

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار-عنابة

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE



Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT EN
SCIENCES

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Caractérisation biochimique et évaluation de la qualité
microbiologique d'un fromage artisanal « *Jben* » fabriqué
dans les régions de l'est Algérien.**

Présentée par :
Mr. TABET Rachid

Directeur de thèse Mr. MECHAI Abdelbasset Pr Université Echahid Cheikh LARBI
Tébessi – Tébessa
Co-directeur de thèse Mr. BRANES Zidane Pr Université BADJI-Mokhtar –Annab.

Membres de Jury :

Présidente Mme. SAOUDI Amel Pr Université BADJI-Mokhtar –Annaba
Examinatrice Mme. AOUACHERI Ouassila Pr Université BADJI-Mokhtar –Annaba
Examineur Mr. HOUHAMDI Moussa Pr Université 8 mai 1945 –Guelma
Examineur Mr. MERZOUG Seyf Eddine MCA Centre universitaire ABDELHAFIDH
Boussouf –Mila

Année Universitaire : 2023-2024

Table des matières

Liste des abréviations	VI
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	IX
Introduction	I
Chapitre 1. Cadre Théorique	6
1 Aperçu historique des fromages artisanaux	6
2 La production fromagère	8
2.1 Prétraitement du lait pour la fabrication du fromage	8
2.1.1 La Thermisation	8
2.1.2 La pasteurisation	8
2.1.3 L'homogénéisation	9
2.1.4 La standardisation	9
2.2 La coagulation	10
2.2.1 La Coagulation par voie acide	11
2.2.2 La Coagulation mixte	11
2.2.3 Coagulation par voie enzymatique	12
2.2.3.1 Coagulation par enzyme d'origine animale	12
2.2.3.2 Coagulation par enzyme d'origine végétale	14
2.2.3.3 Coagulation par enzyme d'origine microbienne.	17
2.2.4 Principaux facteurs influençant la coagulation du lait	19
2.2.4.1 La composition du lait	19
2.2.4.1.1 La teneur en protéines	19
2.2.4.1.2 La teneur en calcium	20
2.2.4.1.3 Le pH	20
2.2.4.1.4 La matière grasse	21
2.2.4.2 La concentration d'enzymes	21
2.2.4.3 La température	22
2.2.4.4 Chlorure de calcium, stockage à froid, variantes génétiques des protéines et cellules somatiques	22
2.3 Égouttage	23
2.4 Salage	23
2.5 L'affinage	24

3	Microbiologie du fromage.....	25
3.1	Principaux microorganismes du fromage.....	26
3.1.1	Bactéries	26
3.1.1.1	Les bactéries lactiques starters (BLS)	26
3.1.1.2	Les bactéries lactiques non starters (BLNS)	27
3.1.1.3	Propionibactéries	28
3.1.1.4	Microcoques, Staphylocoques et Bactéries corynéformes	28
3.1.2	Les levures.....	28
3.1.3	Les moisissures	29
3.2	Facteurs affectant la croissance microbienne.....	29
3.2.1	L'activité de l'eau (AE).....	29
3.2.2	Le sel	30
3.2.3	Le pH.....	30
3.2.4	Les acides organiques.....	30
3.2.5	La température.....	31
3.2.6	Potentiel d'oxydo-réduction.....	31
4	Principaux fromages traditionnels algériens	32
4.1	Les fromages fondus	32
4.1.1	<i>Medghissa</i>	32
4.2	Les fromages affinés :	32
4.2.1	<i>Bouhazza</i>	32
4.3	Les fromages à pâte dure.....	33
4.3.1	<i>Klila</i>	33
4.3.2	<i>Takemmart</i>	34
4.3.3	<i>Ioulsân (Aoules)</i>	34
4.4	Les fromages frais	34
4.4.1	<i>Michouna (Chnina)</i>	34
4.4.2	<i>Kemariya (Takmmèrit)</i>	35
4.4.3	<i>Jben</i>	35
	Chapitre 2. Matériels et méthodes	37
1	Plan de l'étude.....	37
2	Cadre d'étude	37
3	Objectifs du travail.....	38
4	Matériels.....	38

4.1	Prélèvement et transport d'échantillons.....	38
4.2	Préparation des agents de coagulation	39
5	Méthodes.....	39
5.1	Fabrication du fromage	39
5.2	Analyses	40
5.2.1	Analyses physico-chimiques du fromage.....	40
5.2.1.1	Détermination du pH.....	40
5.2.1.2	Acidité titrable.....	41
5.2.1.3	Teneur en matière sèche	41
5.2.1.4	Teneur en cendres.....	41
5.2.1.5	Activité de l'eau (AE).....	41
5.2.1.6	Teneur en matière grasse.....	41
5.2.1.7	Teneur de l'azote total.....	42
5.2.2	Analyses biochimiques du fromage	43
5.2.2.1	Analyse des acides gras par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse (CG-MS).....	43
5.2.2.1.1	Extraction de la matière grasse	43
5.2.2.1.2	Préparation des esters méthyliques	43
5.2.2.1.3	Analyse des esters méthyliques par GC-MS.....	44
5.2.2.2	Les indices de qualité lipidique.....	44
5.2.2.2.1	Indice d'Athérogénicité (IA)	45
5.2.2.2.2	Indice de thrombogénicité (IT)	45
5.2.2.2.3	Acides gras désirables ou hypocholestérolémiant (AGh)	45
5.2.2.2.4	Acides gras hypercholestérolémiant (AGH)	45
5.2.2.2.5	Rapport hypocholestérolémique et hypercholestérolémique (H/h)	46
5.2.2.3	Détermination de la teneur en minéraux	46
5.2.2.3.1	Dosage du K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu et Mn par spectrométrie d'absorption atomique (SAA).....	46
5.2.2.3.2	Dosage du phosphore par colorimétrie	46
5.2.2.4	L'électrophorèse sur gel urée-polyacrylamide (Urée-PAGE).....	47
5.2.2.4.1	Préparation de l'échantillon	47
5.2.2.4.2	Préparation des gels	47
5.2.2.4.3	Électrophorèse	48
5.2.3	Analyses microbiologique du fromage	49

5.2.3.1	Dénombrement des principaux groupes microbiens	49
5.2.3.1.1	Flore totale aérobie mésophile (FTAM)	49
5.2.3.1.2	Coliformes totaux et fécaux (CT, CF)	49
5.2.3.1.3	Les staphylocoques à coagulase positive (SCP)	49
5.2.3.1.4	<i>Salmonella spp</i>	50
5.2.3.1.5	Levures et moisissures (LM)	50
5.2.3.1.6	Bactéries lactiques (BL).....	50
5.2.4	Analyses statistiques	50
Chapitre 3. Résultats et discussion		52
1	Caractéristiques physicochimiques du fromage frais (<i>Jben</i>).....	52
1.1	pH	52
1.2	L'acidité	53
1.3	La matière sèche	54
1.4	La matière grasse.....	55
1.5	Les protéines	55
1.6	Les cendre	56
1.7	L'activité de l'eau.....	57
2	Interrelations entre les paramètres physico-chimiques du fromage	58
3	La fraction minérale	61
3.1	Principaux éléments	62
3.1.1	Calcium (Ca)	62
3.1.2	Phosphore (P)	63
3.1.3	Potassium (K).....	64
3.1.4	Sodium (Na)	65
3.1.5	Magnésium (Mg).....	66
3.2	Oligo-éléments	67
3.2.1	Zinc (Zn)	67
3.2.2	Cuivre (Cu).....	68
3.2.3	Manganèse (Mn)	68
3.2.4	Fer (Fe).....	69
4	Composition des acides gras du fromage.....	70
5	Indices de qualité lipidique	79
6	La protéolyse	81
7	Analyses microbiologiques	84

7.1	Flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	85
7.2	Coliformes totaux et fécaux	86
7.3	Staphylocoques à coagulase positive et <i>Salmonella spp</i>	87
7.4	Levures et moisissures	89
7.5	Bactéries lactiques	90
8	Interrelations entre les groupes microbiens du fromage	91
9	Analyse en Composante Principale (ACP)	96
	Conclusion et perspectives	101
	Résumés	142
	Références bibliographiques	110
	Annexes	138

Liste des abréviations

AC	Acidité
ACL	Activité de coagulation du lait
ACP	Analyse en composantes principales
AE	Activité d'eau
AGCC	Acides gras à chaîne courte
AGCL	Acides gras à chaîne longue
AGCI	Acides gras à chaîne impaire
AGCM	Acides gras à chaîne moyenne
AGh	Acides gras hypocholestérolémiques
AGH	Acides gras hypercholestérolémiques
AGI	Acides gras insaturés
AGMI	Acides gras monoinsaturés
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AGS	Acides gras saturés
AOAC	Association of Analytical Chemists International
ANOVA	Analyse de la variance
AP	Activité protéolytique
Arg	Arginine
AT	Azote total
BL	Bactéries lactiques
Ca	Calcium
CCS	Concentration de cellules somatiques
CE	Cendre
CF	Coliformes fécaux
CT	Coliformes totaux
Cu	Cuivre
D	Densité
°D	Dornic
Eh	Electrode à hydrogène
EMAG	Esters méthyliques d'acides gras
Fe	Fer
FPA	Fromage à base de la présure animale
FPV	Fromage à base de la présure végétale
FTAM	Flore totale aérobie mésophile
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GMP	Glycomacro-peptide
J.-C	Jésus-Christ
K	Potassium
HDL	Lipoprotéine de haute densité
H/h	Le rapport des AG hypocholestérolémiques et hypercholestérolémiques
His	Histidine
IA	Indice d'athérogénicité
IDF	International Dairy Federation
ISO	International Standardization Organization
IT	Indice de thrombogénicité
Leu	Leucine
LM	Levures et moisissures
Lys	Lysine

M	Masse
MCV	Maladies cardiovasculaires
Mg	Magnésium
MG	Matière grasse
min	Minute
ml	Millilitre
Mn	Millimètre
Mn	Manganèse
MRS	Man Rogosa et Sharp
MS	Matière sèche
m/z	Ratio masse/charge d'un ion
N	Normalité
Na	Sodium
NIST	National Institute of Standards and Technology
Nm	Nanomètre
OMS	Organisation mondiale de la santé
P	Phosphore
PAs	Protéases aspartiques
PCC	Phosphate de calcium colloïdal
PCs	Protéases à cystéine
Phe	Phényle
PR	Protéine
PSs	Protéases à sérine
P-valeur	Valeur de probabilité
SCA	Sabouraud au chloramphénicol
SCP	Staphylocoques à coagulase positive
Spp	Plusieurs espèces
TEMED	Tétraméthyléthylènediamine
Thr	Threonine
TIC	Total ion current
Tris	Trishydroxyméthylaminométhane
Trp	Tryptophane
Tyr	Tyrosine
Ufc	Unité formant <i>colonie</i>
VRBL	Violet Red Bile Lactose Agar
XLD	Xylose lysine désoxycholate
Zn	Zinc

Liste des figures

Figure 1. Illustration schématique de la coagulation du lait.....	10
Figure 2. Micelle de caséine native avec une caséine κ intacte fournissant une charge et une stabilisation stérique contre l'agrégation (A), et des micelles de caséine qui ont perdu le glycomacropeptide de la caséine κ en raison de l'hydrolyse induite par la présure (B).....	13
Figure 3. Dégradation des caséines par l'enzyme de coagulation et développement de peptides amers. ACL = activité de coagulation du lait, AP = activité protéolytique .	15
Figure 4. Diagramme de la préparation du fromage traditionnel (<i>Jben</i>).....	40
Figure 5. Variation des principaux paramètres physico-chimiques du fromage <i>Jben</i> fabriqué à l'aide de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal).....	52
Figure 6. Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques analysés dans le fromage <i>Jben</i> fabriqué à partir de la présure animale..	58
Figure 7. Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques analysés dans le fromage <i>Jben</i> fabriqué à partir du coagulant végétal.	60
Figure 8. Chromatogramme de la séparation obtenue de l'échantillon de fromage à base de la présure végétale (graphique du haut) et de l'échantillon de fromage à base de la présure d'agneau (graphique du bas).....	72
Figure 9. Électrophorèse sur gel d'urée-polyacrylamide de la fraction insoluble à pH 4,6 d'échantillons du fromage frais à la présure animale (FPA) et au coagulant végétal (<i>Cynara cardunculus</i>).....	81
Figure 10. La matrice de corrélation représentant la distribution des micro-organismes dans les échantillons le fromage traditionnel (FPA).....	92
Figure 11. La matrice de corrélation représentant la distribution des micro-organismes dans les échantillons le fromage traditionnel (FPV).....	93
Figure 12. Cercle de corrélations entre les variables et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales dans le FPV.	97
Figure 13. Cercle de corrélations entre les variables et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales dans le FPA.	99

Liste des tableaux

Tableau 1: Valeurs-p entre les paramètres physico-chimiques du fromage fabriqué à base de la présure animale (FPA).....	59
Tableau 2: Valeurs-p entre les paramètres physico-chimiques du fromage fabriqué à base de coagulant végétal (FPV).....	60
Tableau 3: Les teneurs moyennes des principaux éléments et Oligo-éléments présents dans les fromages frais traditionnels (FPA et FPV).	62
Tableau 4: Teneur en acides gras des fromages traditionnels (% des acides gras totaux).....	71
Tableau 5: Indices de qualité lipidique du fromage <i>Jben</i> préparé à base de la présure d'agneau et du coagulant végétal à base du <i>Cynara cardunculus</i>	79
Tableau 6: Résultats microbiologiques de l'évaluation de la qualité microbienne des fromages traditionnels frais (FPA et FPV).....	84
Tableau 7: Les valeurs-p entre les micro-organismes pour le fromage à base de la présure animale (FPA).	92
Tableau 8: Les valeurs-p entre les micro-organismes pour le fromage à base de la présure végétale (FPV).....	94
Tableau 9: Matrice de corrélations entre les différentes paires de caractères mesurées dans le FPV ; coefficients de corrélation (au-dessous de la diagonale) et probabilité (au-dessus de la diagonale).	143
Tableau 10: Matrice de corrélations entre les différentes paires de caractères mesurées dans le FPV ; coefficients de corrélation (au-dessous de la diagonale) et probabilité (au-dessus de la diagonale).	144
Tableau 11: Variation des principaux éléments et Oligo-éléments du fromage <i>Jben</i> fabriqué à partir de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal).....	145
Tableau 12: ANOVA testant la variation des valeurs des principaux groupes microbiens des fromages traditionnels frais (FPA et FPV).....	146

Introduction

Introduction

Introduction

La transformation et la conservation des aliments sont importantes pour accroître la disponibilité alimentaire pour la consommation humaine. La transformation des aliments comprend des méthodes mécaniques, chimiques et thermiques pour traiter les aliments afin de préserver leurs appétences, qualités nutritionnelles, organoleptiques et ses sécurités alimentaires. De plus, les désirs des consommateurs vont de la fraîcheur, au stockage à long terme, à l'absence de conservateurs chimiques et au prix raisonnable des aliments (Ben Braïek et Smaoui, 2021; Jaya Shankar, 2023). Pour répondre à toutes ces exigences, la transformation alimentaire vise à assurer la préservation des nutriments pour différer la consommation dans l'espace et dans le temps et à élargir les produits avec une large gamme de textures et de goûts pour répondre aux exigences sensorielles (Jeantet et al., 2007). Le lait fait partie de ces aliments qui nécessitent une transformation adéquate. Compte tenu de sa nature hautement périssable, car le lait commence à se détériorer environ quelques heures après la traite, il subit de nombreux traitements pour prolonger sa durée de conservation et donne une valeur ajoutée à la matière première, c'est pourquoi les habitants des zones rurales transforment le lait en plusieurs produits de manière traditionnelle (Mutwedu et al., 2018).

Les aliments traditionnels font partie du patrimoine de chaque peuple, et l'on se rencontre et vit des recettes, entourés d'un savoir-faire ancestral transmis de génération en génération, contribuent à préserver l'histoire, les habitudes et deviennent des éléments essentiels de notre identité. Parmi ces aliments, les fromages traditionnels, qui représentent l'une des variétés de fromages les plus importantes produites dans le monde (Fox et al., 2017 ; Hayaloglu et al., 2002 ; Irlinger et Mounier, 2009). Les fromages traditionnels, en particulier ceux produits à partir de lait cru, sont associés au territoire d'origine, ce qui leur confère des caractéristiques particulières mieux connues sous le nom de « facteurs de biodiversité ». Ces facteurs sont dus au climat, au type et à la composition végétale des pâturages naturels, à la race animale et à tous les aspects culturels et historiques caractérisant une zone géographique spécifique (Senoussi et al., 2022 ; Senoussi et al., 2021). La combinaison de tous ces facteurs conduit à produire un fromage typique, qui a le potentiel de se développer en une marque territoriale (Papademas et Bintsis, 2018).

