne la valeur marchande du lait, plus le TP sera élevé par rapport à une référence et plus le lait sera payé cher au producteur (paiement du point de TP). En effet plus le taux protéique (TP) est élevé et plus le rendement de transformation fromagère sera bon (Redouane-Salah, 2016).

4.2. Résultats et discussion de l'analyse mycologique :

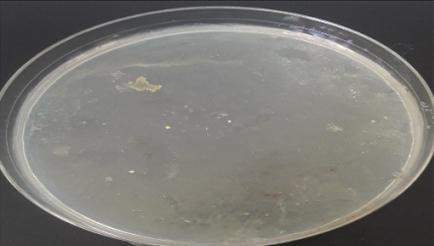
Dix (10) souches fongiques ont été isolées à partir des aliments de bétail analysés de différentes fermes visitées. Les souches isolées appartiennent aux genres suivants : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhizopus*.

Après l'isolement à partir du lait collecté de cinq fermes visitées on a pu constater deux groupes d'échantillons, un groupe exempt de source de contamination par les moisissures (**Doucen, Barika**), et un groupe contaminé par les moisissures (**El-Ghrous, Foughala, Ras El-Miaad**). Huit (08) souches isolées du lait appartiennent aux genres suivants : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*.

L'aspect macroscopique des boites de pétri des échantillons non contaminés par les moisissures sont présentés dans le tableau 02.

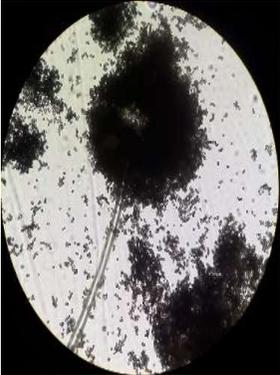
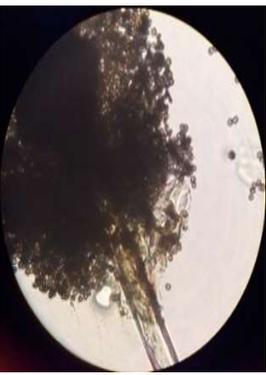
L'identification macroscopique et microscopique des souches fongiques isolées obtenus sont rassemblés dans le tableau 03.

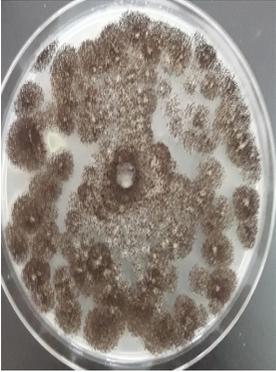
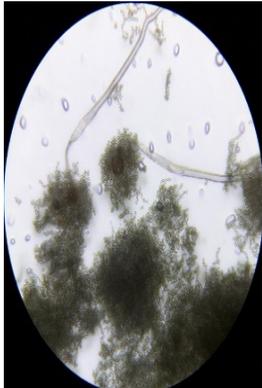
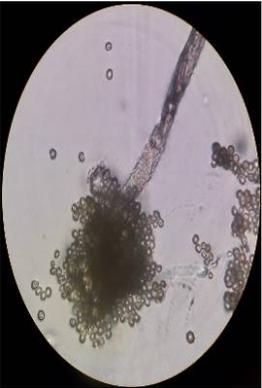
Tableau 2. Aspect des boîtes de Pétri des échantillons non contaminés par les souches fongiques.

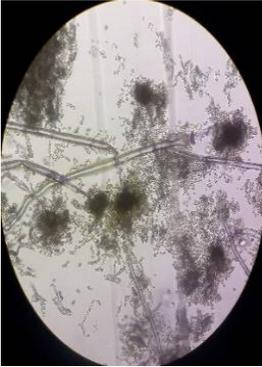
Régions Aspect	Barika	Doucen
Aspect de colonies		
Aspect des revers des colonies		

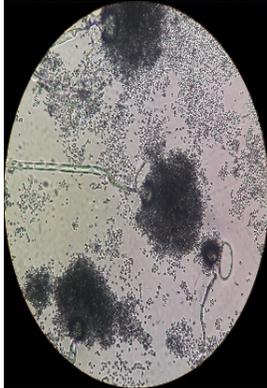
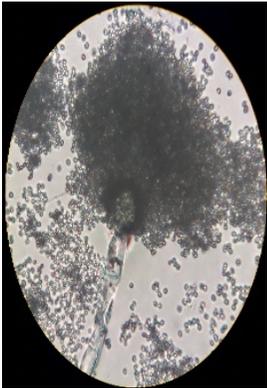
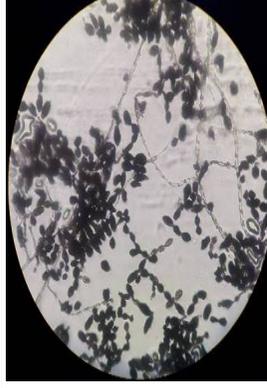
- Uniquement quelques poussées de colonies de levures et de bactéries.

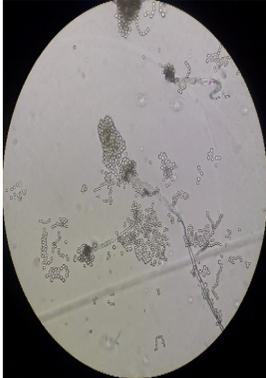
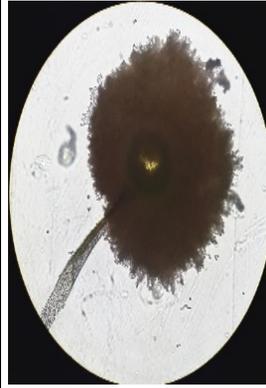
Tableau 3. Genres de moisissures isolés à partir d'échantillons des aliments de bétail et lait cru de vache de la wilaya de Biskra et Batna

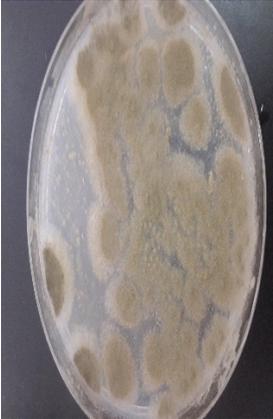
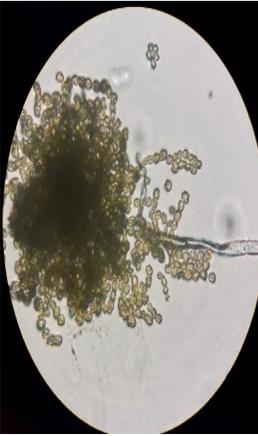
La région	Aspect macroscopique recto (après 7 jours de culture)	Aspect du revers	Couleur de la colonie	Couleur revers	Aspect de la colonie en surface	Aspect microscopique	
						X40	X100
El-Ghrous	<u>Lait : PDA</u> 		Noir	Grise-Pâle	Granuleux	<i>Aspergillus niger</i>	
							
			Blanche	Blanche	Cotonneux	<i>Fusarium sp1</i>	
							
							Forme fusiforme

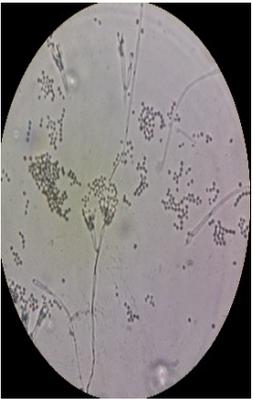
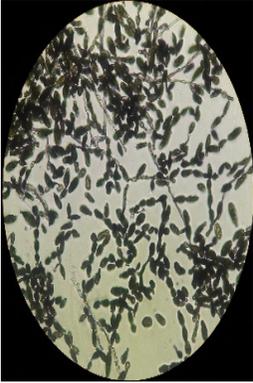
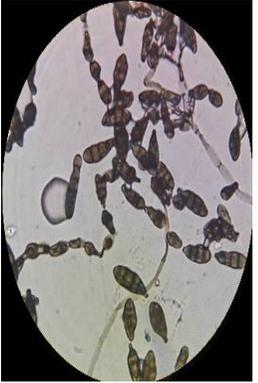
El-Ghrous	<u>Méthode directe :</u> <u>PDA (paille)</u>			Noir	Grise-Pâle	Granuleuse	<i>Aspergillus niger</i>	
								
				Vert	Vert claire	Poudreuse	<i>Aspergillus flavus</i>	
								

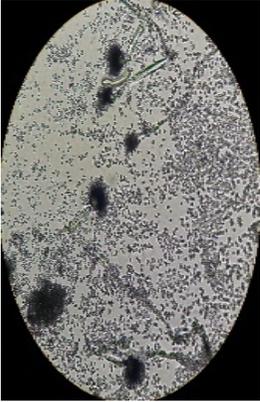
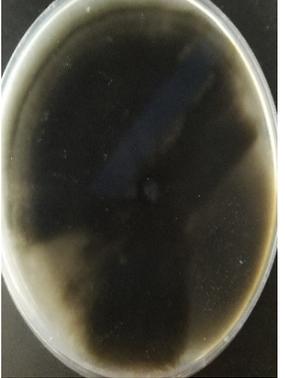
El-Ghrous			Vert jaunâtre	Beige	Poudreuse	<i>Aspergillus ochraceus</i>	
							
			Vert claire	Vert claire	Poudreuse	<i>Aspergillus sp1</i>	
							

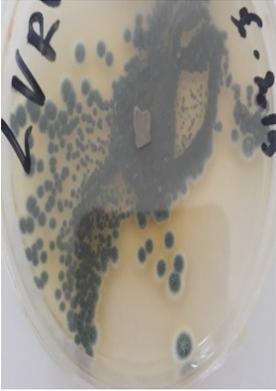
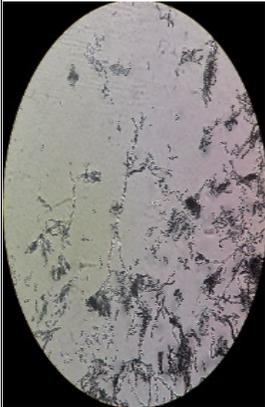
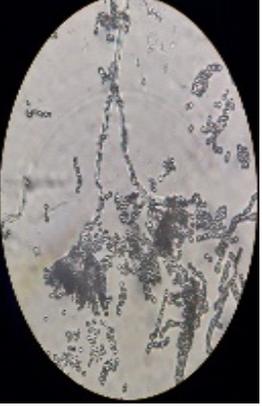
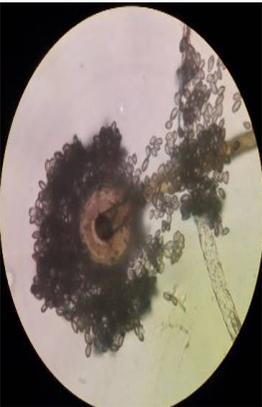
Foughala	<u>Lait : PDA</u>					<i>Aspergillus sp2</i>	
			Vert-olive	Beige	Poudreuse		
	<u>Méthode directe : PDA (Aliment composé)</u>					<i>Alternaria sp1</i>	
			Brun-gris à noires avec une périphérie blanche	Marron foncé à noir	Laineux et veloutées		

<p>Foughala</p>			<p>Jaune verdâtre</p>	<p>Beige</p>	<p>Poudreuse</p>	<p><i>Aspergillus fumigatus</i></p>  
<p>Barika</p>	<p><u>Méthode directe :</u> <u>PDA (Fourrage</u> <u>vert)</u></p> 		<p>Jaune</p>	<p>Jaune-Pâle</p>	<p>Granuleuse</p>	<p><i>Aspergillus ochraceus</i></p>  

<p>Barika</p>			<p>Vert-jaune</p>	<p>Beige</p>	<p>Poudreuse</p>	<p><i>Aspergillus sp3</i></p>	
<p>Doucen</p>	<p><u>Méthode directe :</u> <u>PDA (son de blé)</u></p> 		<p>Blanche puis devenant noire</p>	<p>Blanche</p>	<p>Filamenteux</p>	<p><i>Rhizopus sp1</i></p>	
							

Ras El-Miaad	<u>Lait : PDA</u>					<i>Penicillium sp₁</i>	
			Vert-olive	Blanc	Poudreuse		
			Noir avec une périphérie blanche	Marron foncé à noir	Laineux et veloutés	<i>Alternaria alternata</i>	
							

Ras El-Miaad			Vert	Beige	Poudreuse	<i>Aspergillus sp5</i>	
							
			Brun-gris à noires	Noir	Laineux et veloutées	<i>Alternaria alternata</i>	
							

Ras El-Miaad			Verte foncée, Contour blanc	Beige	Poudreuse, bombé	<i>Penicillium sp₂</i>	
							
	<u>Méthode directe :</u> <u>PDA (Mais)</u>					<i>Rhizopus sp₂</i>	
			Blanche puis devenant noire	Brun	Filamenteux		

4.2.1. Les moisissures isolées des aliments de bétail

L'étude macroscopique et microscopique ont permis de mettre en évidence trois (3) genres fongiques, classés par ordre décroissant de prédominance comme suit : *Aspergillus* (7 souches fongiques : 4 souches à **El-Ghrous**, 2 souches à **Barika**, 1 souche à **Foughala**), *Rhizopus* (2 souches fongiques : 1 souche à **Doucen**, 1 souche à **Ras El-Miaad**), *Alternaria* (1 souche fongique à **Foughala**).

Les souches fongiques isolées à partir des aliments distribués aux vaches dans les 5 fermes étudiées sont présentées dans le Tableau 04.

Tableau 04. Analyse mycologique des échantillons d'aliment de bétail.

Genres Régions	<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Rhizopus</i>	Nombre totale Des souches fongiques par échantillon
El-Ghrous	4	0	0	4
Foughala	1	1	0	2
Ras El-Miaad	0	0	1	1
Barika	2	0	0	2
Doucen	0	0	1	1
Totale	7	1	2	10

4.2.1.1. La fréquence d'isolement et la densité relative des aliments de bétail

Les analyses mycologiques montrent que tous les échantillons d'aliments de vaches analysés (n=5) sont contaminés par quelques souches de moisissures. Au total, 10 souches fongiques ont été isolées à partir des aliments distribués aux animaux des 5 fermes visitées.