En Algérie, la consommation de produits laitiers locaux, dont le fromage, est une tradition ancienne, mais elle est en train de disparaître en raison de l'industrialisation de la majorité des méthodes traditionnelles de préparation de nombreux produits indigènes. Aussi,

Introduction

l'exode rural a provoqué la disparition de traditions ancestrales comme la fabrication traditionnelle de ces produits (Medjoudj et al., 2020). Les fromages traditionnels algériens sont répartis en différentes classes dont : les fromages fondus (*Medghissa*), les fromages affinés (*Bouhazza*), les fromages à pâte dure (*Klila, Takammart*) et les fromages frais (*Ighounane, Mechouna, Jben*) (Leksir et al., 2019). Le *Jben* fait partie des variétés traditionnelles de fromage les plus connues, dont le mode de production reste encore utilisé aujourd'hui, et sa consommation augmente en raison de ses propriétés sensorielles et nutritionnelles agréables (Dahou et al., 2015). Bien que *Jben* soit un fromage traditionnel largement fabriqué et apprécié dans tout le pays, en particulier à l'Est, aucune donnée scientifique n'a été publiée concernant l'effet de divers coagulants sur ses caractéristiques et compositions. Les informations sur sa technologie de fabrication sont encore très limitées (Senoussi et al., 2022).

Le *Jben* est un fromage frais traditionnel, fabriqué à partir de lait cru de ruminant caillé par enzyme coagulante d'origine végétale ou animale après une étape d'acidification spontanée (Hayaloglu, 2017; Medjoudj et al., 2020). La coagulation enzymatique du lait est l'étape critique de la fabrication du fromage, et les types d'enzymes de coagulation du lait jouent un rôle important dans ce processus (Liu et al., 2021). L'effet de ces enzymes de coagulation du lait implique le clivage enzymatique de la κ -caséine au niveau de la liaison peptidique Phe105-Met106, conduisant à une déstabilisation des micelles de caséine qui induit la coagulation du lait. De plus, les enzymes de coagulation du lait ont une activité protéolytique plus importante envers les caséines- α s et β à des taux beaucoup plus faibles qu'avec la κ -caséine (Fogeiro et al., 2020). En conséquence, les agents de coagulation influencent l'agrégation micellaire, qui est un élément clé dans la définition des caractéristiques du caillé et de la fermeté finale du gel, qui peut affecter la teneur en humidité, la texture et la saveur du fromage (Gomes et al., 2019). Sachant que, la plupart des préparations enzymatiques utilisées pour la fabrication du fromage ont été extraites des estomacs de ruminants (veau, agneau), mais des coagulants issus de micro-organismes et de plantes ont également été utilisés très tôt (Maskey et Shrestha, 2020). Pour cette raison, outre les conditions de fabrication du fromage, il est essentiel de comprendre les modifications biochimiques et microbiologiques lors de la fabrication du fromage afin de produire un produit de haute qualité nutritionnelle et hygiénique (Hayaloglu, 2016).

D'autre part, étant donné que l'état nutritionnel et la santé des consommateurs de produits laitiers sont importants, il est important de déterminer le profil en acides gras du

Introduction

fromage (Kilcawley et Mannion, 2017). Le fromage est une source essentielle de graisses dans l'alimentation humaine car il contient une grande quantité de plusieurs acides gras (AG). D'un point de vue nutritionnel, diverses formes de fromage contiennent un pourcentage élevé de graisses digestibles, ce qui signifie que les globules gras sont plus petits. Sa digestibilité est comprise entre 88 et 94 % (Barac et al., 2018). Néanmoins, les acides gras saturés (AGS), le principal groupe d'AG présents dans le fromage, ont été associés à des maladies cardiovasculaires, conférant au fromage une réputation nutritionnelle négative. Cependant, plusieurs études suggèrent que les AGS sont l'un des facteurs responsables des maladies cardiovasculaires (MCV). À ce jour, il n'existe aucune preuve scientifique solide démontrant une relation causale entre les produits laitiers ou les matières grasses du lait et les maladies cardiaques (Kanekanian, 2014). De plus, les AG à chaîne courte, abondants dans le fromage, sont essentiels à la promotion de la santé humaine (anti-inflammatoire et prévient l'évolution des cancers du côlon et du sein) (Gómez-Cortés et al., 2018; Hanuš et al., 2018). Selon le type de lait utilisé et le procédé de fabrication, la composition et la teneur en groupes d'acides gras présents dans le fromage peuvent différer considérablement (Markiewicz-Kęszycka et al., 2013; Paszczyk et al., 2020).

Il existe une demande croissante des consommateurs pour le lait et les produits laitiers notamment les fromages artisanaux dans le monde entier ; en particulier pour ceux fabriqués à partir de lait cru ou non pasteurisé (Waldman et Kerr, 2018), en raison de sa richesse non seulement en protéines, en graisses et en vitamines, mais aussi en macroéléments tels que le sodium, le calcium et le phosphore. En plus des macroéléments, les fromages contiennent également des oligo-éléments tels que Zn, Fe, Cu et Mn (Altun et Paksov, 2020; Mendil, 2006). Les minéraux fournis par le fromage sont importants pour la santé des os et des dents (Bonjour et al., 2009; Walther et al., 2008). Environ 60 à 70 % de l'apport en Ca provient du lait et des produits laitiers, le fromage étant la principale source chez les adultes (Bonjour et al., 2009). Les minéraux, bien qu'ils représentent une faible proportion, ont également une forte influence dans la détermination des propriétés structurales et fonctionnelles des micelles de caséine, ainsi que sur la coagulation du lait, et les autres phases du processus de fabrication du fromage (Lucey et Fox, 1993; Stocco et al., 2021). La concentration en minéraux dans le fromage est variable et dépend non seulement de la composition du lait, mais également des procédures de fabrication notamment traditionnelles du fromage, de l'équipement utilisé dans tous les processus et du matériau d'emballage et les différentes méthodes de dosage des minéraux (Hrković-Porobija et al., 2021 ; Kalaycı et al., 2022 ; Levkova et al., 2017).

Introduction

Les fromages traditionnels produits à partir de lait cru présentent un écosystème microbien tridimensionnel hautement sélectif et dynamique de bactéries, levures et/ou moisissures jouant un rôle essentiel dans la transformation du lait, dans la production et la maturation des fromages, apportant une contribution importante au développement des propriétés organoleptiques uniques (à savoir texture, arôme et saveur) par rapport aux autres types de fromages grâce à leur métabolisme et diverses activités enzymatiques (Arias-Roth et al., 2022; Fox et McSweeney, 2017; Montel et al., 2014). Ces micro-organismes contribuent également à la sécurité microbiologique du fromage grâce aux effets barrières d'une microflore complexe et à la production de nombreux composés antimicrobiens (Grattepanche et al., 2008).

Malgré la présence de consortiums microbiens bénéfiques notamment les bactéries lactiques, le lait cru peut également abriter une série de micro-organismes pathogènes et d'altération qui peuvent, dans de bonnes circonstances, persister dans les fromages au lait cru. Ceux-ci incluent, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Mucor racemosus*, coliformes et autres (Fox et al., 2017 ; O'Sullivan et Cotter, 2017 ; Picon, 2017). Des bactéries pathogènes peuvent également accéder au fromage lors de sa fabrication en raison de mauvaises pratiques sanitaires et/ou d'hygiène. En conséquence, les agents pathogènes peuvent atteindre des niveaux tels qu'ils peuvent provoquer des maladies chez l'humain. Il est important pour les fromagers de gérer les risques microbiologiques lors de la fabrication du fromage afin de protéger la santé publique (Donnelly, 2018).

En fait, il existe très peu de recherches sur les fromages algériens, notamment le *Jben*, peu de données disponibles sur les propriétés biochimiques, la protéolyse, la fraction minérale et le profil des AG du *Jben* et son procédé de fabrication. Le but et la nouveauté de cette enquête était d'examiner, caractériser et de comparer l'effet de divers coagulants (d'origine animale et végétale) sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du fromage, la composition en macroéléments, également des oligo-éléments, la protéolyse primaire les profils des AG et les indices de qualité des lipides du fromage frais traditionnel "*Jben*".

De plus, cette étude visait à évaluer les interactions et la relation entre les paramètres physico-chimiques (pH, acidité titrable (AC), matière sèche (MS), matières grasses (MG), protéines (PR), cendres (CE) et l'activité de l'eau (AE)) et microbiologiques (Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à

Introduction

coagulase positive (SCP), *Salmonella*, des levures et moisissures (LM)), dans les fromages *Jben* fabriqués à partir de différents agents de coagulation du lait. En raison de l'importance du fromage dans l'alimentation humaine, cette étude comparative des composés du fromage *Jben* devrait approfondir notre compréhension de la valeur nutritionnelle des produits laitiers traditionnels.

L'objectif principal du travail était la fabrication, la caractérisation physico-chimiques, biochimique et microbiologique d'un fromage traditionnel frais (*Jben*) fabriqué à l'aide de deux agents de coagulation du lait (animal et végétal). Un autre objectif et la nouveauté de cette enquête était d'évaluer et de comparer l'effet de divers coagulants (d'origine animale et végétale) sur les paramètres physico-chimiques du fromage, les profils d'acides gras, les indices de qualité des lipides, protéolyse primaire, fraction minérale et caractéristiques microbiologiques du fromage frais traditionnel (*Jben*).

Chapitre 1. Cadre Théorique

Chapitre 1. Cadre théorique

1 Aperçu historique des fromages artisanaux

Jusqu'à récemment, les origines du fromage restaient pour la plupart enveloppées dans le brouillard impénétrable de la préhistoire antique. Au cours des deux dernières décennies, cependant, des avancées révolutionnaires dans des domaines de recherche et d'érudition très variés ont permis de mieux comprendre les premières expériences de l'humanité avec le fromage (Kindstedt, 2017). En effet, la convergence de multiples courants de recherche a repoussé les débuts probables de la fabrication du fromage au Néolithique, peut-être presque jusqu'aux origines mêmes de la domestication du bétail et de l'élevage laitier, qui ont fourni le contexte de l'émergence du fromage (Kindstedt, 2012).

Avant d'aborder l'histoire du fromage, il faut se pencher sur la domestication des animaux laitiers et l'histoire de la production laitière. Les petits ruminants ont d'abord été domestiqués dans les vallées supérieures de l'Euphrate et du Tigre en Asie du Sud-Ouest, comme l'a déduit l'étude des restes squelettiques archéologiques (Vigne et Helmer, 2007). Les progrès considérables dans les techniques de récupération, d'évaluation et d'analyse statistique des restes squelettiques et dentaires pour les caractéristiques diagnostiques vitales telles que la taille, le sexe et l'âge de l'animal au moment de la mort, ainsi que les progrès dans des cadres d'interprétation basés sur la modélisation ethnographique des stratégies de gestion utilisées par les bergers semi-nomades en Asie du Sud-Ouest aujourd'hui, ont conduit à des percées dans la capacité de détecter l'émergence et de suivre la propagation de la domestication du bétail (Vigne, 2011; Vigne et Helmer, 2007). Les données archéozoologiques montrent clairement l'apparition de changements drastiques dans les profils d'abattage des ovins et des caprins, considérés comme révélateurs du début de la domestication, vers le milieu du 9^{ème} millénaire avant notre ère (Helmer et al., 2007 ; Vigne, 2011 ; Vigne et al., 2011). De même, des bovins ont également été domestiqués dans le bassin du Moyen Euphrate un peu plus tard, toujours sur la base d'analyses archéozoologiques (Vigne, 2011).

En outre, des études génétiques mitochondriales d'ovins, de caprins et de bovins modernes, ainsi que des analyses d'ADN mitochondrial extrait de restes squelettiques néolithiques, étaient également la conclusion selon laquelle la première domestication de ces animaux s'est produite dans le bassin du Moyen Euphrate dans la région du Croissant fertile en Asie du Sud-Ouest (Bollongino et al., 2012; Bonfiglio et al., 2012; Conolly et al., 2012; Hiendleder et al., 2002; Meadows et al., 2007; Naderi et al., 2008). On suppose que la traite a commencé vers le 4^{ème} millénaire avant J.-C., mais les recherches suggèrent que la traite a

Chapitre 1. Cadre théorique

commencé vers l'époque de la domestication (9^{ème} millénaire avant J.-C.) (Helmer et al., 2007 ; Sherratt, 1981, 1983). Il a été largement supposé que le bétail domestique en Asie du Sud-Ouest était initialement élevé pour sa viande, ses peaux et d'autres produits résultant de l'abattage des animaux, et que la traite des chèvres, des moutons et des bovins n'a commencé que bien plus tard vers le 4^{ème} millénaire avant J.-C., mais les découvertes archéozoologiques et archéochimiques actuelles révèlent que l'élevage laitier était pratiqué bien plus tôt vers l'époque de la domestication (9^{ème} millénaire avant J.-C.) (Helmer et al., 2007; Sherratt, 1981, 1983).

La première preuve directe de production laitière dans les archives archéologiques a été vue à l'aube de la fabrication de poterie au 7^{ème} millénaire avant J.-C. dans l'ouest de l'Anatolie (Evershed et al., 2008; Thissen et al., 2010). La présence de résidus de matière grasse du lait dans les anciens pots n'indique pas nécessairement l'existence de la fabrication du fromage, seulement que du lait sous une forme ou une autre y était logé (Kindstedt, 2017).

Cependant, des études suggèrent que des produits laitiers concentrés comme le fromage et le beurre (ceux qui contiennent des niveaux élevés de matières grasses et de faibles niveaux d'eau et de lactose) pourraient avoir été contenus dans le pot en fonction des traces de nutriments observées (Copley et al., 2005).

Des preuves similaires ont également été observées dans des tamis en céramique néolithiques récupérés dans le nord-est et le nord-ouest de l'Europe, datant du 6^{ème} millénaire avant notre ère (Salque et al., 2013 ; Salque et al., 2012). Il a été proposé que ces anciens tamis en poterie servaient à séparer le caillé du lactosérum lors de la fabrication du fromage (Barker et al., 1991; Gouin, 1997). Cette suspicion a été confirmée en 2012 et 2013 (Salque et al., 2013 ; Salque et al., 2012), que les agriculteurs néolithiques utilisaient ces tamis dans la fabrication du fromage 5000 à 5500 av. J.-C. de la même manière qui se pratique encore aujourd'hui. Ainsi, nous savons avec une quasi-certitude que la fabrication du fromage était bien avancée dans le sud-ouest de l'Asie et dans certaines parties de l'Europe à la fin du néolithique, mais une origine beaucoup plus ancienne (Kindstedt, 2017).

Les premiers récits descriptifs des fromages et de leurs procédés de fabrication sont intervenus plusieurs milliers d'années après le début de la fabrication du fromage vers le 4^{ème} millénaire avant notre ère avec les tablettes d'argile proto-cunéiformes d'Uruk, la première grande cité-état de la civilisation sumérienne dans le sud de la Mésopotamie, qui est aujourd'hui l'Irak. Ces tablettes d'argile proto-cunéiformes représentent les antécédents de la

Chapitre 1. Cadre théorique

première langue écrite de l'humanité, et parmi les tablettes récupérées d'Uruk se trouvent de nombreux documents administratifs qui présentent des chiffres sur la production annuelle de produits laitiers, principalement du fromage et de l'huile de beurre (*ghee*), produits à partir de lait de vache et les troupeaux de chèvres et de moutons (Englund, 1991, 1995 ; Green, 1980).

2 La production fromagère

La production de la plupart des variétés de fromages suit le même procédé de base, où la fabrication implique plusieurs processus, dont certains sont communs pour les différents types de fromage. La transformation du lait en fromage par la méthode classique comporte trois étapes principales : 1) coagulation par voie enzymatique (présure) et/ou lactique (ferments), 2) égouttage et moulage (sauf pour les fromages fondus) et 3) salage et affinage (sauf pour les fromages frais et fondus). L'étape de coagulation est toutefois généralement précédée d'une étape de prétraitement du lait au cours de laquelle le lait peut être standardisé, homogénéisé ou encore traité thermiquement (Gunasekaran et Ak, 2002; St-Gelais et al., 2002).

2.1 Prétraitement du lait pour la fabrication du fromage

Le lait utilisé pour la fabrication du fromage subit généralement plusieurs processus pour améliorer ses propriétés ou pour prévenir d'éventuels défauts qui pourraient survenir lors de la fabrication du fromage (Walstra et al., 2006). Les grandes laiteries industrielles réalisent notamment des procédés tels que la thermisation, la pasteurisation, la standardisation, l'homogénéisation et l'ajout de chlorure de calcium, qui ont des implications technologiques importantes dans la fabrication du fromage, comme indiqué ci-dessous (Walstra et al., 2006).

2.1.1 La Thermisation

Si le lait doit être stocké avant transformation, il est alors traité à des températures inférieures aux températures de pasteurisation (50°C–70°C pendant 5–30 s) afin de réduire (1) la charge bactérienne viable dans le lait et (2) contrôler le développement des activités enzymatiques associées aux bactéries. D'une manière générale, la thermisation améliore la qualité des fromages préparés à partir de laits stockés au froid (Sheehan, 2007).

2.1.2 La pasteurisation

Le lait de fromagerie est généralement pasteurisé à basse température longue durée (62-65 °C/ 30 minutes) ou des traitements thermiques plus élevés (72-75 °C / 15-30 secondes) ce traitement a pour effet de tuer d'éventuelles bactéries pathogènes connus (*Listeria*

Chapitre 1. Cadre théorique

monocytogenes, *Staphylococcus* et *Salmonella*, *Mycobacterium tuberculosis*,...), d'inactiver certaines enzymes, diminuer le niveau total de lipolyse et provoque la dénaturalisation des protéines de lactosérum, qui se complexe avec les caséines retenues dans le caillé, augmentant le rendement en fromage (Bintsis et Papademas, 2017).

2.1.3 L'homogénéisation

Habituellement, l'homogénéisation vient après la pasteurisation. C'est un procédé physique qui permet de réduire la taille des globules de matière grasse en fines gouttelettes, ce qui évite la remontée de la crème à la surface du lait (D'Incecco et al., 2018). Lorsque les particules de graisse deviennent plus petites, elles commencent à se réassembler. Ce faisant, ils capturent la caséine et le lactosérum dans leurs parois et certains sont totalement entourés de protéines (Bintsis et Papademas, 2017). Il en résulte une interaction accrue entre les globules gras qui se comportent comme des particules de pseudo-protéines avec des forces électrostatiques et hydrophobes et les particules de caséine qui peuvent s'incruster dans leur surface lors de la coagulation (Ong et al., 2010).

L'homogénéisation favorise la lipolyse, le blanchiment et le développement de la saveur des fromages fabriqués à partir de lait de vache (Miller et al., 2006; Robinson et Wilbey, 1998). De plus, Les effets de ce traitement sur les propriétés texturales ont été démontrés dans la littérature, où la participation des globules gras homogénéisés à la formation de gel contribue au développement d'une texture homogène douce et lisse (Guinee et McSweeney, 2006). L'homogénéisation du lait a été utilisée dans l'industrie fromagère pour augmenter le rendement en fromage grâce à une plus grande rétention d'humidité et à une meilleure récupération des graisses et des protéines (Abd El-Gawad et Ahmed, 2011; Ong et al., 2010).

2.1.4 La standardisation

La composition du lait varie tout au long de l'année selon les saisons et est influencée par l'alimentation, la santé de la vache (mastite), le stade de lactation des vaches, la teneur en cellules somatiques, pour cela la vache produira naturellement du lait avec des quantités variables de matières grasses et de protéines d'un mois à l'autre, il est important de normaliser le lait pour des rendements et une qualité de fromage constants. Le fromager peut compenser cet écart en standardisant le lait (Guinee et McSweeney, 2006).

Chapitre 1. Cadre théorique

La standardisation fait donc référence au processus par lequel la composition du lait est ajustée au niveau souhaité. Le paramètre de composition le plus couramment pris en compte est la matière grasse (Hill et Ferrer, 2021). La normalisation du lait de fromagerie nécessite normalement d'augmenter la proportion de protéines par rapport aux matières grasses, ce qui peut être fait en ajoutant des protéines ou en retirant des matières grasses (Hill et Ferrer, 2021). Le rapport matière grasse/caséine du fromage est déterminé par le rapport matière grasse/caséine du lait utilisé. Un rapport grasse/caséine plus faible permet de piéger davantage la graisse dans le caillé après la coagulation, ce qui entraîne une récupération plus efficace des graisses du lait dans le fromage (Kalit et al., 2021). Ce rapport est le facteur principal qui détermine la quantité de matières grasses dans le fromage par rapport aux autres solides du lait dans le fromage (Addis et al., 2018).

2.2 La coagulation

Lapointe-Vignola (2002) a défini la coagulation du lait comme la déstabilisation des micelles de caséine, qui flocculent et s'agrègent pour former un gel renfermant les composants solubles du lait. Cette étape est réalisée à l'aide de l'une des méthodes suivantes, ou d'une combinaison de ces méthodes : a) protéolyse limitée à l'aide d'enzymes ; b) acidification par ajout d'acides ou d'une culture starter ; (**Fig.1**) et c). La coagulation mixte associe l'acidification combinée à un chauffage à environ 90 °C (Fox et al., 2004 ; Henning et al., 2006 ; Kjellstrøm, 2017). En effet, la majorité des fromages sont produits par coagulation enzymatique (Fox et Guinee, 2013), la présure des estomacs de jeunes veaux, de chevreaux, d'agneaux et de buffles était traditionnellement utilisée (Fox et al., 2004).

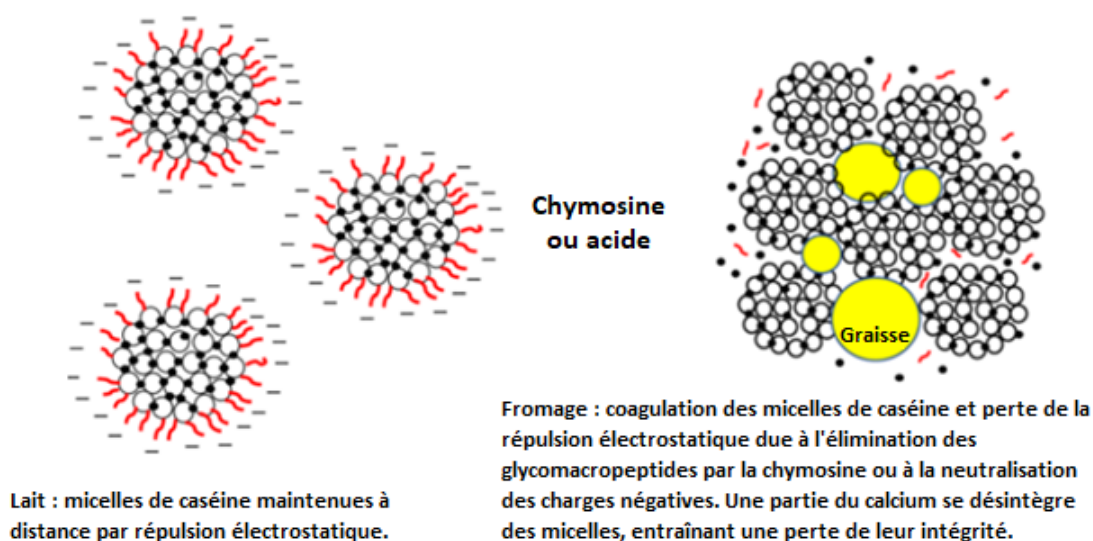


Figure 1. Illustration schématique de la coagulation du lait (Lucey, 2016).

Chapitre 1. Cadre théorique

2.2.1 La Coagulation par voie acide

La coagulation acide affecte la stabilité des micelles de caséine en neutralisant leur charge ce qui provoque la précipitation de ces protéines à leur point isoélectrique, en dissolvant certaines réticulations du phosphate de calcium colloïdal (PCC) et en modifiant la liaison interne entre les protéines (Lucey, 2016). Le développement d'agrégats et éventuellement de gels se produit au point isoélectrique lorsque la répulsion électrostatique est insuffisante pour vaincre les forces attractives (Abbas et al., 2014; Lucey, 2016).

La coagulation acide peut résulter d'une acidification biologique à l'aide d'enzymes transformant progressivement par fermentation lactique (le lactose en acide lactique), ou d'une acidification chimique (injection de gaz carbonique, ajout de glucono- δ -lactone, etc.) (Troch et al., 2017). Quel que soit le procédé, l'acidification se traduit par une baisse du degré de dissociation des groupements acides du phosphocaséinate de calcium. Les ions H^+ libérés par l'acidification neutralisent progressivement les charges électronégatives : la répulsion électrostatique diminue avec l'enrichissement du milieu H^+ puis disparaît. À température ambiante, les micelles commencent à s'agréger à pH 5,2 (Troch et al., 2017). Lorsque le pH isoélectrique de la caséine est atteint (pH 4,6), ceci conduit à la solubilisation des éléments minéraux (calcium et phosphate inorganique), une libération d'eau et à leur précipitation, entraînant ainsi la coagulation complète (Horne, 2020).

2.2.2 La Coagulation mixte

Bien que les protéines de lactosérum soient facilement dénaturées par chauffage, les micelles de caséine dans le lait frais sont très stables à la chaleur et restent en dispersion colloïdale à des températures allant jusqu'à 140°C (Fox, 2003). Cependant, le lait modérément acidifié (à un pH de 6,2 à 5,4), soit par la production d'acide lactique par bactéries lactiques, soit par l'ajout d'un acidulant externe, devient sensible à la coagulation induite par la chaleur à des températures relativement basses (ex., 85°C), ce qui donne naissance à une nouvelle famille de fromages plutôt petite connue sous le nom de fromages coagulés à l'acide et à la chaleur (Kindstedt, 2013).

La coagulation se produit parce que les protéines de lactosérum se déplient et perdent leur capacité à interagir avec l'eau sous l'influence combinée de l'acide et de la chaleur. Simultanément, l'ajout d'acide déstabilise la stabilité colloïdale des composés micellaires en rompant les liaisons calciques entre les micelles et entraînant l'initiation de la coagulation, cela amène les protéines de lactosérum dénaturées à se fixer sur les surfaces micellaires et les

Chapitre 1. Cadre théorique

micelles à s'agréger en grappes qui emprisonnent les globules gras (Dalglish et Corredig, 2012; Kindstedt, 2014). D'autre part, la coagulation mixte peut se produire de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification (Mahaut et al., 2003).

2.2.3 Coagulation par voie enzymatique

La coagulation du lait est une étape cruciale dans la fabrication du fromage et le choix de l'enzyme de coagulation spécifique est fondamental pour le rendement, la texture et la saveur du fromage (Shah et al., 2014). Un grand nombre d'enzyme protéolytique d'origines animale, végétale ou microbienne, ont les propriétés de coaguler le lait. La présure (mélange de chymosine et pepsine), sécrétée dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait, est l'enzyme coagulante la mieux connue et son mécanisme d'action est bien établi (Corredig et Salvatore, 2016; Ong et al., 2017).

2.2.3.1 Coagulation par enzyme d'origine animale

La coagulation du lait par des enzymes protéolytiques d'origines animale est une des plus anciennes opérations de transformation alimentaire. Le terme « présure » est donné au coagulant extrait de la caillette des jeunes ruminants abattus avant le sevrage (Troch et al., 2017). La présure d'origine animale constitué principalement de chymosine et d'un peu de pepsine (80% chymosine et 20% pepsine) est le coagulant le plus utilisé (Huppertz et al., 2006 ; Scott et al., 1998 ; Troch et al., 2017). La chymosine est la principale enzyme de coagulation du lait (95% de l'activité enzymatique), est une protéase acide, sécrétée sous forme de proenzyme inactive appelée prochymosine. L'activation de la prochymosine en chymosine se fait spontanément dans la caillette aux pH inférieurs à 5,0 par hydrolyse de l'extrémité N-terminale de la molécule (Mahaut et al., 2003 ; Mahaut et al., 2000).

La chymosine, une protéase aspartique, hydrolyse la caséine, et a une double activité : forte activité sur la κ -caséine située en périphérie des micelles de caséine, et provoque ainsi une déstabilisation des micelles lors de la phase de coagulation, et elle a une légère activité globale de protéolyse sur les différentes fractions de caséine, qui se produit principalement pendant l'affinage du fromage (Troch et al., 2017). Généralement, la coagulation du lait médiée par la chymosine est divisée en deux étapes : la phase enzymatique et la phase non enzymatique (Frederiksen et al., 2011). Au cours de la première phase, la kappa-caséine (la partie C-terminale) est hydrolysée par voie enzymatique sur une liaison peptidique spécifique (Phe105-Met106) pour produire la para-kappa-caséine hydrophobe (la partie N-terminale de la κ -caséine) et un glycomacro-peptide (GMP) hydrophile (Horne et Lucey, 2017). La para-

Chapitre 1. Cadre théorique

kappa-caséine reste attachée au noyau micellaire, tandis que le GMP (la partie C-terminale) diffuse dans le lactosérum. La perte du GMP provoque une diminution progressive de la répulsion électrostatique entre les micelles de caséine (Dalglish et Corredig, 2012) (**Fig.2**).

Ce processus entraîne immédiatement la déstabilisation stérique de la kappa-caséine due à la perte du potentiel de surface d'un groupe chargé négativement (Horne et Lucey, 2017). En effet, lorsqu'environ 70% de la kappa-caséine est hydrolysée, la stabilité colloïdale des micelles est fortement perturbée permettant à la phase d'agrégation secondaire spontanée de se produire (Anema et Li, 2003). Une fois les chaînes moléculaires se connectent pour former un réseau tridimensionnel par le biais d'interactions hydrophobes et électrostatiques, une structure semblable à un gel se forme lorsque les micelles de caséine perdent leur solubilité. Le gel est ensuite solidifié davantage par réticulation au calcium (Ferreira, 2011). Au fur et à mesure que la gélification progresse, le phosphate de calcium colloïdal (CCP) devient de plus en plus important dans la création du réseau de gel (Lucey, 2002). Ce gel est structuré, souple, élastique, imperméable, peu friable avec un fort pouvoir de rétention d'eau permettant un relargage de sa fraction aqueuse lors de l'égouttage par synérèse (Vétier et al., 2000).

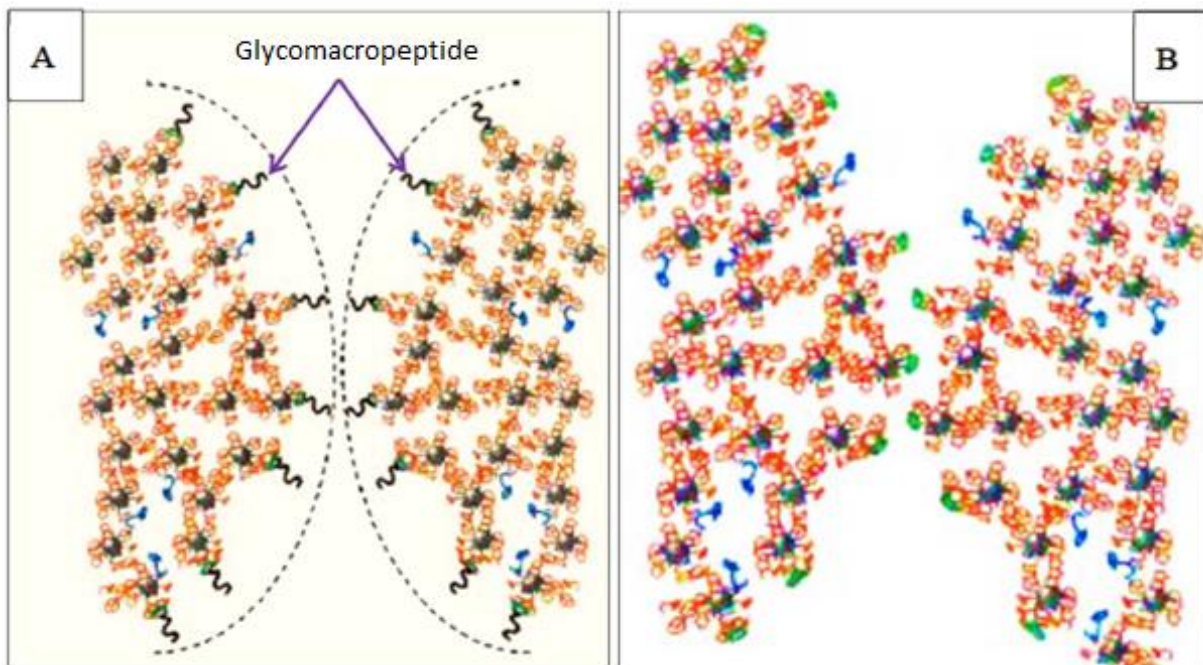


Figure 2. Micelle de caséine native avec une caséine κ intacte fournissant une charge et une stabilisation stérique contre l'agrégation (A), et des micelles de caséine qui ont perdu le glycomacropeptide de la caséine κ en raison de l'hydrolyse induite par la présure (B) (Dalglish et Corredig, 2012).