A. La densité relative (DR%) :

Nous avons classé les genres isolés selon leur prédominance en :

1. **Genres dominants** : *Aspergillus* (70%)
2. **Genres moins dominants** : *Rhizopus* (20%)
3. **Genre minoritaire** : *Alternaria* (10%)

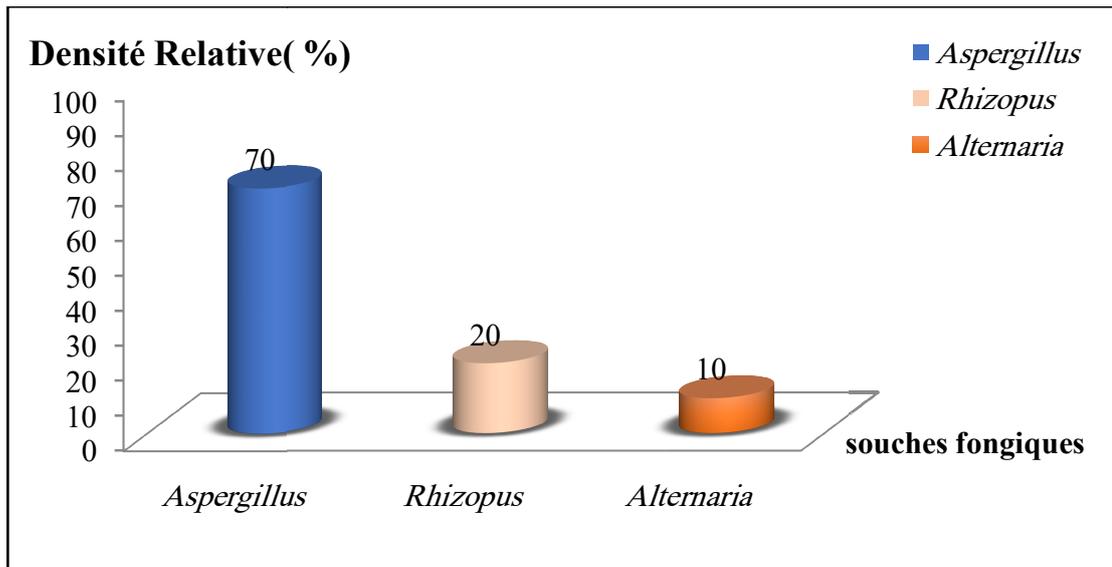


Figure 10. Densité relative des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons des aliments de bétail.

❖ Densité relative des échantillons d'aliment par ferme :

D'un point de vue prédominance par ferme, le genre *Aspergillus* est le plus dominant dans l'aliment analysé de la ferme d'**El-Ghrous**, par rapport aux aliments des autres fermes, avec une densité relative de 80% (Figure 11).

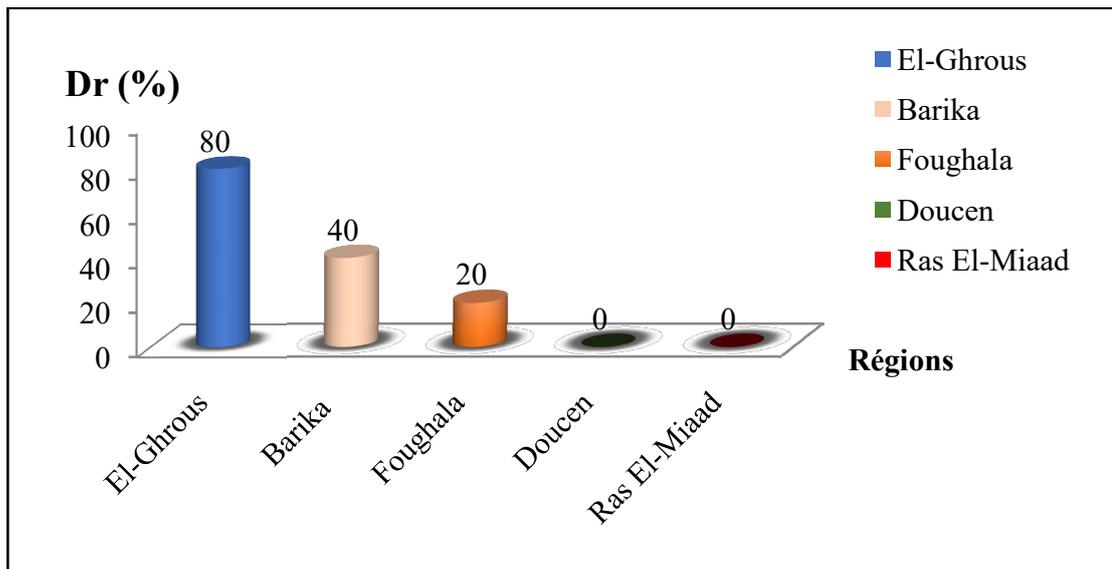


Figure 11. Densité relative du genre *Aspergillus* dans tous les échantillons d'aliment des fermes analysées.

Le genre *Rhizopus* présente une Dr de 20% dans les aliments de la ferme de **Doucen** et **Ras El-Miaad** (Figure 12).

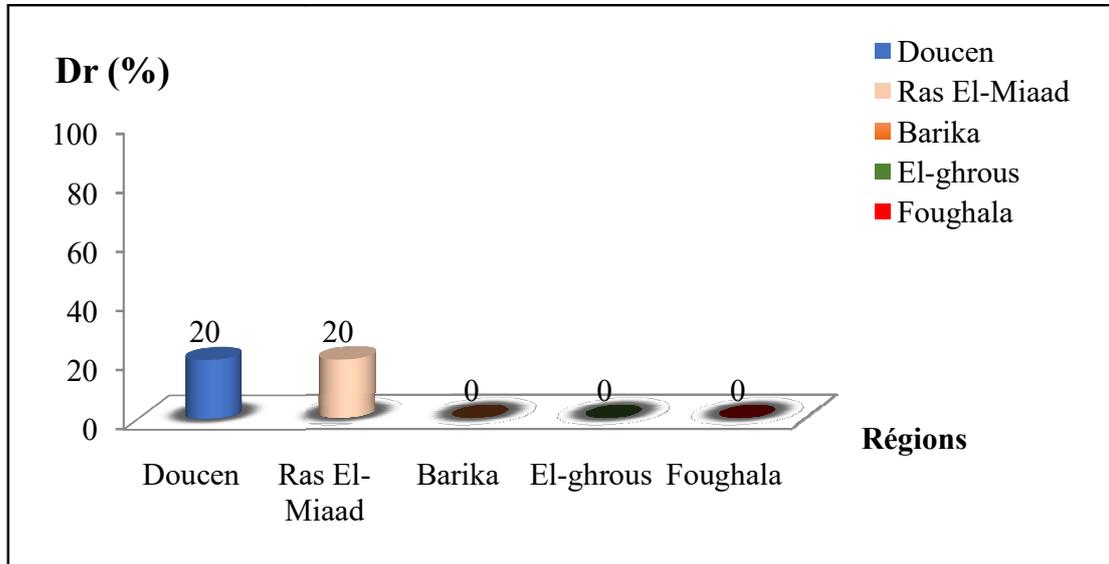


Figure 12. Densité relative du genre *Rhizopus* dans tous les échantillons des fermes analysées.

Le genre *Alternaria* paraît le moins dominant avec une Dr de 20%, seul l'aliment de la ferme de **Foughala** est contaminé par ce genre (Figure 13).