Chapitre 1. Cadre théorique

2.2.3.2 Coagulation par enzyme d'origine végétale

Les coagulants végétaux sont devenus un sujet d'intérêt croissant dans l'industrie fromagère, en raison de leur disponibilité facile et de leurs procédés de purification simples. Également, la disponibilité réduite de la présure de veau couplée à l'augmentation du prix et à la demande croissante de fromage, ont conduit à rechercher des coagulants de substitution de la présure (Lemes et al., 2016). En fait, de nos jours, la présure de veau ne couvre que 20 à 30 % de la demande mondiale de coagulants du lait (Abbas et al., 2013 ; Lemes et al., 2016). De plus, le marché étant de plus en plus orienté vers la diversification de l'offre pour assurer un large choix aux consommateurs, les industries fromagères recherchent des coagulants alternatifs pour satisfaire les consommateurs qui pour des raisons religieuses (islam, judaïsme) et éthiques (végétariens) préfèrent ne pas consommer de fromage à base de présure animale (Aktayeva et al., 2018).

Depuis plusieurs années, les extraits de plantes sont largement utilisés dans la préparation de différents types de fromages artisanaux qui sont principalement produits dans les pays méditerranéens, l'Europe du Sud et l'Afrique de l'Ouest (Roseiro et al., 2003). Récemment, une grande attention s'est portée de plus en plus sur les coagulants d'origine végétale tels que les protéases présentes dans divers tissus végétaux tels que les fleurs de chardon (Zikiou et al., 2020), l'artichaut de *Cynara scolymus* (Bueno-Gavilá et al., 2020) et les fleurs de *Citrus aurantium* (Mazorra-Manzano et al., 2013). Ces protéases sont des enzymes peuvent hydrolyser les caséines du lait à différents pH et températures (Shah et al., 2014). Après addition de présure végétale, les deux étapes principales de la coagulation enzymatique du lait sont réalisées de la même manière que la coagulation par la présure animale (Cayot et Lorient, 1998).

Semblable à la chymosine, de nombreuses protéases végétales hydrolysent sélectivement la liaison κ -caséine Phe105-Met106, tandis que d'autres hydrolysent différents sites, comme la protéase extraite de *Solanum dubium* hydrolyse la liaison Ser104-Phe105 de la κ -caséine bovine tandis que l'actinidine (protéase d'*Actinidia chinensis*), qui hydrolyse probablement la liaison Arg97-His98 ou Lys111-Lys112 (Ahmed et al., 2010; Lo Piero et al., 2011). L'hydrolyse de la κ -caséine, essentielle pour initier le processus de coagulation lors de la fabrication du fromage, affecte directement l'activité de coagulation du lait, qui n'est pas influencée par la différence de point de clivage (Drøhse et Foltmann, 1989). D'autre part, la différence de spécificité d'hydrolyse des différentes protéases vis-à-vis de l' α - et de la β -

Chapitre 1. Cadre théorique

caséine contribue à la libération de peptides pouvant influencer la saveur et la texture du fromage (Zhang et al., 2019). Par exemple, la cardosine A (*Cynara cardunculus*) agit sur différentes liaisons de la caséine α_1 : Phe24-Phe25, Arg100-Leu101, Phe153-Tyr154, Trp164-Tyr165 et Tyr165-Tyr166, également sur la β -caséine : Leu127-Thr128, Leu165-Ser166 et Leu192-Tyr193 (Cavalli et al., 2013).

Cependant, l'hydrolyse générale des caséines est liée à l'activité protéolytique (AP) de l'enzyme. Une AP élevée peut être associée au développement de défauts de goût amer et de texture du fromage, ce qui limite leur utilisation industrielle (Egito et al., 2007) (**Fig.3**). Pour cette raison, la sélection d'un coagulant végétal approprié et le contrôle des différents paramètres de gélification sont d'une grande importance pour obtenir une meilleure qualité du produit final (Harboe et al., 2010). Les protéases végétales sont classées en divers groupes sur la base du mécanisme catalytique utilisé au cours du processus hydrolytique. Les principales classes de protéases de coagulation du lait sont les protéases aspartiques, à sérine et à cystéine (Shah et al., 2014).

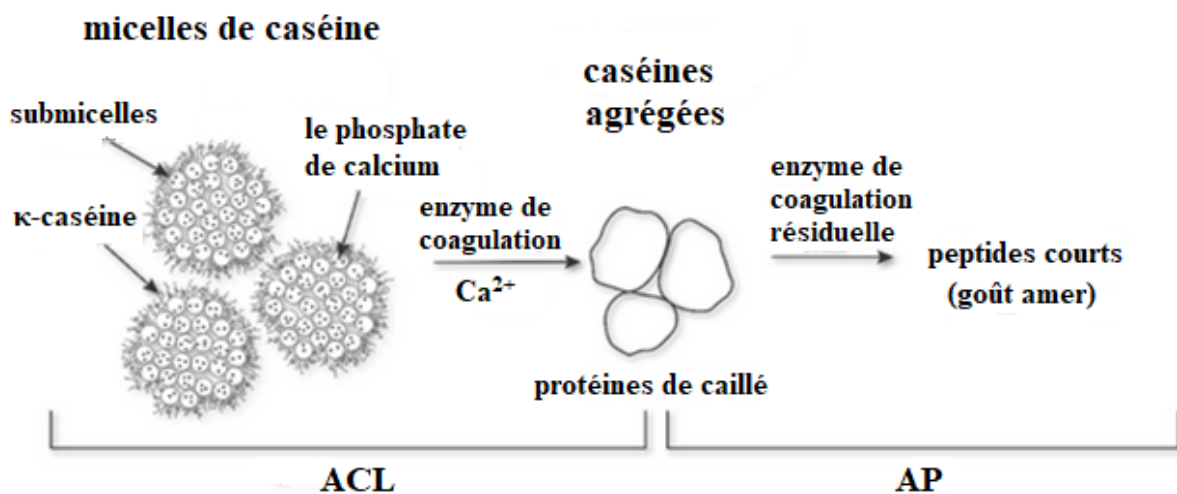


Figure 3. Dégradation des caséines par l'enzyme de coagulation et développement de peptides amers. ACL = activité de coagulation du lait, AP = activité protéolytique (Nicosia et al., 2022).

Les protéases aspartiques (PAs) se trouvent dans de nombreuses variétés d'espèces végétales. Ils sont impliqués dans la dégradation des protéines au cours du processus de développement des plantes, les mécanismes de stockage des protéines, les réponses au stress et aux agents pathogènes (Gonzalez-Rabade et al., 2011). Ces enzymes ont deux résidus aspartiques responsables de l'activité catalytique, dont la spécificité d'action est préférée pour le clivage des liaisons peptidiques entre les résidus d'acides aminés hydrophobes (Domingos et al., 2000). Ces types de protéases sont plus actifs à pH acide (valeur de pH 3-5) (Yegin et

Chapitre 1. Cadre théorique

al., 2011). Les protéases aspartiques les plus répandues et les plus utilisées sont certainement les cardosines extraites de *Cynara cardunculus* (Veríssimo et al., 1995). Les plus abondantes sont la cardosine A et la cardosine B ; bien que, plus récemment, quatre cardosines supplémentaires aient été isolées des fleurs (cardosines E, F, G et H) (Sarmiento et al., 2009; Veríssimo et al., 1995). Cependant, une comparaison entre la chymosine et les cardosines montre que ces dernières ont une AP plus importante, ce qui conduit à l'apparition de saveurs amères (Macedo et al., 1996; Sousa et Malcata, 2002).

Les protéases de type cystéine (PCs) ont des résidus Cys et His dans leur site catalytique (Faheem et al., 2016). Le domaine catalytique actif contient trois résidus catalytiques (Cys-His-Asn) qui ont des fonctions spécifiques (Cstorer et Ménard, 1994). Ces types d'enzymes sont produits sous forme de précurseurs inactifs et ont un peptide qui agit comme un signal pour la sécrétion de la protéine et un pro-domaine auto-inhibiteur pour empêcher la dégradation indésirable de la protéine (Coulombe et al., 1996). L'une des protéases à cystéine les plus étudiées est la papaine de *Carica papaya* (Konno et al., 2004), mais d'autres protéases à cystéine ont été extraites du latex de *Jacaratia corumbensis* (Duarte et al., 2009) et d'*Actinidia chinensis* (Puglisi et al., 2014).

Les protéases à sérine (PSs) ont dans leurs sites actifs des résidus de sérine (Borgono et al., 2007). Leur rôle principal dans les plantes est presque le même que celui des PAs, avec quelques fonctionnalités supplémentaires. Les PSs sont répandues dans les plantes et appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques. Ils ont été extraites, purifiées et caractérisées à partir de plusieurs parties de plantes, en particulier de fruits (Shah et al., 2014). Une sérine protéase capable de coaguler le lait a été extraite de *Solanum dubium*, appelée dubiumine, qui s'est avérée très stable contre une large gamme de valeurs de pH (4,0 à 11,0) ainsi qu'une large gamme de températures (20 à 90 ° C) (Ahmed et al., 2009). Une alternative à la présure animale peut être représentée par la sérine protéase extraite des tissus du fenouil (*Foeniculum vulgare*), cette enzyme reste active et stable à des pH allant de 6 à 7,5 et à des températures allant de 40 à 60 °C (Bey et al., 2018).

En plus de leur fonction principale dans la coagulation du lait, les protéases végétales jouent un rôle important dans le début de l'affinage du fromage (Yegin et Dekker, 2013). L'hydrolyse des caséines du fromage par le coagulant résiduel produit des substrats indispensables à certaines microflore bactériennes, dont la dégradation permet le développement des arômes lors de l'affinage (Sanjuán et al., 2002; Upadhyay et al., 2004).

Chapitre 1. Cadre théorique

Cependant, l'intensité de ces effets sur la qualité du fromage dépend du type de coagulant végétal, de sa dose et de ses activités enzymatiques (Ben Amira et al., 2017).

De manière générale, l'inconvénient majeur de la plupart des présures végétales est le développement d'une amertume accrue et l'apparition de défauts de texture fromagère lors du stockage et/ou de l'affinage (Egito et al., 2007). Ces défauts sont principalement dus à des activités protéolytiques excessives et à de faibles rapports ACL/AP. Pour cette raison, l'évaluation des activités enzymatiques et leur comparaison avec celles de la présure commerciale (chymosine) est une première étape importante dans la sélection d'un coagulant végétal adapté (Ben Amira et al., 2017).

2.2.3.3 Coagulation par enzyme d'origine microbienne

Les coagulants d'origine microbienne peuvent être soit des enzymes protéolytiques naturelles, soit de la chymosine recombinante produite par fermentation (Runesson, 2018). Les enzymes microbiennes de coagulation du lait présentent des avantages par rapport à la présure animale car elles sont facilement produites, leur disponibilité est inépuisable et leurs caractéristiques peuvent être améliorées à l'aide d'outils biotechnologiques (Moschopoulou, 2017). Les enzymes microbiennes sont des protéases aspartiques qui catalysent la coagulation du lait. Bien qu'il existe certaines lacunes par rapport à la présure traditionnelle de veau, la présure microbienne a été acceptée sur les marchés de plusieurs pays. Déjà en 1974, aux États-Unis seulement, environ 60 % du fromage est fabriqué à partir d'enzymes fongiques (Hashem, 2000). De nombreuses espèces bactériennes ont été étudiées notamment dans le genre *Bacillus* qui est probablement la source bactérienne la plus importante de protéases tels que *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus coagulans* (Mehta et al., 2019). Les résultats ont été en général décevants en raison de l'activité protéolytique généralement excessive de ces protéases par rapport à celle de la présure, affectant ainsi négativement le rendement en fromage (Contesini et al., 2018; Ramet, 1997).

Les enzymes d'origine fongique, contrairement à celles d'origine bactérienne, ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure. À l'heure actuelle, seuls les coagulants dérivés de champignons sont utilisés comme coagulants microbiens. Trois espèces sont couramment utilisées : *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusillus* et *Cryphonectria parasitica*. Ces champignons filamenteux qui produisent des enzymes coagulantes du lait restent aujourd'hui les plus intéressants pour la fabrication du fromage (Mutalib et Hakim, 2023).

Chapitre 1. Cadre théorique

L'aspartate protéase obtenue à partir de *Rhizomucor miehei* et *Rhizomucor pusillus* a une structure tridimensionnelle similaire à celle de la chymosine, appelée mucorpepsine (EC 3.4.23.23) et est l'enzyme présure d'origine microbologique la plus courante. Cette protéase clive la κ -caséine en glycomacropéptide et para- κ -caséine en hydrolysant uniquement la liaison peptidique Phe105 et Met106 (Aktayeva et al., 2018). Un autre exemple de présure fongique, l'endotiaepsine (EC 3.4.23.22) est produite par *Cryphonectria parasitica*. Initialement, les propriétés de liaison au lait de l'endotiaepsine ont été attribuées au clivage de Phe105 et Met106, mais des études ultérieures ont montré que l'enzyme agit sur la liaison peptidique voisine Ser104-Phe105 dans la molécule de κ -caséine (Aktayeva et al., 2018). Une caractéristique particulière de cette protéase est sa thermolabilité élevée, grâce à laquelle l'endotiaepsine a trouvé une large application dans la production de fromages tels que le cheddar, le suisse, et le colby, dont la technologie de préparation impose certaines exigences sur les propriétés de l'enzyme utilisée (Synowiecki et al., 2007). Les fromages fabriqués à partir d'endotiaepsine sont évalués par les experts fromagers comme équivalents voire supérieurs en qualité aux fromages témoins fabriqués à partir de chymosine animale (Claverie-Martín et Vega-Hernández, 2007).

Les coagulants microbiens présentent plusieurs avantages : faible coût de production et conformité aux principes alimentaires, Halal et végétariens. Leurs principaux inconvénients sont une faible spécificité, une stabilité thermique élevée, un rapport ACL/AP inférieur à celui de la présure de veau et plus de risques d'amertume dans le fromage résultant (Lebedev et al., 2016). Il est souhaitable que les protéases aient une faible stabilité thermique, et de cette manière, en régulant les températures post-fromagerie, la survie de l'enzyme résiduelle est réduite, évitant la protéolyse indésirable et éliminant ainsi en toute sécurité les défauts (He et al., 2011).

L'une des méthodes les plus innovantes pour résoudre le manque de présure animale est représentée par la chymosine produite par fermentation ou chymosine génétique, qui est obtenue à partir d'un micro-organisme hôte tel qu'*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Lactococcus lactis* dans lequel le gène de la protéase est exprimée (Flamm, 1991 ; Luerce et al., 2014). Le fromage est le premier produit alimentaire fabriqué à l'aide des techniques de l'ADN recombinant (Flamm, 1991), où la chymosine produite est identique à la source animale, ce qui signifie qu'il a la même séquence d'acides aminés que la chymosine de l'estomac animal correspondant (Harboe et al., 2010). L'un des avantages majeurs de ce procédé est de pouvoir obtenir 100 % de chymosine pure, alors que la présure de veau est

Chapitre 1. Cadre théorique

composée d'environ 80 % de chymosine et 20 % de pepsine (ce qui est moins spécifique dans l'hydrolyse des caséines) (Kumar et al., 2010).

2.2.4 Principaux facteurs influençant la coagulation du lait

Divers facteurs influencent la coagulation du lait, y compris la composition du lait (tels que ; la caséine, le calcium, le pH du lait...), la concentration de la présure, le traitement antérieur du lait et bien d'autres. Certains des facteurs les plus importants sont présentés ci-dessous.