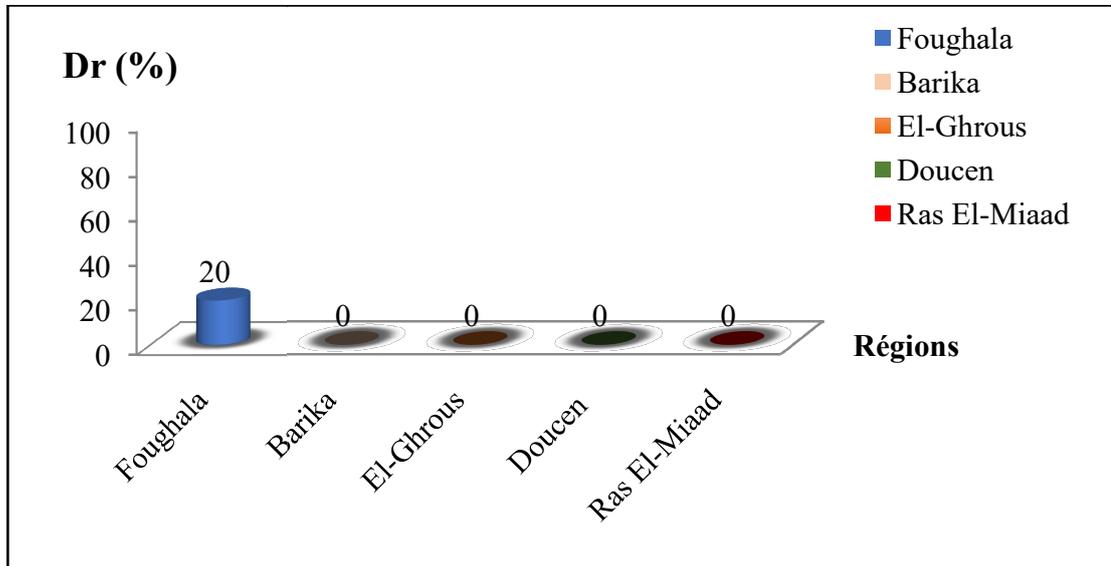


Figure 13. Densité relative du genre *Alternaria* dans tous les échantillons des fermes analysées.

B. La fréquence d'isolement (FR%) :

En termes de fréquence d'isolement (Fr%), le genre *Aspergillus* a été fortement marqué dans tous les aliments de bétails analysés, avec une fréquence d'isolement de 60%. En revanche, les aliments analysés de la ferme **Doucen** et **Ras El-Miaad** sont dépourvus de toute contamination par le genre *Aspergillus* (Figure 14).

Le genre *Rhizopus* a été marqué dans la moitié des aliments de bétails analysés, avec une fréquence d'isolement de 40%. Les aliments de bétail collectés des fermes suivantes : **Barika**, **El-Ghrous**, **Foughala** sont dépourvus de toute contamination par le genre *Rhizopus* (Figure 14).

Un autre genre minoritaire, d'un point de vue fréquence d'isolement, a été également identifié : *Alternaria* (Figure 14).

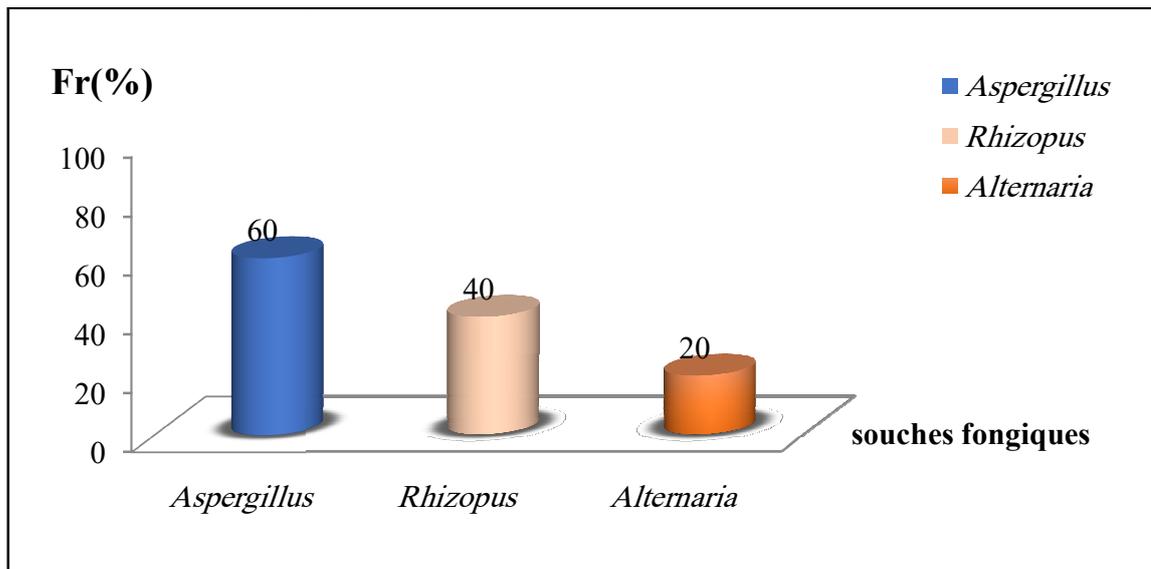


Figure 14. Fréquence d'isolement des genres de moisissures isolés à partir des échantillons des aliments de bétail.

4.2.2. Les moisissures de lait de vache

Dans la présente étude, nous avons pu identifier 08 souches fongiques appartenant à quatre genres fongiques : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*. Les souches ont été isolées à partir du lait de vache cru, collecté de différentes fermes de la région de **Biskra et Batna**.

Les genres ont été classés par ordre décroissant de prédominance comme suit : *Aspergillus* (3 souches fongiques : 1 souche à **Foughala**, 1 souche à **El-Ghrous**, 1 souche à **Ras El-Miaad**), *Alternaria* (2 souches fongiques à **Ras El-Miaad**), *Penicillium* (2 souches fongiques à **Ras El-Miaad**), *Fusarium* (une souche fongiques à **El-Ghrous**).

Les souches fongiques isolées à partir des échantillons de lait cru de vache des 5 fermes sont représentées dans le tableau 05.

Tableau 5. Analyse mycologique des échantillons de lait cru de vache.

Genres Régions	<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	Nombre totale des souches fongiques isolées par échantillon
El-Ghrous	1	0	0	1	2
Foughala	1	0	0	0	1
Ras El-Miaad	1	2	2	0	5
Totale	3	2	2	1	8

4.2.2.1. La fréquence d'isolement et de densité relative de lait cru :**A. La densité relative :**

Les souches isolées appartiennent aux 4 genres fongiques, présentés dans l'ordre décroissant de prédominance comme suit: *Aspergillus* (37.5%), *Alternaria* (25%), *Penicillium* (25%) et *Fusarium* (12.5%).

Nous avons classé les genres isolés selon leur prédominance en :

- 1. Genres dominants :** *Aspergillus* (37.5%).
- 2. Genres moins dominants :** *Alternaria* (25%) ; *Penicillium* (25%).
- 3. Genre minoritaires :** *Fusarium* (12.5%).

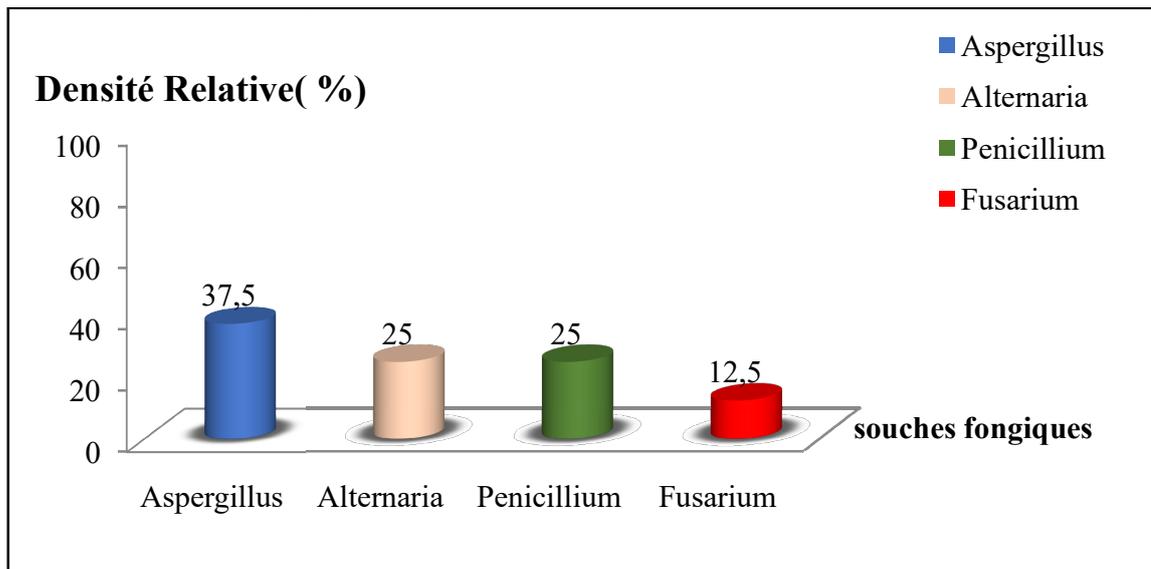


Figure 15. Densité relative des genres fongiques isolés de l'ensemble des échantillons de lait cru de vache.

❖ **Densité relative des échantillons du lait cru par ferme :**

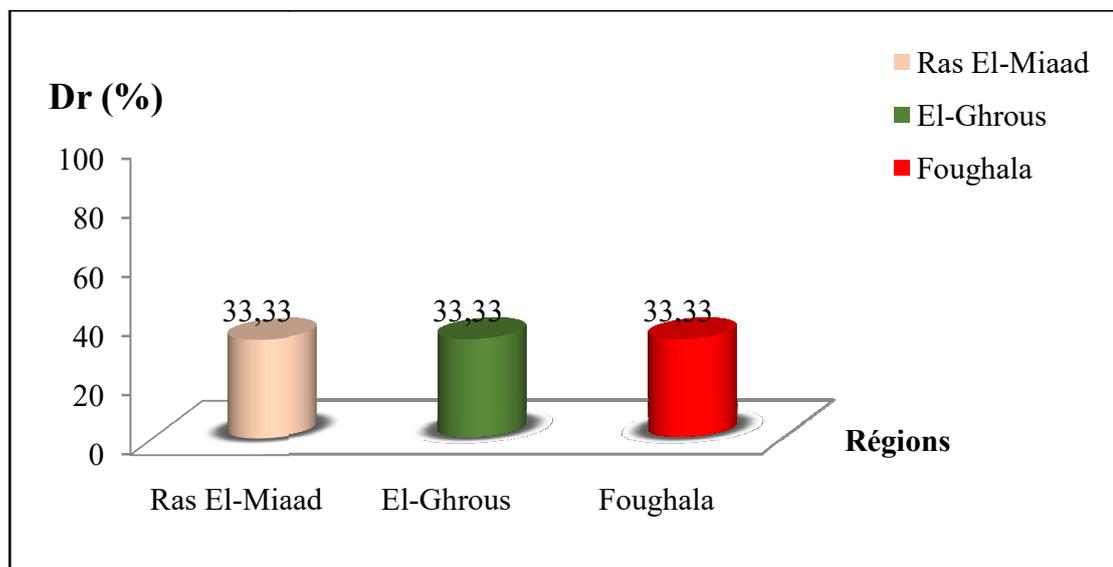


Figure 16. Densité relative du genre *Aspergillus* dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.

D'après la figure 16, la dominance des souches du genre *Aspergillus* est nettement claire dans le lait cru de vache collecté de trois fermes (**Foughala, El-Ghrous, Ras El-Miaad**) avec une densité relative de 33.33%.

D'autres genres présentent également des Dr importantes pour les aliments analysés de certaines fermes : *Alternaria* (Dr : 56.66% dans le lait cru de la ferme de **Ras El-Miaad**), *Penicillium* (Dr : 56.66% dans le lait cru de la ferme **Ras El-Miaad**), (Figure 17 et 18).

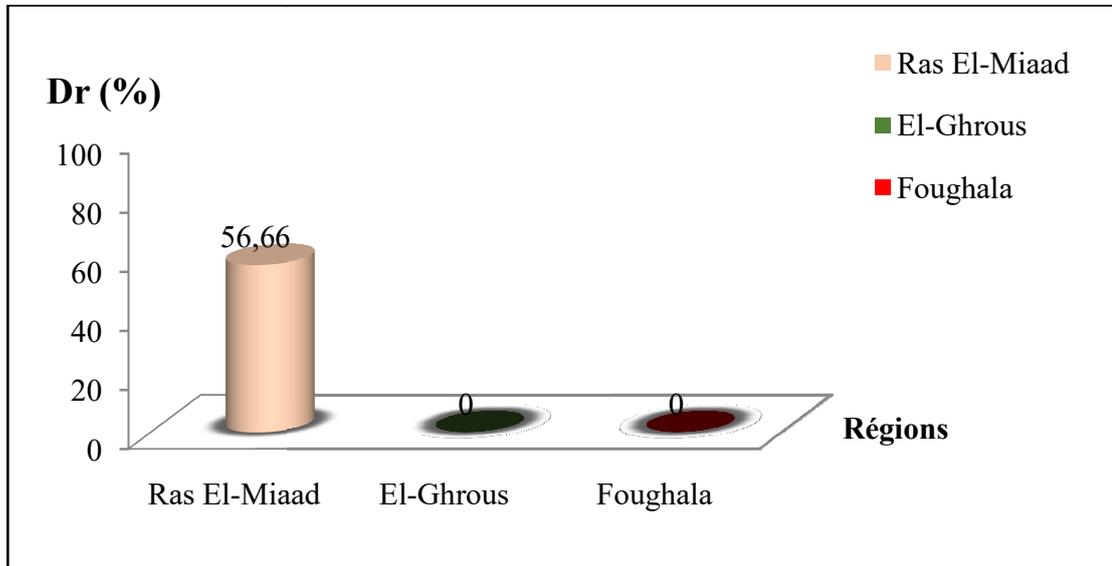


Figure 17. Densité relative du genre *Alternaria* dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.