2.2.4.1 La composition du lait

Tous les aspects de la fabrication du fromage sont affectés par la qualité et la composition du lait (McSweeney, Fox, et al., 2017; Troch et al., 2017). Surtout la teneur en protéines, en graisses et en calcium ainsi que le pH. Une teneur plus élevée en protéines (caséine) et en matières grasses améliore les propriétés de coagulation ; réduction du temps de coagulation de la présure, augmentation de la fermeté du caillé et du rendement en fromage (Runesson, 2018).

2.2.4.1.1 La teneur en protéines

Les principales protéines du fromage sont les caséines. Les caséines sont une famille de quatre phosphoprotéines différentes ; α_1 -, α_2 -, β - et κ -caséine. Ces protéines diffèrent légèrement par leur teneur en phosphore qui affecte la liaison de calcium (Ca) (Kumar et al., 2010). Les protéines sont formées sous forme de micelles sphériques avec de la κ -caséine hydrophile s'étendant à partir de la structure (McSweeney, Fox, et al., 2017). La composition des caséines a un impact sur la coagulation. Une teneur plus élevée en α_2 -, β -caséines et une faible κ -caséine ont un taux de coagulation plus faible. Au cours de l'acidification, la κ -caséine hydrophile perd sa charge et la coagulation commence. Au cours de la coagulation enzymatique, la κ -caséine est hydrolysée et les micelles s'agrègent en formant un coagulat plus fort que lors de l'acidification (Runesson, 2018).

La taille des micelles de caséine a également un impact sur la fabrication du fromage. Les modifications de race, d'alimentation et post-traduction entraînent des variations de taille. Le lait avec des micelles plus petites s'agrège plus rapidement et a un coagulum plus ferme. Les petites micelles ont un niveau plus élevé de κ -caséine, ce qui peut améliorer le pontage des protéines et du calcium, ce qui entraîne un temps de coagulation plus court et un gel plus ferme (McSweeney, Fox, et al., 2017). Plusieurs petites micelles de caséine ont une surface

Chapitre 1. Cadre théorique

accrue par rapport à moins de grandes micelles. La surface accrue conduit à une plus grande disponibilité de clivage hydrolytique, d'où une agrégation plus rapide. Des minuscules micelles ont également fourni un meilleur rendement en fromage (Logan et al., 2015). Des recherches antérieures ont montré que la taille des micelles de caséine et la teneur en κ -caséine affectent positivement la coagulation du lait et la production de fromage (Bonfatti et al., 2014; Freitas et al., 2019).

2.2.4.1.2 La teneur en calcium

La teneur en calcium du fromage a une influence majeure sur un certain nombre de ses propriétés physico-chimiques. Le calcium influence les propriétés rhéologiques et fonctionnelles du fromage en raison des interactions calcium-dépendantes entre les protéines de caséine (Lucey et al., 2003). La coagulation par la présure est la principale étape de fabrication impliquée dans la production de la plupart des variétés de fromage, et le calcium a une influence majeure sur ce processus. Le calcium n'a aucune influence sur la phase enzymatique de la coagulation de la présure si le pH est maintenu constant, mais la phase d'agrégation dépend fortement de la concentration de calcium ionique (Ca^{2+}) (Van Hooydonk et al., 1986).

La teneur en calcium affecte le temps de coagulation et la fermeté du gel. Le lait à haute teneur en calcium a un temps de coagulation plus court (McSweeney, Fox, et al., 2017). Une concentration en calcium plus élevée agit comme agent de liaison entre les micelles ou encore comme neutralisateur de charge et diminue également le pH, réduisant le temps de coagulation et augmentant la fermeté du gel (Ben Amira et al., 2017; Fox et al., 2017).

2.2.4.1.3 Le pH

L'influence du pH sur la coagulation est très prononcée. Lors de la fabrication du fromage, abaisser le pH de 7,0 à 5,2 du lait par les levains raccourcit le temps de coagulation où le pH optimal pour l'hydrolyse de la κ -caséine se situe dans la gamme de 5,1 à 5,3 (Lopez et al., 1998; Nájera et al., 2003). Les effets les plus importants de l'abaissement du pH du lait sont la solubilisation d'une partie du phosphate de calcium, qui est libéré sous forme de Ca^{2+} , réduisant encore la stabilité colloïdale des micelles de caséine, la réduction de la charge nette de la caséine ainsi que la dissociation des caséines des micelles. Ce dernier influence directement la deuxième phase de l'emprésurage, et entraînant l'agrégation des micelles dans le caillé en formation (Horne, 2020 ; Lopez et al., 1998 ; Schiffer et al., 2021).

Chapitre 1. Cadre théorique

2.2.4.1.4 La matière grasse

La matière grasse du lait existe sous forme de globules de matière grasse dans le lait des espèces de mammifères. La taille des globules varie en fonction de l'animal, de l'alimentation, du stade de lactation et des différences saisonnières (Logan et al., 2015). La graisse joue un rôle passif pendant le processus de coagulation, car les globules de graisse sont piégés dans la matrice de para-caséine (Fox et al., 2017), et affectent ainsi positivement le rendement de fromage (Pazzola et al., 2019)

La taille des globules gras a un effet différent sur les caractéristiques physicochimiques des gels de lait (Michalski et al., 2004). Les globules gras natifs pourraient agir soit comme charges, soit comme briseurs de structure. Les globules gras plus petits, homogènes et lisses qui peuvent représenter des points faibles dans la matrice du fromage et améliorer la capacité de rétention d'eau (Ibrahim et El Zubeir, 2016; Meena et al., 2014). D'autre part, des globules gras plus gros fournissent un gel avec une liaison plus vitale (Michalski et al., 2004). Souvent le rôle de la matière grasse est considéré comme une charge inerte entre le réseau de gel formé par les micelles de caséine et contribue à la structure du caillé (Green et Grandison, 1993 ; Salaün et al., 2005 ; Stocco et al., 2018). Sachant que, la teneur élevée en matières grasses a amélioré la coagulation en raccourcissant le temps de coagulation de la présure et en augmentant le taux instantané de raffermissement du caillé (Stocco et al., 2018). Cependant, une teneur en matières grasses trop élevée risque de diluer la caséine et d'empêcher la formation de réseaux, et par conséquent affecte la coagulation (Runesson, 2018).

2.2.4.2 La concentration d'enzymes

Le type et la concentration de coagulant utilisé contribuent au rendement par la structure et la fermeté du caillé produit lors de l'hydrolyse de la caséine et sa coagulation (Lopez et al., 1998; Walstra et al., 2006). Généralement, l'augmentation de la concentration de la présure est associée à un niveau plus élevé d'hydrolyse de la κ -caséine et, par conséquent, à une diminution du temps de coagulation et augmente la fermeté du gel. (Walstra et al., 2006). Des recherches sur le lait de vache ont montré que l'augmentation de la concentration de l'enzyme coagulante raccourcit le temps de coagulation, en permettant un niveau plus élevé de clivage initial de la κ -caséine (Walstra et al., 2006). Une relation linéaire entre la concentration enzymatique et la valeur réciproque du temps de coagulation a été établie, et

Chapitre 1. Cadre théorique

une augmentation du taux de raffermissement du gel était également associée à une concentration en enzyme plus élevée (Nájera et al., 2003).

D'autre part, certaines données de la littérature sur le lait de vache impliquent une réduction de la fermeté du gel avec l'augmentation de la concentration de présure (Lopez et al., 1998; Nájera et al., 2003). La comparaison entre les gels obtenus avec des coagulants végétaux et la chymosine a montré que les coagulants végétaux produisaient des gels moins fermes (Ben Amira et al., 2017). La fermeté du gel dépend également d'autres facteurs tels que la dose de coagulant, le pH, la teneur en calcium et la température (Hovjecki et al., 2022), ainsi que les traitements antérieurs du lait (traitement thermique) (Ben Amira et al., 2017).

2.2.4.3 La température

La coagulation du lait montre une forte dépendance à la température (Fox et al., 2017). La chaleur favorise la formation de liens solides entre les protéines de lactosérum dénaturées et les micelles de caséine et par conséquent, augmente le taux de coagulation (Miloradovic et al., 2017). On sait que la température affecte à la fois la phase enzymatique et non enzymatique de l'agrégation pendant la coagulation du lait, et il a été constaté que cet effet est beaucoup plus important sur la phase secondaire, c'est-à-dire sur la réaction d'agrégation elle-même (Castillo et al., 2000), ce qui réduit alors le temps de coagulation et augmente considérablement la fermeté du gel (Bencini, 2002; Hovjecki et al., 2022; Nájera et al., 2003). Panthi et al. (2019) et Nájera et al. (2003) ont constaté que l'abaissement de la température de coagulation entraîne un réseau protéique plus fin et qu'une température plus élevée augmente la résistance du gel et le taux de raffermissement du gel.

2.2.4.4 Chlorure de calcium, stockage à froid, variantes génétiques des protéines et cellules somatiques

Outre les protéines, le pH, le calcium et la température, d'autres facteurs influençant la coagulation du lait tels que l'ajout du chlorure de calcium qui accélère la coagulation, aide à réduire la quantité de coagulant nécessaire et conduit à un gel plus ferme, réduit les pertes de graisse dans le lactosérum et augmente le rendement fromager dans le lait de vache (Ong et al., 2015 ; Tunick, 2014 ; Walstra et al., 2006). D'autre part, lorsque le lait cru de fromagerie est stocké à froid, les micelles de caséine subissent la dissolution des fractions de phosphate de calcium colloïdal et de caséine, ce qui est signalé comme altérant de la coagulation enzymatique du lait en augmentant le temps de coagulation de la présure et la fermeté du

Chapitre 1. Cadre théorique

caillé, réduisant ainsi potentiellement le rendement en fromage des laiteries (Guggisberg et al., 2022).

Les effets des variantes génétiques des protéines du lait sur les propriétés de coagulation du lait ont été étudiés (Gai et al., 2021). Par exemple, il a été rapporté que la variante C de α s1-CN est responsable de bonnes caractéristiques de coagulation de la présure, car elle est liée à une concentration élevée de caséine (Jōudu et al., 2007; Poulsen et al., 2013). Il a été rapporté également que le génotype β -CN soit associé à la fermeté du caillé (Bisutti et al., 2022; Vigolo et al., 2022) où la variante B du β -CN s'est avérée être la variante la plus avantageuse pour la coagulation de la présure du lait et la fabrication du fromage (Jensen et al., 2012; Ketto et al., 2017). Alors que, la variante B du κ -CN est associée à un temps de coagulation de la présure plus court (Bisutti et al., 2022; Gamba et al., 2013). Un autre facteur affectant la coagulation du lait, c'est la concentration de cellules somatiques (CCS), plusieurs études qui ont rapporté que le lait présentant des CCS élevées coagule lentement, se raffermisse et s'égoutte mal. Ils sont à l'origine d'une diminution du rendement fromager due à des pertes de protéines et de matières grasses dans le lactosérum (Cooney et al., 2000 ; Kalaydzhiev et al., 2021 ; Villalobos et al., 2015).

2.3 Égouttage

La prise en gel est donc suivie d'une phase d'égouttage du caillé, appelée synérèse, dans lequel le rétrécissement du gel provoque l'expulsion du lactosérum hors des pores du réseau protéique, puisque le lactosérum n'est pas chimiquement lié mais seulement physiquement piégé (Lucey, 2011). Le mode de coagulation influence fortement la structure du gel. Les gels obtenus par voie acide présentent des micelles associées en amas et s'égouttent spontanément mais lentement et incomplètement (Lucey, 2017). Au contraire, dans les laits issus de la voie enzymatique, les micelles sont associées en réseau et délimitent des vacuoles qui retiennent le lactosérum ; l'aptitude à l'égouttage spontané de ces gels est par conséquent faible (Fagan et al., 2017). Il est alors nécessaire d'appliquer des traitements physiques adéquats pour libérer le lactosérum comme le découpage, le brassage, le pressage et la cuisson (Fagan et al., 2017).

2.4 Salage

Le sel (chlorure de sodium) est ajouté presque à toutes les variétés de fromage à un moment donné de la fabrication. En termes de méthodes de salage, le fromage est soit plongé dans une saumure ou du sel est frotté sur la surface du fromage ou du sel est ajouté sur le

Chapitre 1. Cadre théorique

caillé moulu. La quantité de sel absorbée par le fromage dépend de la concentration de la saumure (ou de la quantité de sel ajoutée dans le cas du salage à sec), de l'humidité du caillé, de la température de l'environnement et du rapport de la surface au volume du fromage (Bintsis, 2006).

Le salage du fromage remplit diverses fonctions : (1) il affecte la croissance et la survie des bactéries ; (2) il affecte l'activité des enzymes (enzymes indigènes du lait, présure, enzymes de la microflore starter) ; (3) le sel favorise la synérèse du caillé, entraînant l'expulsion du lactosérum et donc une réduction de la teneur en humidité du fromage - principalement pour les fromages non cuits ; (4) il modifie l'hydratation des protéines ; (5) il a un effet positif sur l'arôme et le goût, soit directement pour donner l'arôme caractéristique, soit indirectement en masquant les défauts de goût ou en inhibant les bactéries indésirables qui provoquent les défauts de goût (Fox et al., 1998; Guinee, 2004).

2.5 L'affinage

A l'exception des fromages à pâte fraîche, tous les types de fromages sont affinés. L'affinage est un processus technologique crucial dans la fabrication du fromage constituant une cascade d'événements biochimiques et microbiologiques, médiée par le flux métabolique des cultures primaires et auxiliaires, pour permettre le développement des caractéristiques particulières tel que la texture, l'arôme et la saveur (Broadbent et Steele, 2005; Fox et al., 2015). Les changements biochimiques qui ont lieu pendant la maturation comprennent le métabolisme du lactose, du lactate et du citrate résiduels ainsi que la lipolyse et la protéolyse. Suite à ces changements primaires, il y a des réactions biochimiques secondaires qui sont essentielles pour le développement de composés aromatiques volatils, y compris le métabolisme des acides gras et des acides aminés (Tudor Kalit et al., 2020).

La protéolyse est considérée comme le plus complexe et le plus important des changements biochimiques primaires qui se produisent dans la plupart des fromages pendant l'affinage (Rodrigues et al., 2018). Il a été démontré que la période et les conditions d'affinage influencent les paramètres physiques, chimiques et rhéologiques ainsi que les attributs sensoriels des fromages affinés (Bárcenas et al., 2001; Pinho et al., 2004). Des enzymes telles que la plasmine native et la chymosine présure, toutes deux largement retenues dans le caillé, attaquent rapidement les fractions de caséine, initiant la maturation protéolytique du fromage (Sforza et al., 2012). La poursuite de la dégradation de la caséine en peptides et en acides aminés libres prend plus de temps et nécessite la contribution de peptidases microbiennes

Chapitre 1. Cadre théorique

(Masotti et al., 2010). Les lipases microbiennes sont responsables de la libération d'acides gras libres qui contribuent au développement de la saveur du fromage (Malacarne et al., 2009).

Au cours de l'affinage, les différents micro-organismes produisent des enzymes, notamment des protéinases et des lipases, qui hydrolysent les protéines et les graisses, en acides aminés et en acides gras, qui, à leur tour, sont les précurseurs des composés qui confèrent la saveur au fromage (Budak et al., 2018). Ces dernières années, de nouvelles biotechnologies pour favoriser la maturation du fromage et améliorer la saveur ont été fréquemment explorées, y compris l'inoculation de cultures supplémentaires et d'enzymes exogènes, et l'impact de la température et de la haute pression sur la qualité du fromage (Khattab et al., 2019).

3 Microbiologie du fromage

Selon la littérature, les fromages, notamment les fromages artisanaux, constituent des écosystèmes microbiens complexes (Zheng et al., 2021). La composition microbienne des fromages dépend du microbiote du lait cru et de la communauté microbienne de l'environnement présente tout au long du processus de fabrication des fromages (Montel et al., 2014). La microflore du fromage est divisée en deux groupes de base, les cultures starter et la flore secondaire (Beresford et al., 2001; Pintado et al., 2014). Les deux groupes contribuent essentiellement à la formation de l'arôme/saveur souhaité et des caractéristiques texturales du fromage. Les cultures starter fermentent le sucre du lait (lactose) pour produire de l'acide lactique et d'autres acides organiques qui réduisent le pH du lait, entraînant ainsi la coagulation (Beresford, 2003; Pintado et al., 2014). Alors que, la microflore secondaire joue un rôle décisif lors de l'affinage du fromage et est normalement appelée bactéries lactiques non starter (BLNS), autres groupes bactériens, levures et moisissures qui peuvent se développer à l'intérieur ou à l'extérieur dans la plupart des variétés de fromage (Beresford, 2003). Autrement dit, ces micro-organismes (bactéries, levures et moisissures) sont responsables de la fermentation du lait et des nombreuses réactions biochimiques (protéolyse, lipolyse et glycolyse) se produisant lors de la fabrication et de l'affinage, qui donnent naissance aux textures et aux saveurs distinctives du fromage (Settanni et Moschetti, 2010).