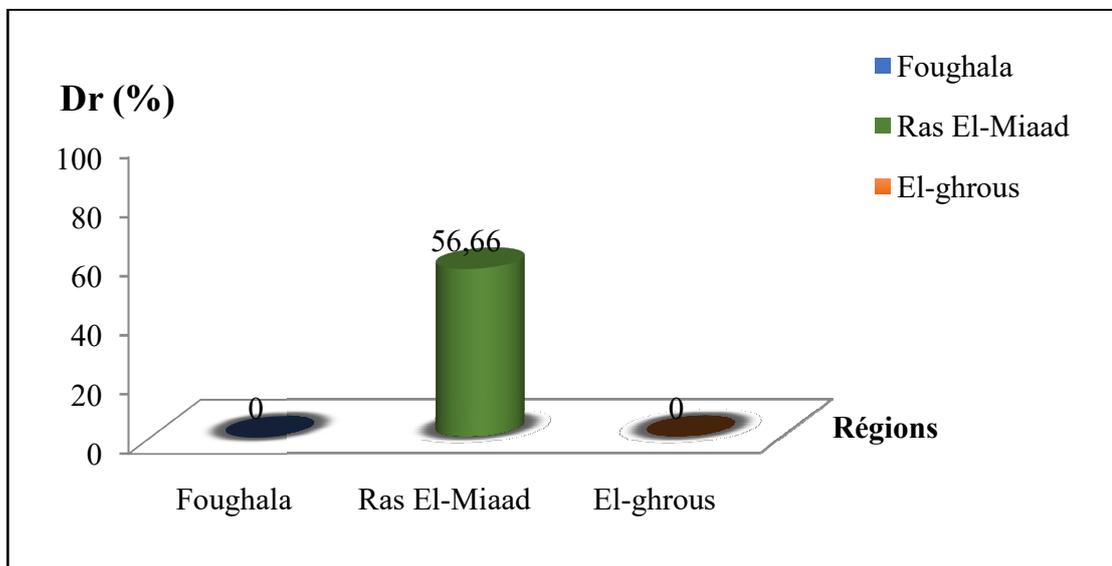


Figure 18. Densité relative du genre *Penicillium* dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.

D'après la figure 19 l'échantillon de lait cru de vache collecté d'**El-Ghrous** paraît être contaminé uniquement par le genre *Fusarium* avec une densité relative de 33.33 %.

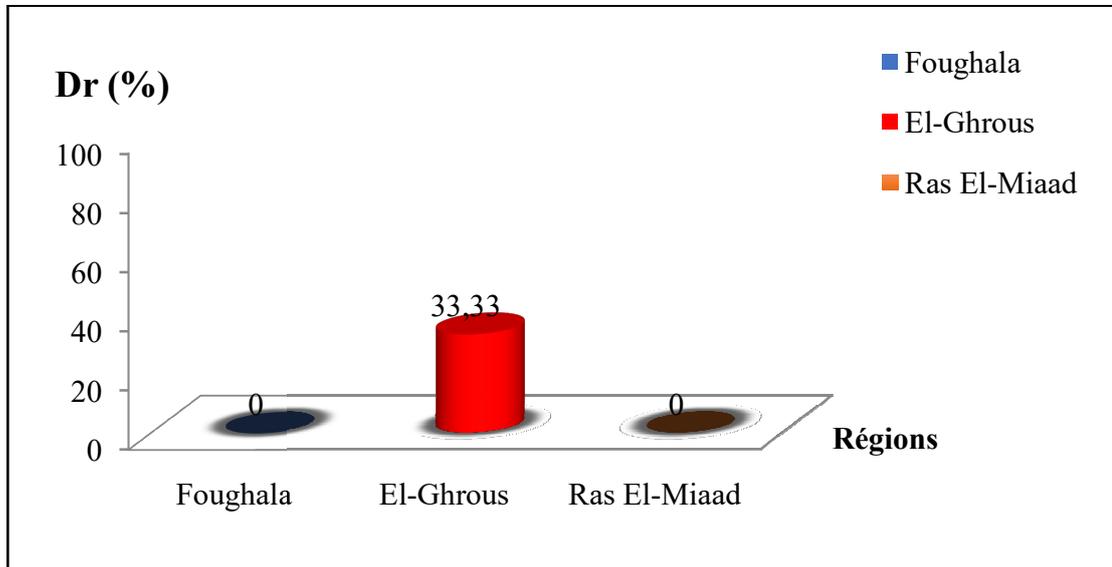


Figure 19. Densité relative du genre *Fusarium* dans tous les échantillons de lait cru de vache des fermes analysées.

B. La fréquence d'isolement (FR%) :

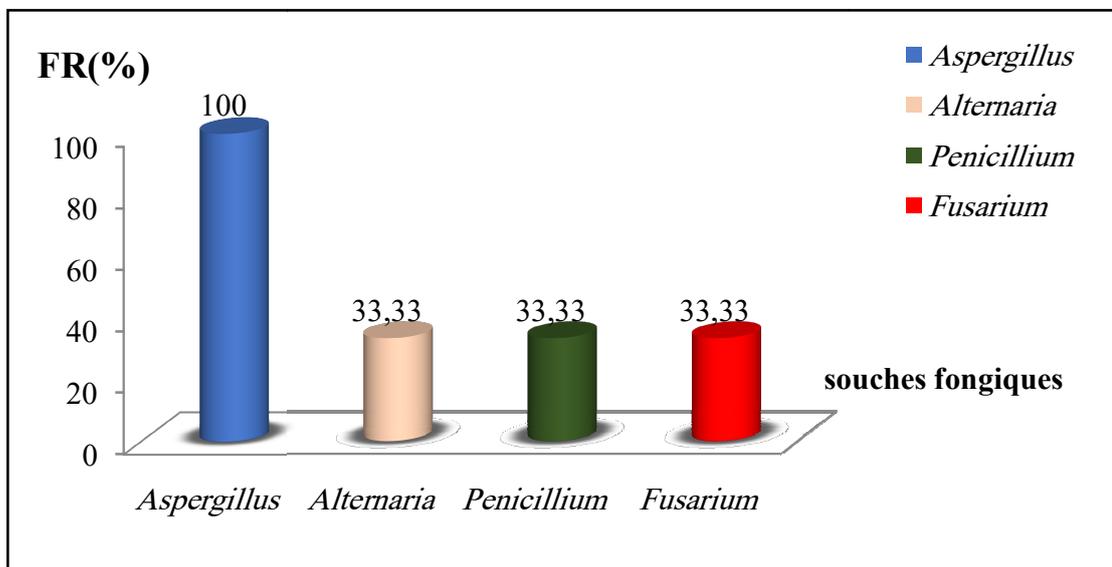


Figure 20 .fréquence d'isolement des genres de moisissures isolés à partir des échantillons de lait cru de vache.

Le genre *Aspergillus* a été fortement marqué dans tous les échantillons de lait cru analysée avec une fréquence d'isolement de 100%, alors que la FR pour *Alternaria*, *Penicillium* et *Fusarium* est de 33.33%.

En revanche le lait cru analysé des fermes d'**El-Ghrous** et **Foughala** sont dépourvus de toute contamination par les genres *Alternaria* et *Penicillium*, et **Foughala**, **Ras El-Miaad** sont dépourvus de toute contamination par le genre *Fusarium*.

Le lait cru de vache des fermes **Barika** et **Doucen** sont dépourvus de toute contamination par les moisissures.

Discussion de l'analyse mycologique :

Les résultats obtenus ont montré que l'ensemble des aliments étudiés étaient contaminés. Au total, 10 souches fongiques ont pu être isolées, avec une densité variable suivant l'aliment considéré.

D'après nos résultats, *Aspergillus* est le genre le plus fréquent et le plus dominant dans les échantillons analysés de l'aliment de bétail. La haute fréquence et l'abondance d'*Aspergillus* pourraient être dues aux pratiques agricoles non scientifiques et inadéquates, à une piètre qualité des aliments pour animaux, ainsi qu'à de mauvaises conditions de stockage (Redouane-Salah, 2016).

Les aliments de bétail constituent un excellent substrat pour les moisissures. Ces dernières sont connues comme étant une source de toxines pouvant avoir un effet nuisible, ce qui peut réduire l'état de santé du troupeau, et par conséquent, il est possible que la toxine se retrouve dans des produits de l'animal, comme le lait ou la viande, destinés à la consommation humaine (Trevor, 2012).

Les genres *Aspergillus* et *Rhizopus* sont connues comme des moisissures de stockage et les genres *Alternaria*, *Fusarium* sont des moisissures de champs (Redouane Salah, 2016).

D'après les résultats de la présente étude trois échantillons sur cinq de lait cru de vache ont été contaminés par des moisissures.

Selon Boubezari, (2010), Les germes du lait peuvent être des moisissures, des levures ou des bactéries.

Selon Tabuc (2007) le lait et les produits laitiers sont beaucoup plus sensibles aux contaminations fongiques. Les espèces qui peuvent les contaminer appartiennent aux genres *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*.

Les principales sources de contamination fongique du lait cru de vache selon Boubezari, (2010), sont :

1. L'état d'hygiène du trayeur : le trayeur malpropre et vêtu d'habits poussiéreux et sales est une cause supplémentaire de contamination fongique. La présence de germes pathogènes d'origine humaine a été souvent mise en évidence dans le lait.

2. L'état de l'animal : Les saletés se trouvant dans le lait proviennent le plus souvent de la chute, au moment de la traite, de particules d'excréments, de terre, de végétaux ou de litière, attachées à la peau de l'animal et aussi des poils et des cellules épithéliales.

3. La qualité de l'eau : les eaux impures servant au rinçage des récipients et des machines peuvent être la cause de contaminations très gênantes.

4. L'atmosphère des étables est souvent chargée de germes provenant des excréments, de la paille et des aliments. Ces germes sont véhiculés sous forme de poussière qui se dépose peu à peu.

5. La machine à traire mal nettoyée et mal séchée est certainement une source de contamination d'une importance considérable.

Conclusion

Conclusion

Dans notre travail, la qualité physico-chimique du lait cru de vache a été étudiée et nous avons essayé de caractériser la flore fongique contaminant le lait de vache cru et l'aliment de bétail, collecté de différentes régions à Biskra et Batna.

Il ressort de nos résultats que la plus part des paramètres analysés répondent aux normes et que le meilleur taux protéique appartient aux laits des fermes (**Barika, El-Ghrous, Foughala**). Et le plus faible taux appartient aux laits des fermes (**Ras El-Miaad, Doucen**).

On peut dire que le régime alimentaire a une importance dans la détermination de la qualité nutritionnelle du lait de vache.

D'après les résultats obtenus de l'étude mycologique, nous avons pu conclure ce qui suit :

-deux échantillons dépourvus de toute contamination par les moisissures présentés par les échantillons de lait collectés des fermes suivantes : **Doucen, Barika**, et 3 échantillons contaminés par des souches de moisissures (**Ras El-Miaad, El-Ghrous, Foughala**). Huit (8) souches fongiques ont été isolées appartenant aux genres suivants : *Aspergillus, Alternaria, Penicillium et Fusarium*.

-l'ensemble des aliments de bétail étudiés étaient contaminés par les moisissures. Au total dix (10) souches fongiques ont été isolées appartenant aux genres suivants : *Aspergillus, Alternaria, Rhizopus*.

Nous remarquons que les échantillons prélevés à partir d'aliments de bétail sont plus contaminés que les échantillons à partir du lait cru de vaches laitières.

Conseils :

Pour éviter le problème de la qualité nutritionnelle et la contamination il faut :

- instaurer une politique de qualité
- la vulgarisation des bonnes pratiques d'élevage
- insister sur la propreté des animaux, de leur environnement immédiat et la salubrité de la traite :

-Nettoyer le trayon avant le prélèvement, avec de l'eau pour éliminer les fragments adhérents à la peau.

-Éliminer les premiers jets.

-Se rincer les mains avec de l'eau javellisée, après chaque passage d'une vache à l'autre.

Bibliographie

Bibliographie

1. ABDELLAOUI R. 2007. Obtention et Caractérisation d'un Enzyme Coagulation le lait d'*Aspergillus niger* isolé sur de la région de Boumerdes. Mémoire de Magister .option : Technologie Alimentaire, Université M'hamed Bougarra de Boumerdes. Faculté des sciences de l'ingénieur, Boumerdes, p11.
2. AFNOR, 1985. Contrôle de la qualité des produits laitiers. Analyses physiques et. 3^{ème} édition, p107, 121-125.
3. AFNOR. 1999. Lait et produits laitiers. Volume 1 : lait. Edition AFNOR. 109-164pp.
4. ALAIS C. 1975. Sciences du lait principal des techniques laitières, 4ème édition, Paris maison rustique, 1, 814p.
5. ALAIS C. 1984. Science du lait, Principe des techniques laitières, 3eme édition. Paris, Tom 1 et 2, 807p.
6. ATOUI A-K. 2006. Approche de la mycotoxinogénèse chez *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius* : étude moléculaire et physiologique. Thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse, 1-10p.
7. BLACKWELL M., VILGALYS R., JAMES T-Y., TAYLOR J-W. 2012. Fungi. Eumycota: mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc.. Version 30 January 2012. <http://tolweb.org/Fungi/2377/2012.01.30> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>.
8. BONFOH B., FANE A., TRAORE N A., COULIBALY Z., SIMBE C., ALFAROUKH O I ., NICOLET J., FARAH Z., ZINSSTAG J. 2002. Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le descrit de Bamako au mali, 247p.
9. BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GUY P.H., LARPENT J.P., VEAU P. 1990. Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. 2ème édition : MASSON, (Paris). P : 26, 442.
10. BOUBEZARI M-T. 2010. Contribution a l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel. Mémoire de Magister en médecine Vétérinaire, Université Mentouri, Constantine, pp 2, 24, 28.
11. BOUDIH S. 2011. Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de Doctorat, l'Université Paris EST.185p.
12. CAGHANIER B. (1998). Moisissures des aliments peu hydratés collection Sciences et techniques agroalimentaires. Lavoisier Tec et Doc.pp : 39.

13. CROGUENNEC T., JEANTET R., BRULE G. 2008. Fondements physicochimiques de la technologie laitière. Edition Lavoisier, pp 6-7.
14. DEFORGES J, DERENS E, ROSSET R ET SERRAND M. (1999). Maitrise de la chaine du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition : Cemagref. Tec et Doc, Paris.108p.
15. DENDOUGA W.2006. Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Thèse de magistère, Université Mentouri, Constantine ,80p.
16. FAO. (2007).Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine [http //www.fao.org/docrep.T4280F.htm](http://www.fao.org/docrep/T4280F.htm).
17. FRAINWORTH E. ET MAINVILLE I. 2010. Les produits laitiers fermentés et leurs potentiels thérapeutiques. Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe.
18. GUIRAUD J.P.1998.Microbiologie alimentaire .Edition Dunod, Paris, pp.98-100.
19. KIZI N. ET MAKDOUD S.2014. Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait cru collecté au niveau de deux régions Akbou et SidiAich (Bejaia). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Génie Biologique, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, 1-14p.
20. LABIOUI H., LAAROUCI E., BENZAKOUR A., EL YACHIOUI M., BERNY E., OUHSSINE M. 2009. Etude physico-chimique et microbiologique de laits crus. Edition : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 148 :7-16.
21. LEROY. (1965). Le producteur du lait «guide du contrôle laitier et beurrier agrude».
22. MATHIEU J. (1998), Initiation à la physicochimie du lait, Lavoisier TEC&DOC, Paris, 220p.
23. NDIAYE M. 1991. Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus, laits caillés, laits en poudre et laits caillés commercialisés dans la région de Dakar, Sénégal. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Cheikh Antadiop- Dakar. 218p.
24. NICKLIN J., GRAEME-COOK K., PAGET T., KILLINGTON R. (2000). L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. P: 210-216.