Au cours de l'affinage, les différents micro-organismes produisent des enzymes, notamment des protéinases et des lipases, qui hydrolysent les protéines et les graisses, en acides aminés et en acides gras, qui, à leur tour, sont les précurseurs des composés qui

Chapitre 1. Cadre théorique

confèrent la saveur au fromage. Les propriétés sensorielles du fromage dépendent du type de lait utilisé, de l'alimentation donnée à l'animal fournisseur, des pratiques de fabrication impliquées, de l'environnement d'affinage, de la durée d'affinage et du type, du nombre et de l'activité des micro-organismes dans le produit en formation (Fox et al., 2017).

3.1 Principaux microorganismes du fromage

3.1.1 Bactéries

La flore bactérienne présente au sein des fromages peut être originaire du lait de départ, de l'équipement et environnement de production ou provenir de l'ajout de ferments lactiques en cours de fabrication (Ozturkoglu-Budak et de Vries, 2017; Pyz-Łukasik et al., 2018).

3.1.1.1 Les bactéries lactiques starters (BLS)

Le microbiote indigène du lait cru est généralement assez diversifié et hétérogène et a un impact significatif sur le microbiote global du fromage. Certains de ces micro-organismes, en particulier les bactéries lactiques (BL), principalement du genre *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*, peuvent contribuer à l'acidification du lait lors des premières étapes de la fabrication du fromage (Quigley et al., 2013). Cette catégorie des BL est communément appelée « starters » ou primaires, car ils déclenchent la production d'acide lactique, conduit à un abaissement du pH qui contribue à la coagulation des protéines du lait, sans qu'il soit nécessaire d'ajouter des cultures starters (Riquelme et al., 2015). De plus, l'utilisation des BL en tant que cultures starter et cultures auxiliaires garantit des produits microbiologiquement sûrs, car ces cultures inhibent le développement de micro-organismes indésirables en produisant des composés qui empêchent leur croissance, tels que les acides organiques, les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène (Callanan et Ross, 2004; Parente, 2004; Vázquez-Velázquez et al., 2018) et la capacité de contribuer à la saveur souhaitée et la production possible d'exopolysaccharides pour améliorer la texture (Jurášková et al., 2022).

Les cultures starters majoritairement composées de BL sont divisées en deux types : mésophiles et thermophiles. Les starters mésophiles (température optimale de croissance à 30°C) comprennent les lactocoques (*Lactococcus lactis subsp. lactis* et *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) et parfois les leuconostocs, et les cultures thermophiles (température de croissance optimale à 42°C) comprennent *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles

Chapitre 1. Cadre théorique

thermophiles (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Lactobacillus helveticus*) (Fox et al., 2004; Kelleher et al., 2015; Ustunol et al., 2014).

3.1.1.2 Les bactéries lactiques non starters (BLNS)

Tous les fromages affinés pendant une durée quelconque, à l'exception des fromages non affinés, contiennent des bactéries lactiques non starter (BLNS). Cette microflore secondaire joue un rôle décisif lors de l'affinage du fromage (Hayaloglu, 2016). Les BLNS constituent un groupe particulièrement hétérogène et comprennent les lactobacilles mésophiles, les entérocoques, les pédiocoques et les *Leuconostoc* (Beresford et Williams, 2004 ; Casey et al., 2006 ; Cogan et al., 2007). Les lactobacilles mésophiles constituent le groupe prédominant et le plus important du microbiote du BLNS (Gobbetti et al., 2015). Parmi les lactobacilles mésophiles, les hétérofermenteurs facultatifs qui sont les plus abondants dans le BLNS (Casey et al., 2006), principalement *Lactobacillus casei subsp. casei*, *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* et *Lactobacillus plantarum* (Beresford et al., 2001). Les espèces hétérofermentaires obligatoires couramment trouvées dans le fromage, par exemple, *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus fermentum* (Pintado et al., 2014). Les espèces non-Lactobacilles de LBNS couramment isolées du fromage pendant l'affinage sont Les pédiocoques (*Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*) (Beresford et al., 2001) et les entérocoques, (*Enterococcus durans* et *Enterococcus faecalis*) qui sont les plus abondants dans le fromage (Domingos-Lopes et al., 2017; Pintado et al., 2014). Au sein du genre *Leuconostoc*, l'espèce *Leuconostoc mésenteroïdes* et *Leuconostoc citreum* ont été détectés dans des fromages artisanaux produits à partir de lait cru (Biolcati et al., 2020; Domingos-Lopes et al., 2017).

Lorsque les bactéries lactiques primaires (LBS) déclinent, les LBNS augmentent et contribuent largement au développement de la texture finale et la saveur du fromage (Gatti et al., 2014; Lindner et al., 2008). Le fromage contient du lactose à de très faibles concentrations, par conséquent, LBNS utilise des hydrates de carbone dérivant de glycomacropéptides de caséines et de glycoprotéines dérivant de membranes de globules gras (Pintado et al., 2014). L'origine de LBNS peut varier, mais la principale source est le lait cru (Casey et al., 2006 ; Cogan et al., 2007 ; Gobbetti et al., 2015). La diversité microbienne des fromages au lait cru dépend du microbiote du lait, des ingrédients utilisés et des procédés utilisés dans la production de fromage (Casey et al., 2006; Gobbetti et al., 2015).

Chapitre 1. Cadre théorique

3.1.1.3 Propionibactéries

Ils constituent le microbiote caractéristique des fromages de type Suisse. La fonction principale du propionibactérie est de métaboliser l'acide lactique produit par les bactéries primaires en acides acétique et propionique et dioxyde de carbone dans les fromages de type suisse (l'Emmental et le Comté) et jouent un rôle clé dans la formation des acides gras libres et de l'acide isovalérique, contribuant à la saveur et à l'apparence (formation des yeux), caractéristiques des fromages de type suisse (Thierry et al., 2004). *Propionibacterium freudenreichii* est l'espèce la plus importante et ne pousse que dans le fromage (Hayaloglu, 2016).

3.1.1.4 Microcoques, Staphylocoques et Bactéries corynéformes

La fabrication du fromage frais prend généralement de cinq à 24 heures environ. Il s'agit de l'acidification du lait par les bactéries lactiques et de l'action de la présure, entraînant la coagulation du lait. Le gel est ensuite découpé et le caillé égoutté est transféré dans des moules. Les fromages sont ensuite salés et transférés dans des affineries. Le temps d'affinage des fromages affinés en surface est généralement de 2 à 4 semaines. Pendant ce temps, il y a une croissance et une activité intenses de micro-organismes aérobies (microcoques, staphylocoques et bactéries corynéformes) à la surface de nombreux types de fromages (Monnet et al., 2015), généralement, les staphylocoques sont les premiers à se développer à la surface du fromage, suivis des corynéformes. Les bactéries de surface, et en particulier *Brevibacterium linens*, *Brachybacterium alimentarium*, *Corynebacterium casei*, et *Microbacterium gubbeenense* sont couramment utilisés comme ferments d'affinage (Mounier et al., 2007). Ces bactéries, jouent un rôle majeur dans l'affinage des fromages par leurs activités protéolytique et lipolytique qui conduisent à la formation de composés aromatiques, et elles sont à l'origine de la coloration de la croûte des fromages (Irlinger et Mounier, 2009).

3.1.2 Les levures

Les levures constituent une part importante du microbiote des fromages, et en particulier à la surface de ceux fabriqués à partir de lait cru (Bintsis, 2021). Ils jouent un rôle majeur dans les fermentations laitières en raison de leur capacité à utiliser le lactose ou le galactose et à se développer à basse température et à forte concentration en sel et se caractérisent aussi par une tolérance à un niveau bas de pH (Beresford et Williams, 2004; Hayaloglu, 2016).

Chapitre 1. Cadre théorique

Cependant, la population de levures est associée au microbiote secondaire d'un certain nombre de fromages, principalement artisanaux, où elles ont un impact sur le processus de maturation (Angelidis et Papademas, 2015). Leurs activités protéolytiques et/ou lipolytiques élevées apportent des contributions essentielles à la texture et aux caractéristiques aromatiques du fromage (Beresford et Williams, 2004). Les espèces de levure les plus répandues isolées du fromage étaient *Galactomyces candidus*, *Candida parapsilosis*, *Candida sake*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis* et *Saccharomyces cerevisiae* (Banjara et al., 2015; Hayaloglu, 2016).

3.1.3 Les moisissures

Les moisissures jouent un rôle important dans l'affinage des fromages affinés aux moisissures, où un consortium complexe de levures, de bactéries et de champignons filamenteux se forme au cours de la phase de maturation (Metin, 2018). Leur contribution à la protéolyse et à la lipolyse conduit à des améliorations de la texture, de la saveur et de la qualité nutritionnelle des fromages (Metin, 2018).

Les fromages affinés aux moisissures sont divisés en deux groupes : les fromages affinés aux moisissures à cœur et les fromages affinés aux moisissures en surface (Leclercq-Perlat, 2011). Dans le premier groupe (Roquefort, Gorgonzola, Stilton, bleu danois, Cabrales), *Penicillium roqueforti* se développe et forme des veines bleues dans le fromage, tandis que dans le second groupe (Camembert et Brie), *Penicillium camemberti* se développe à la surface du fromage (Beresford et al., 2001). Les moisissures les plus courantes trouvées dans les fromages étaient : *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium sphaerospermum* (Banjara et al., 2015).

3.2 Facteurs affectant la croissance microbienne

De nombreux facteurs, notamment l'activité de l'eau, le sel, le pH et les acides organiques, la température d'affinage et le potentiel redox, affectent la croissance des micro-organismes dans le fromage.

3.2.1 L'activité de l'eau (AE)

Tous les micro-organismes ont besoin d'eau pour leur croissance, mais c'est la disponibilité de l'eau, plutôt que la quantité totale présente, qui est le facteur important. La disponibilité de l'eau est mesurée par l'activité de l'eau (AE), qui est définie comme le rapport de la pression de vapeur dans le fromage à la pression de vapeur de l'eau pure (Preetha et

Chapitre 1. Cadre théorique

Narayanan, 2020). Le NaCl et les acides organiques (lactate, acétate et propionate) se dissolvent dans l'humidité du fromage et réduisent la pression de vapeur. Plus la concentration de ces composés est élevée, plus l'AE est faible (Hayaloglu, 2016). Lors des premières étapes de fabrication du fromage, l'activité de l'eau (AE) est proche de 1, favorisant la croissance de la plupart des micro-organismes.

Cependant, après égouttage du lactosérum, salage et pendant la maturation, les niveaux d'AE chutent à 0.988–0.917, des valeurs nettement inférieures aux besoins optimaux de nombreux micro-organismes (bactéries lactiques starter) (Beresford et al., 2001). Cependant, à ces niveaux d'AE, la plupart des bactéries lactiques non starter et des micro-organismes contaminants sont capables de se développer dans le fromage (Beresford et Williams, 2004).

3.2.2 Le sel

L'action du sel est intimement liée à la réduction de l'AE qui se produit lorsque le sel (ou tout soluté) se dissout dans l'eau, et génère donc un effet inhibiteur sur les cultures starter et les micro-organismes d'altération/pathogènes (Fox et al., 2004). Le niveau de sel nécessaire pour assurer une inactivation microbienne complète dans le fromage dépend de la structure et de la teneur en eau du fromage (Cogan et Beresford, 2002). Dans le calcul de l'effet inhibiteur du sel dans le fromage, c'est la quantité de sel dissoute dans l'eau du fromage, plutôt que la concentration réelle de sel, qui est le paramètre important (Hayaloglu, 2016).

3.2.3 Le pH

La plupart des bactéries se développent mieux à des pH neutres. Très peu de groupes bactériens (*Lactobacillus spp.*) peuvent se développer à des valeurs de pH inférieures à 4 (Jay, 2000; ray et Bhunia, 2004). Le pH du caillé de fromage après fabrication se situe généralement dans la plage de 4,5 à 5,3. Comparativement aux bactéries, les levures et les moisissures peuvent se développer dans une plage de pH beaucoup plus large et la variation du pH n'affecte pas de manière remarquable la croissance des levures et des moisissures, la plupart des levures et les moisissures ont un pH optimal de 5 à 7 mais peuvent se développer à des valeurs de pH < 3,0 (Beresford et al., 2001; Hayaloglu, 2016).

3.2.4 Les acides organiques

Les principaux acides trouvés dans le fromage sont propionique, acétique et lactique, l'acide lactique est le moins efficace et le propionique le plus efficace (McSweeney, 2007).

Chapitre 1. Cadre théorique

Ces composés traversent la membrane cellulaire bactérienne et s'ionisent à l'intérieur des cellules (Pintado et al., 2014). Les protons libérés à l'intérieur des cellules acidifient les cellules et provoquent ainsi une lyse bactérienne. D'autre coté, en milieu fromager, l'acide propionique exerce un effet antimicrobien contre les moisissures (Hayaloglu, 2016; Pintado et al., 2014).

3.2.5 La température

Les micro-organismes se développent dans une large plage de températures, et chaque micro-organisme a une plage de températures définie dans laquelle il se développe, avec un minimum, un maximum et un optimal. La température a un impact considérable à la fois sur la durée de génération d'un organisme et sur sa période de latence (Preetha et Narayanan, 2020). Les micro-organismes impliqués dans la fabrication et l'affinage du fromage sont soit mésophiles, soit thermophiles, ayant une température de croissance optimale à environ 30 et 42°C, respectivement. La température optimale pour l'affinage du fromage est une relation entre la nécessité de favoriser les réactions d'affinage garantissant le développement d'une flore secondaire souhaitable et la nécessité d'empêcher la propagation d'altérations potentielles et de bactéries pathogènes (Beresford et al., 2001).

3.2.6 Potentiel d'oxydo-réduction

Le potentiel redox du fromage est l'un des principaux facteurs déterminant les types de micro-organismes qui se développeront dans ces produits laitiers (Beresford et al., 2001). Les valeurs positives du potentiel redox indiquent un environnement qui favorise les réactions d'oxydation, tandis que les valeurs négatives font référence à un environnement réducteur (Caldeo et McSweeney, 2012). Le potentiel redox (Eh) du fromage est d'environ -250 mV, mais pendant l'affinage il diminue progressivement (Hayaloglu, 2016). Le mécanisme exact de la diminution de Eh lorsque le fromage est produit à partir de lait n'est pas clair mais est probablement lié à la fermentation du lactose en acide lactique et la consommation d'oxygène par les bactéries lactiques., créant ainsi un environnement anaérobie dans lequel seuls les microbes anaérobies obligatoires ou facultatifs peuvent se développer (Beresford et al., 2001; Boucher et al., 2006).

Les différences entre les potentiels redox des différentes parties du fromage déterminent la flore dominante du fromage, les microbes prédominants à l'intérieur du fromage sont des micro-organismes anaérobies ou aérobies facultatifs, alors qu'à la surface du

Chapitre 1. Cadre théorique

fromage, ce sont principalement les aérobies obligatoires qui se développent (Beresford et al., 2001).

4 Principaux fromages traditionnels algériens

Les produits laitiers traditionnels sont étroitement liés au territoire d'origine et témoignent ainsi de l'histoire, de la culture et du mode de vie des communautés rurales qui les produisent (Licitra, 2010). Les fromages traditionnels font partie de ces produits qui sont devenus l'image de différents pays, principalement dans les régions entourant la mer Méditerranée. L'Algérie est l'une de ces régions qui a des traditions bien établies dans la fabrication de fromages traditionnels même si l'activité est limitée à la sphère domestique (Leksir et Chemmam, Leksir et al., 2019; 2015). Ces fromages diffèrent les uns des autres par leur procédé de fabrication, le type de coagulation (enzymatique et/ou acide), le temps d'affinage (si appliqué), le type de lait utilisé, la texture, la couleur, l'arôme et la diversité microbienne (Kamimura et al., 2019).

Les fromages traditionnels algériens sont divisés en différentes classes comprenant : les fromages fondus (*Medghissa*), les fromages affinés (*Bouhazza*), les fromages à pâte dure (*Klila*, *Takammart*, *Ioulsân*) et les fromages frais (*Kemariya*, *Mechouna*, *Jben*) (Leksir et al., 2019).

4.1 Les fromages fondus

4.1.1 *Medghissa*

La *Medghissa* est un fromage traditionnel algérien connu dans la région des Aurès sous son original nom « *Imdeghest* ». C'est un fromage fondu, préparé par la cuisson de *Klila* semi sèche du lait entier de vache, chèvre ou de brebis, sur feu doux. Ce fromage est consommé comme un dessert et appréciée pour son élasticité (Khoualdi et Zidoune, 2017).

4.2 Les fromages affinés :

4.2.1 *Bouhazza*

Bouhazza est un fromage traditionnel algérien fermenté à pâte molle, originaire de la région de Chaouia située au Nord-Est de l'Algérie (Oum El Bouaghi, Khenchela, Batna...) (Zitoun et al., 2011). Ce fromage est fabriqué à partir de différents types de lait cru (vache, brebis et chèvre), utilisés seuls ou en mélange mais la tendance actuelle semble être à l'utilisation du lait de vache (Medjoudj et al., 2017 ; Zitoun et al., 2011 ; Zitoun et al., 2012).

Chapitre 1. Cadre théorique

Le traitement thermique pendant la fabrication du fromage n'est pas effectué. En général, la fabrication du fromage s'effectue dans des sacs « Chekoua » en peau d'animal (de chèvre ou de mouton) préalablement traitée au sel et au genévrier. En effet, la Chekoua joue à la fois le rôle d'un séparateur de phase, c'est à travers les perforations naturelles de la peau que le lactosérum est exsudé et d'un contenant de la masse fromagère qui s'accumule au cours du temps (Zidoune, 2014).

La fabrication traditionnelle du fromage *Bouhezza* n'obéit pas aux règles générales de la fromagerie (succession d'étapes) où la fabrication de ce produit a la particularité d'impliquer la coagulation, l'égouttage, le salage et l'affinage simultanément pendant une durée de 2 à 3 mois (Zidoune, 2014). La Chekoua, dans laquelle le *Lben* (un produit fermenté semblable au babeurre) et le sel sont ajoutés régulièrement est suspendue dans un endroit aéré et à l'ombre (Zitoun et al., 2011). La face externe de la peau est nettoyée par raclage et rinçage avec l'eau. Une fois le fromage est affiné un ajout de lait cru est réalisé pour ajuster l'acidité et la salinité du fromage. Le fromage est pétri avec l'adjonction de poudre de piment rouge, ce qui lui confère une caractéristique particulière (Zidoune, 2014).

4.3 Les fromages à pâte dure

4.3.1 *Klila*

Le *Klila* est un fromage fermenté à pâte dure produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie, notamment dans les zones steppiques et montagneuses, connaît un succès grandissant auprès des consommateurs. Il est traditionnellement fabriqué avec du lait de brebis, de chèvre ou de vache, conduisant à un produit à haute teneur en matière sèche (> 80%), ce qui lui permet d'être stocké sur de longues périodes sans aucun risque d'altération microbienne (Benamara et al., 2016). Le *Klila* est obtenu à partir d'un lait de baratte fermenté (*Lben*) par un chauffage relativement modéré (entre 55 et 75C°) du *Lben* jusqu'à l'obtention d'un coagulum (entre 10 et 15 minutes) et sans utilisation de culture starter (Mennane et al. 2007).

Le coagulum peut être consommé tel qu'il est après égouttage naturel (fromage frais) ou bien, il peut subir un découpage et séchage (réhydratation de 2 à 15 jours selon la saison) et être utilisé comme un ingrédient dans les préparations culinaires traditionnelles (Leksir et al., 2019). Le fromage *Klila* se conserve plusieurs années à température ambiante sous sa forme déshydratée, dans des jarres en poterie ou en verre, dans des sacs en peau de chèvre ou de mouton (Benamara et al., 2016; Lahsaoui, 2009).

Chapitre 1. Cadre théorique

4.3.2 *Takemmart*

Littéralement 'Fromage' en langue Tamasheq (Touaregs), le *Takemmart* est un fromage de la région désertique du Hoggar (province de Tamanrasset au sud de l'Algérie), produit par l'introduction d'un morceau de caillettes de chevreaux dans le lait. Le caillé est prélevé à l'aide d'une louche et déposé en petits d'un récipient propre sur une tapie (Leksir et al., 2019). La pâte est ensuite pétrie à la main afin d'égoutter le lactosérum puis les plaquettes de fromage sont exposées pour le séchage à l'air libre sur une natte de séchage à base de tiges de fenouil qui lui transmet un arôme particulier pendant deux jours pour évaporer le maximum de lactosérum et placés à l'ombre jusqu'au durcissement complet du fromage (McSweeney, Ottogalli, et al., 2017; Zitoun et al., 2011).

4.3.3 *Ioulsân (Aoules)*

L'*Aoules*, ou *Ioulsân*, est un fromage traditionnel algérien de la région du Hoggar (Tamanrasset), préparé par les Touaregs ou Ihaggarren (Leksir et al., 2019). C'est un fromage sec typique (87% à 92% de matière sèche), obtenu par le chauffage modéré du babeurre (*Lben*) écrémé issu de lait de chèvre coagulé spontanément (McSweeney, Ottogalli, et al., 2017). Le chauffage est fait dans un récipient en argile jusqu'à la précipitation des caséines. Le précipité est filtré dans un panier de paille et le caillé est pétri en petite quantité, façonné en cylindres (2 cm d'épaisseur, 6 à 8 cm de diamètre). Le fromage est ensuite séché au soleil, broyé et stocké (Mattiello et al., 2018; Nyamakwere et al., 2021). Ce fromage se consomme généralement avec les dates (Benkerroum, 2013).

4.4 Les fromages frais

4.4.1 *Michouna (Chnina)*

Chnina (*Mechouna*, *Michouna*) est un fromage frais à pâte molle fréquemment fabriqué dans la région de Tébessa surtout en milieu rural, préparé avec du lait de chèvre ou de vache. Traditionnellement, le *Michouna* est préparé avec du lait de chèvre, mais actuellement le lait de vache est fréquemment utilisé en raison de la disponibilité de ce lait par rapport au lait de chèvre (Derouiche et Zidoune, 2015).

Le processus de fabrication commence par un traitement thermique du lait jusqu'à ébullition. Ensuite, le *Lben* est ajouté avec le sel, la quantité de *Lben* est la moitié de celle du lait, alors que la quantité de sel est liée à la quantité de lait utilisée et au Goût de chaque fabricant, elle peut aller d'une cuillère à café à 2-3 cuillères à soupe (Leksir et al., 2019).

Chapitre 1. Cadre théorique

L'ensemble est chauffé une seconde fois jusqu'à la coagulation et la séparation du caillé et du lactosérum. Le caillé est séparé du lactosérum par filtration d'abord à travers une passoire puis dans un tissu en mousseline (chache), puis suspendu et laissé s'égoutter jusqu'à élimination complète du lactosérum. Généralement, cette étape peut durer une nuit. Le fromage est récupéré et conservé dans des récipients froids en verre ou en plastique. La conservation de ce fromage ne doit pas dépasser 6 jours. Dans le but d'améliorer sa qualité organoleptique, ce fromage peut être additionné de plusieurs épices selon le choix des consommateurs (Derouiche et Zidoune, 2015).

4.4.2 *Kemariya (Takmmèrit)*

Kémariya (Kemariya ou Takmmèrit) (en Berbère) est un fromage traditionnel frais, très répandu dans le sud de l'Algérie, notamment dans la région du M'zab (Ghardaïa), selon des méthodes traditionnelles. *Kemariya* est un fromage souvent consommé comme un dessert lors d'occasions festives et de fêtes religieuses avec du miel, et servi avec du thé à la menthe (Nouani et al., 2009).

Généralement ce fromage frais produit principalement à partir de lait de chèvre, préalablement salé et chauffé à 37°C puis emprésuré par présure végétale (fleurs de chardon) ou animale (caillette de chevreau). Après coagulation, le caillé est découpé et égoutté dans un tissu en mousseline (chache), puis suspendu et laissé s'égoutter jusqu'à élimination de la totalité du lactosérum, pour une période allant jusqu'à 24h, cependant le lait de vache et de chamelle sont également utilisés dans la fabrication de ce fromage (McSweeney, Ottogalli, et al., 2017). En raison de la forte demande pour ce fromage, il est de plus en plus produit par de petites usines avec des procédés semi-industriels pour être vendu à la fois sur les marchés traditionnels et au niveau de certaines grandes surfaces du nord algérien (Bendimerad, 2013; McSweeney, Ottogalli, et al., 2017).

4.4.3 *Jben*

Le *Jben* est un fromage frais traditionnel algérien produit à partir de lait cru de vaches, chèvres et brebis, à petite échelle pendant la période d'abondance laitière dans une zone restreinte du Nord-Est et -Ouest de l'Algérie (Tadjine et al., 2020). La préparation de ce fromage nécessite la coagulation enzymatique du lait. Le coagulant peut être d'origine végétale par l'utilisation de l'extrait de plusieurs plantes telles que la fleur de chardon (*Cynara cardunculus L.*), la fleur d'artichaut (*Cynara Scolymus*) et la feuille de figuier (*Ficus carica*), ou un coagulant d'origine animale, le plus fréquemment utilisé dans la plupart des régions en

Chapitre 1. Cadre théorique

Algérie est le morceau d'abomasum appelé dans certaines régions Douth (Hakka) (Derouiche et al., 2017; Hayaloglu, 2017; Medjoudj et al., 2020).

Concernant la fabrication du *Jben*, le lait est d'abord filtré pour éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir, puis il est chauffé dans un récipient à 40 °C pendant 10 min, puis un morceau de présure d'origine animale (veau, agneau ou chevreau) est mis dans le lait, ce qui fait cailler le lait, ou par coagulant d'origine végétale où les fleurs (fleurs de chardon) entières sont mises à macérer dans la lait jusqu'à coagulation (Amimour, 2019; Lahsaoui, 2009). Une fois la coagulation terminée, le coagulant est retiré et le caillé formé est transféré à la louche dans un récipient poreux. L'égouttage et le moulage peuvent être réalisés en même temps par des moules spécifiques, cette opération peut être renforcée par un pressage qui permet d'éliminer le sérum piégé dans le caillé mais aussi d'augmenter la cohésion du fromage (Derouiche et al., 2017).

Selon les régions, le caillé obtenu peut être salé, pour des fins organoleptiques, des additifs (l'ail, le persil, le poivre) peuvent être ajoutés (Bendimerad, 2013). D'autre part, les agents de coagulation utilisés influencent l'agrégation micellaire, qui est un élément clé dans la définition des caractéristiques du caillé et de la fermeté finale du gel, ce qui peut affecter la teneur en humidité, la texture et la saveur du fromage (Gomes et al., 2019).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Chapitre 2. Matériels et méthodes

1 Plan de l'étude

Le présent travail a été scindé en quatre parties :

La première partie était axée sur la fabrication d'un fromage frais à partir du lait cru de vache (*Jben*), en utilisant différentes méthodes traditionnelles dès la traite du lait jusqu'aux étapes de production. La deuxième partie de notre étude va s'appuyer sur la caractérisation des principaux paramètres physico-chimiques (pH, acidité, matière sèche, matière grasse, protéine, cendres et activité de l'eau) du fromage traditionnel (*Jben*) fabriqué à l'aide de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal).

Ensuite, pour mieux caractériser biochimiquement ce fromage (profil d'acides gras et indices de qualité des lipides, protéolyse primaire et fraction minérale), différentes techniques ont été utilisées ; chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG-MS), la spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) et l'électrophorèse sur gel urée-polyacrylamide (Urée-PAGE).

Enfin, et après cette caractérisation citée précédemment, une analyses microbiologique préliminaire se basant sur le dénombrement des principaux groupes microbiens a été effectuée, cette partie se termine par une analyse en composantes principales (ACP), séparément chez les deux types de fromage (FPA et FPV) pour évaluer les interactions et la relation entre les paramètres physico-chimiques (pH, acidité, matière sèche, matière grasse, protéine, cendres et activité de l'eau) et microbiologiques (Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), *Salmonella spp*, des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL)).

2 Cadre d'étude

Notre étude a été effectuée sur une période de quatre ans allant du mars 2018 au décembre 2022. Les échantillons (18 en total) de fromage traditionnel (*Jben*) étudiés ont été fabriqués à partir du lait cru de vache dans différentes localités de l'Est algérien (Khenchela, Tébessa, Oum el Bouaghi).

Dans la première partie, les analyses physico-chimiques ont été réalisées au niveau de Laboratoire du Biochimie de la faculté de Sciences de la Nature et de Vie, de l'université Abbas Leghrour de Khenchela, le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) à Ouargla, Laboratoire de Physico-Chimie dans le centre

Chapitre 2. Matériels et méthodes

d'expertise agroalimentaire ACTALIA en France et dans le Laboratoire d'Élevage et Faune Sauvage à l'institut des régions arides de Médenine (Tunisie).

Pour la deuxième partie, la détermination du profil d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse (CG-MS) a été réalisée dans le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) à Tipaza et Laboratoire de Physico-Chimie dans le centre d'expertise agroalimentaire ACTALIA en France, alors que, la protéolyse primaire sur électrophorèse (Urée-PAGE) et la fraction minérale par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) dans le Laboratoire d'élevage et faune sauvage à l'institut des régions arides de Médenine (Tunisie).

Concernant la troisième partie, le dénombrement de la flore microbienne a été réalisé dans le Laboratoire de Microbiologie de la faculté de Sciences de la Nature et de Vie, de l'université Abbas Leghrour de Khenchela.

3 Objectifs du travail

L'objectif principal du travail était la fabrication, la caractérisation physico-chimiques, biochimique et microbiologique d'un fromage traditionnel frais (*Jben*) fabriqué à l'aide de deux agents de coagulation du lait (animal et végétal). Pour ce faire, une constellation d'analyses ont été réalisées pour caractériser ce fromage de terroir. Notre caractérisation consiste à acquérir, en outre, la connaissance de son diagramme de fabrication, la caractérisation physico-chimique et biochimique ainsi que le dénombrement des principaux groupes microbiens bénéfiques tels que les bactéries lactiques et la flore pathogène et d'altération afin, d'essayer de positionner correctement ce fromage même si ce n'est que partiellement par rapport aux fromages de terroir.

4 Matériels

4.1 Prélèvement et transport d'échantillons

Les échantillons de lait ont été prélevés juste après la traite ; une quantité de lait (4 litres) a été récupérée et placée dans des glacières propres. Les échantillons ont ensuite été amenés directement au laboratoire dans des récipients stériles et réfrigérés (4°C) jusqu'à analyse. Ces échantillons ont été préparés et collectés dans différentes localités de l'Est algérien (Khenchela, Tébessa et Oum el Bouaghi).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

4.2 Préparation des agents de coagulation

Pour la présure animale, nous avons préparé notre présure à partir de la caillette d'agneau coupée en lanières puis séchée. Le temps de séchage est de deux semaines pendant les saisons chaudes mais peut durer jusqu'à 1 à 2 mois pendant les saisons froides, tandis que, pour les fleurs de chardon (*Cynara cardunculus*) afin d'obtenir une activité coagulante optimale et un rendement d'extraction plus élevé, les fleurs de chardon doivent être récoltées à un stade avancé de floraison (violet foncé), à partir de capitules frais et bien développés puis conservées dans un linge pour sécher à température ambiante et à l'abri de la lumière directe du soleil, dans un endroit bien ventilé pendant 10 à 20 jours (Aquilanti et al., 2011; Roseiro et al., 2003).