-
25. NGUYEN M.2007. Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam- Etude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse de doctorat, Vietnam, 145p.
26. PRESCOTT L-M., HARLEY J-P., KLEIN D-A. 2007. Microbiologie. 2ème édition française. Edition : DE BOECK, Bruxelles, 553- 558 p.
27. REDOUANE-SALAH S.2016. Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache : étude comparative aux laits pasteurisés et lyophilisés. Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri- Constantine, 96p.
28. SAKHRI A.2012.Isolement des mycètes producteurs de la stérigmatocystine à partir d'aliment (maïs) et étude de son effet toxique sur Wistaralbinos. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Biochimie, Université Mentouri, Constantine, p20.
29. SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHMJ M., BELHADJ O. 2009. Comparaison de la composition physico-chimique du lait camelin et bovin du Sud Tunisien. 35 Variation du pH et de l'acidité à différentes températures. Edition : Afrique Sciences, p297.
30. TABUC C. 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat, l'Université de Bucarest, 190p.
31. VEISSERY. (1975). Technologie du lait .constituants, récolte traitement et transformation du lait. Edition. Maison rustique. Paris. pp : 112-133.
32. VIERLING E. (1998).Aliments et boissons filières et produits biosciences. Edition. Dion. Paris.278p.
33. VIERLING E. (2003). Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, dion éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. 270p.
34. VIGNOLA C. 2002. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal. p70.
35. VIGNOLA C.L2010.Science et technologie du lait: transformation du lait, vol.8585, Québec, Canada.600 p.
36. WATTIAUX M.A. (1997), Dairy essentials (1st edition): Nutrition and feeding, the Babcock Institute Publications, University of Wisconsin-Madison, 1-28

Annexes

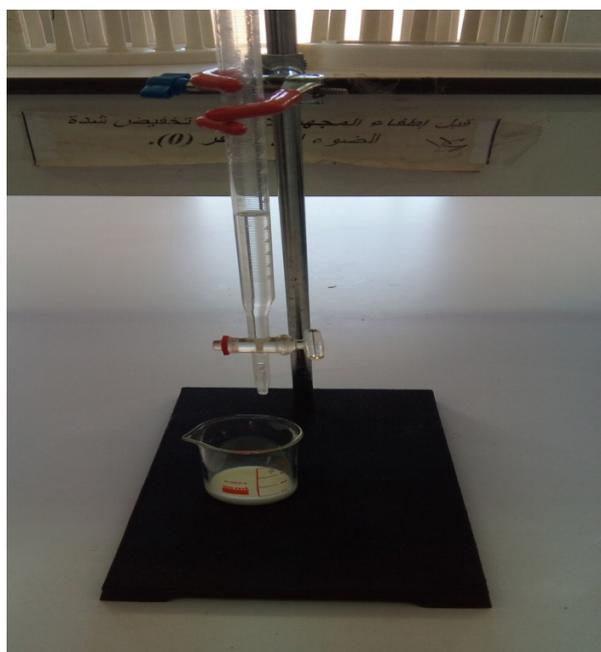
Annexe 01:détermination de l'acidité :

- Acidité ionique (pH)



pH mètre (HANNA)

- Acidité titrable



Annexe 02 : Composition de milieu de culture utilisé

➤ PDA (Potato dextrose agar)

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200gr de pomme de terre. Les mettre dans 700ml d'eau distillée et porter à ébullition. Ensuite, filtrer et compléter jusqu'à 1 litre.

Extrait de pomme de terre (200g).....	1L
Agar-agar.....	20g
Sucrose	15g
pH	5-6

Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم الجودة الفطرية والغذائية لعلف الماشية وحليب الأبقار الخام الذي تم جمعه من مزارع مختلفة في منطقة بسكرة وبريكة.

من خمس (5) عينات تغذية تحتوي على ثلاث أنواع من العفن: تم عزل *Aspergillus, Rhizopus, Alternaria* ومن ثلاثة (3) عينات من حليب الأبقار الخام أربعة أنواع من العفن *Aspergillus, penicillium, Alternaria, Fusarium*.

وفقاً لنتائجنا، وجدنا أن معدل تلوث الأعلاف أعلى من معدل تلوث الحليب الخام.

حليب خمس مزارع بشكل عام، ذو جودة فيزيائية كيميائية جيدة خاصة فيما يتعلق بمعدل البروتين الذي يظهر قيم جيدة للغاية، مما يعكس صحة جيدة للأبقار وممارسات التربية الجيدة بما في ذلك تغذية الأبقار في 5 مزارع.

تتأثر جودة الحليب الخام بعدة عوامل: الحالة الصحية، صحة الحيوان وعمره، طريقة التغذية، الظروف المناخية.

الكلمات المفتاحية: العفن، علف الماشية، حليب البقر الخام، معدل البروتين، الجودة الغذائية.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'évaluation de la qualité mycologique et nutritionnelle des aliments de bétail et lait cru de vache collecté de différentes fermes de la région de Biskra et de Barika .

À partir de cinq (5) échantillons d'aliments de bétail nous avons pu isoler 3 genres de moisissures : *Aspergillus, Rhizopus* et *Alternaria*, et à partir de trois (3) échantillons sur cinq de lait cru des vaches nous avons pu isoler quatre genres de moisissures : *Aspergillus, Penicillium, Alternaria* et *Fusarium*. D'après les résultats de la présente étude nous avons constaté que le taux de contamination des aliments de bétail est plus élevé que celui de lait cru.

Le lait de cinq 5 fermes, présente d'une façon générale, une bonne qualité physico-chimique surtout en ce qui concerne le taux protéique (TP) qui montre de très bonnes valeurs, ce qui reflète une bonne santé des vaches et de bonnes pratiques d'élevage, notamment l'alimentation donnée aux vaches laitières dans les 5 fermes. La qualité du lait cru est influencée par une multitude de facteurs : condition d'hygiène, état de santé et l'âge de l'animal, mode d'alimentation, conditions climatiques.

Mots clé : moisissures, aliments de bétail, lait cru des vaches, taux protéique, qualité nutritionnelle

Summary

The objective of this work is the assessment of the mycological and nutritional quality of livestock feed and cow raw milk collected from different farms in the Biskra and Barika region.

From five (5) cattle feed samples we were able to isolate three kinds of mold: *Aspergillus, Rhizopus, Alternaria*, and from three (3) out of five samples of raw milk from cows we were able to isolate four kinds of molds: *Aspergillus, Penicillium, Alternaria, and Fusarium*. According to our results we have found that the contamination rate of feed is higher than that of raw milk.

The milk of five farms in general, a good physicochemical quality especially with regard to the protein level (TP) which shows very good values, which reflects a good health of cows and good practices. Rearing, including the feeding of dairy cows on the 5 farms. The quality of raw milk is influenced by a multitude of factors: hygienic condition, health and age of the animal, feeding method, climatic conditions.

Key words: mold, cattle feed, raw milk from cows. , protein level, nutritional quality.