5 Méthodes

5.1 Fabrication du fromage

Dans les procédures traditionnelles de préparation du *Jben*, le lait de vache cru est généralement utilisé. Le lait est d'abord filtré pour éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir, puis il est chauffé dans un récipient à 40 °C pendant 10 min, par la suite, un morceau de présure d'agneau appelée localement *Hakka* (environ 1g de pâte de présure dans 4 litres de lait) est mis dans un tissu poreux et ce dernier est immergé dans le lait pendant qu'il est modérément chauffé, provoquant le caillage du lait. Après coagulation, le coagulum ainsi obtenu est égoutté dans des sacs de tissus en mousseline. Ces sacs sont ensuite suspendus pour laisser le lactosérum s'écouler à température ambiante. La durée d'exposition du caillé à l'air dépend de la consistance souhaitée de la pâte. Généralement, la pâte obtenue est purement lactique, elle est souvent mal soudée et très humide.

Une fois égoutté, le caillé est divisé en petits morceaux et mis dans des boîtes en verre. Pour le deuxième type de fromage ; *Jben* à base présure végétale (FPV), nous avons suivi le même procédé mais cette fois la présure utilisée était constituée de fleurs de chardon (une quantité de 2 g de fleur séchée dans 4 litres de lait). Sachant que, les étapes de notre procédé de transformation du lait en fromage (*Jben*) a suivi le protocole décrit par (Lahsaoui, 2009) (**Fig.4**). Pour chaque coagulant, deux échantillons de fromage ont été produits à partir du même lot du lait.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

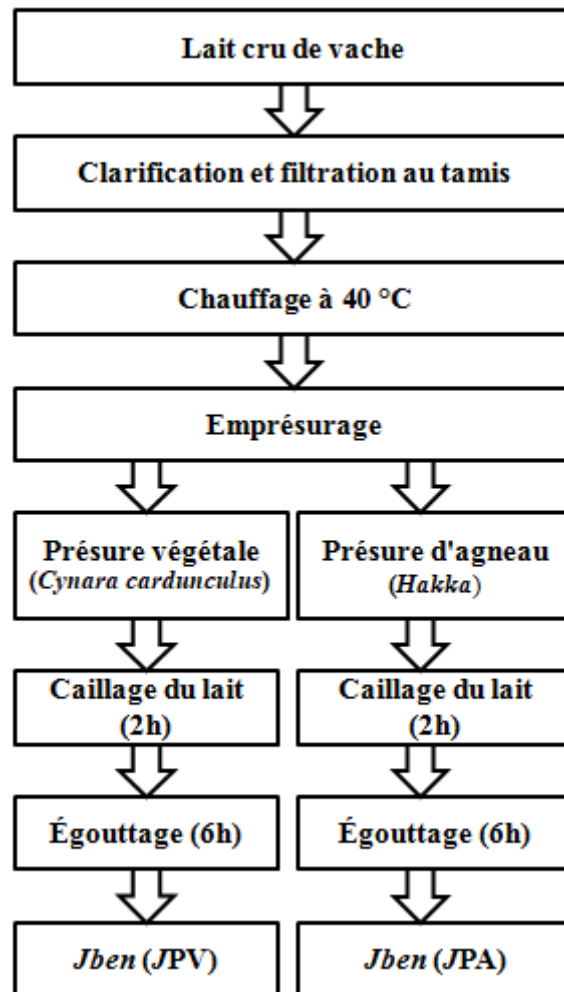


Figure 4. Diagramme de la préparation du fromage traditionnel (*Jben*)

5.2 Analyses

Après égouttage, les échantillons du fromage ont été coupés et divisés en plusieurs morceaux pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques, biochimique ainsi que le dénombrement des principaux groupes microbiens.

5.2.1 Analyses physico-chimiques du fromage

5.2.1.1 Détermination du pH

Les échantillons de fromage (10 g) ont été homogénéisés avec 90 ml d'eau distillée, puis le pH de l'homogénat a été évalué en triple à l'aide d'un pH-mètre numérique (PHM 211, Meter Lab® standard), préalablement calibré par des solutions tampon (solutions à pH 4.00 et pH 7.00) à 0.01 unités de précision (Benamara et al., 2016).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

5.2.1.2 Acidité titrable

L'acidité totale a été mesurée selon la méthode de Nielsen. Dix grammes de fromage ont été placés dans un bécher de 50 ml, puis 10 ml d'eau distillée ont été ajoutés avec une pipette graduée et mélangés avec un agitateur magnétique. Le mélange est titré avec une solution de NaOH (0,1N) jusqu'à ce que la couleur vire au rose, en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré (Nielsen et Nielsen, 2017). Le résultat est exprimé en grammes d'acide lactique pour cent gramme de fromage ou en degré Dornic (°D).

5.2.1.3 Teneur en matière sèche

La procédure standard « NF ISO (5534:2004) » a été utilisée pour mesurer la teneur en matière sèche des fromages (ISO, 2004). Les échantillons *Jben* ont été placés dans une étuve à 102 ± 2 °C pendant 24 h. La pesée a été effectuée après refroidissement et une fois que l'échantillon a atteint un poids constant, l'extrait sec a été calculé.

5.2.1.4 Teneur en cendres

Le dosage des cendres dans le fromage a été réalisé selon la norme AOAC (AOAC, 2005a). La teneur en cendres des échantillons a été déterminée par gravimétrie après incinération de la matière fromagère (5 g) à l'aide d'un four à moufle, en augmentant la température progressivement jusqu'à 550°C. Les échantillons ont ensuite été laissés à incinérer pendant environ 6 heures. La température a été réduite, les échantillons retirés et refroidis dans un dessiccateur avant la pesée.

5.2.1.5 Activité de l'eau (AE)

L'activité de l'eau (AE) des échantillons de fromage a été déterminée conformément à la norme ISO 18787 :2017, au moyen d'un instrument d'activité de l'eau (AquaLab 3TE ; Decagon Devices Inc., Pullman, WA, États-Unis). La coupelle d'échantillon a été remplie à la moitié de sa profondeur et placée dans la chambre d'échantillon à température contrôlée puis lecture de la valeur (AE) affichée (ISO, 2017).

5.2.1.6 Teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse a été déterminée à l'aide de la méthode de Gerber acido-butyrométrique selon la norme ISO 3433:2008 (ISO, 2008a). Les prises d'essai (3 g) ont été introduites dans le godet à fromage puis, de l'acide sulfurique concentré à 62% ($d=1,522$ g/ml, $v=10$ mL) a été ajouté. Par la suite, le godet a été introduit dans la panse du butyromètre. Après avoir bouché l'ouverture de la tige, le butyromètre a été placé dans un bain-marie à

Chapitre 2. Matériels et méthodes

65°C. Le butyromètre a été agité de temps en temps jusqu'à dissolution complète de la prise d'essai. 1 ml d'alcool isoamylique (entraîne la séparation de la matière grasse en couche claire et transparente) a été ajouté dans le butyromètre puis remettre ce dernier pendant 5 min dans un bain-marie et centrifuger avec une centrifugeuse à butyromètre pendant 10 minutes (FUNKEGERBER, Berlin, Allemagne). Après centrifugation, le butyromètre a été placé de nouveau dans le bain d'eau pendant 5 min. La teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur la graduation du butyromètre et est exprimée en grammes pour 100 g de fromage.

5.2.1.7 Teneur de l'azote total

La détermination de l'azote total a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl selon La norme ISO 8968-1:2014 (ISO, 2014). Une première étape de minéralisation a été réalisée sur l'échantillon (1g de fromage) à l'aide d'un minéraliseur K-438 couplé à un Scrubber B-414 pendant 270 mn. Cette étape consiste à transformer l'azote organique en azote minéral sous l'action oxydative de l'acide sulfurique concentré (15 à 17 ml à 96-98 %) et à chaud en présence de catalyseur ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{K}_2\text{SO}_4$). Le mélange a été porté au chauffage jusqu'à ce que la couleur devienne limpide (jaune), à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral. Ensuite, et après refroidissement, la matière minérale a été distillée à l'aide d'un appareil à distiller K-370 (Buchi, Rungis, France), avec un mélange de 50 ml d'eau distillée et 30 ml de la soude à 32%, en parallèle, une solution de 20 ml d'acide borique à 40 % et quelques gouttes de l'indicateur coloré Tashiro a été ajoutée.

Finalement, la titration de l'excès des anions de borate se fait avec l'acide chlorhydrique (0,1 N) en présence de l'indicateur coloré Tashiro jusqu'à virage de l'indicateur à sa teinte acide (couleur rose- violet). Il est nécessaire d'effectuer un essai à blanc pour chaque digestion. La teneur en azote exprimé en masse du produit (g / 100 g d'échantillon) est calculé selon la formule suivant :

$$\text{Azote total (AT)} = (\text{V1}-\text{V0}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100 / \text{m}$$

V0 : est le volume, en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc

V1 : est le volume, en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour la prise d'essai

N : est la normalité de la solution d'acide chlorhydrique utilisée lors du titrage = 0.1 N

m : est la masse en gramme, de la prise d'essai

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Le contenu en protéines totales exprimé en gramme par cent grammes de fromage brut est obtenu en multipliant la teneur en azote total par le facteur 6.38 selon la formule suivante :

$$\text{Protéine (P)} = \text{AT \%} \times 6.38$$

5.2.2 Analyses biochimiques du fromage

5.2.2.1 Analyse des acides gras par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse (CG-MS).

L'analyse de la composition et la teneur en acides gras du fromage frais au lait cru de vache par Chromatographie Phase Gazeuse couplée à une Spectroscopie de Masse a été effectuée selon la méthode standard (extraction, préparation des esters méthyliques et analyse par (CG-MS).

5.2.2.1.1 Extraction de la matière grasse

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour l'extraction de la matière grasse (AOAC, 2005b). Un poids de 5 g de fromage broyé et séché enveloppé dans du papier filtre a été placé dans une cartouche (une capsule de cellulose qui est perméable au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute) d'extraction Soxhlet. Ensuite, un ballon rempli d'un solvant (éther de pétrole) a été chauffé (à 65°C) afin que le solvant se déplace à travers l'échantillon et extrait graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. La procédure d'extraction doit être poursuivie pendant près de 4 à 5 h (4-6 siphonages au cours de l'extraction). Le contenu du ballon a été évaporé sous pression réduite dans un bain-marie réglé à 50°C jusqu'à ce que l'évaporation soit visuellement terminée. Le ballon contenant les lipides est placé à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min. On réalise une série de pesées jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

5.2.2.1.2 Préparation des esters méthyliques

Il est impératif de faire un prétraitement des échantillons par l'une des méthodes de méthylations. La méthode de la norme ISO 15884 a été utilisée pour convertir les AG en esters méthyliques d'acides gras (EMAG) (ISO, 2002). En bref, afin de dissoudre la graisse concentrée, 2,5 ml d'hexane ont été mélangés avec 50 mg de lipide extrait à l'intérieur d'une ampoule hermétique. Un volume de 100 µl de potasse méthanolique (2 mol/l) a ensuite été introduit, après agitation 10 seconde, porter ampoule au bain marie à 50 °C/ 20 secondes agiter

Chapitre 2. Matériels et méthodes

et laisser refroidir. Ensuite, 0,25 g d'hydrogénosulfate de sodium monohydraté ($\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été ajoutés et le mélange a été centrifugé pendant 3 mn. Enfin, un examen GC-MS des esters méthyliques produits a été effectué sur la couche supérieure qui les contient.

5.2.2.1.3 Analyse des esters méthyliques par GC-MS

Les profils des acides gras des fromages examinés ont été déterminés sous forme d'esters méthyliques d'acides gras (EMAG) par chromatographie en phase gazeuse (Hewlett Packard Agilent 6890, USA) couplée à la spectrométrie de masse (Hewlett Packard Agilent 5973, USA) selon la norme IDF 15885 (IDF, 2002).

Les conditions d'analyse GC-MS étaient les suivantes : une injection sans division (injection splitless) a été effectuée (1 μl) à 250 °C à l'aide d'une colonne capillaire en silice fondue HP-5MS d'un diamètre interne de 0,25 mm, d'une longueur de 30 m et épaisseur du film de 0,5 μm . La température du four a été réglée comme suit : maintenue au départ à 40 °C pendant 4 min, la colonne est portée à 140 °C (10 °C / min) et maintenue durant 1 min à cette température, puis elle subit une seconde phase de réchauffement jusqu'à 240 °C (2 °C / min) maintenue pendant 15 min. L'analyse a duré 80 minutes. À un débit de 1 ml/min, de l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur. Utilisation d'un détecteur de masse avec les caractéristiques suivantes : la température de la source a été maintenue à 250 °C, le mode d'ionisation était l'impact électronique à 70 eV, le mode d'analyse était le balayage TIC (30-500 m/z) et le type d'analyseur de masse était quadripolaire.

L'identification des acides gras a été réalisée en comparant leurs données de spectres de masse à celles acquises à l'aide du NIST 02.L [US National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, USA] (Baracé et al., 2018).

5.2.2.2 Les indices de qualité lipidique

Les indices de qualité lipidique des fromages ont été évalués en utilisant différentes combinaisons et ratios entre les acides gras tels que la somme des acides gras saturés (Σ AGS), la somme des acides gras monoinsaturés (Σ AGMI), la somme des acides gras polyinsaturés (Σ AGPI), les AGPI / AGS et ω -6/ rapports ω -3 pour calculer l'indice d'athérogénicité (IA), l'indice de thrombogénicité (IT), le rapport des acides gras hypocholestérolémiants et hypercholestérolémiants (h/H) De plus, les acides gras souhaitables (AGh) et l'indice des acides gras hypercholestérolémiants (AGH).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

5.2.2.2.1 Indice d'Athérogénicité (IA)

L'indice d'athérogénicité (IA) indique la relation entre la somme des principaux acides gras saturés et celle des principales classes d'acides gras insaturés. L'activité de coagulation des plaquettes et leur agrégation à un thrombus est étroitement liée à l'apport d'acides gras saturés à chaîne longue (AGSCL). Les AGPI n-6 sont antiathérogéniques (réduction des lipides sériques), tandis que les AGPI n-3 sont antithrombogènes (inhibent l'agrégation des plaquettes, diminuent les niveaux de cholestérol et de phospholipides, prévenant ainsi l'apparition de maladies coronariennes) (**Équation (1)**) (Omri et al., 2019; Ulbricht et Southgate, 1991).

$$IA = [C12 :0 + (4 \times C14 :0) + C16 :0] / (\sum AGMI + \sum (n-6) + \sum (n-3)) \quad (1)$$

5.2.2.2.2 Indice de thrombogénicité (IT)

L'indice de thrombogénicité (IT) indique qu'il existe une tendance à la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins. Ceci est défini comme la relation entre les acides gras pro-thrombogènes (saturés) et antithrombogènes (AGMI, AGPI n-6 et AGPI n-3). L'indice de thrombogénicité (IT) indique qu'il existe une tendance à la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins. Ceci est défini comme la relation entre les acides gras pro-thrombogènes (saturés) et antithrombogènes (AGMI, AGPI n-6 et AGPI n-3) (**Équation (2)**) (Simopoulos, 2006; Willett et al., 1993).

$$IT = (C14 :0 + C16 :0 + C18 :0) / [(0.5 \times \sum AGMI) + (0.5 \times \sum (n-6)) + (3 \times \sum (n-3)) + (\sum (n-3) / \sum (n-6))] \quad (2)$$

5.2.2.2.3 Acides gras désirables ou hypocholestérolémiants (AGh)

Cet indice de lipides a été déterminé en utilisant les acides gras, en estimant les acides gras insaturés (AGMI), en additionnant les polyinsaturés (AGPI) et les monoinsaturés (AGMI), et en utilisant les acides gras saturés souhaitables (C18:0) (**Équation (3)**) (Osmari et al., 2011).

$$AGh = AGMI + AGPI + C18 :0 \quad (3)$$

5.2.2.2.4 Acides gras hypercholestérolémiants (AGH)

Ceci est défini comme la somme des acides gras saturés (**Équation (4)**) (Barac et al., 2018).

$$AGH = C12:0 + C14:0 + C16:0 \quad (4)$$

Chapitre 2. Matériels et méthodes

5.2.2.2.5 Rapport hypocholestérolémique et hypercholestérolémique (H/h)

Le rapport H/h est lié à l'activité fonctionnelle des acides gras dans le métabolisme des lipoprotéines concernant le transport plasmatique du cholestérol et le risque de maladies cardiovasculaires. Le rapport des AG hypocholestérolémiques et hypercholestérolémiques (H/h) a été calculé selon l'équation (5) (Ivanova et Hadzhinikolova, 2015).

$$H/h = [(C18 :1n-9 + C18 :2n-6 + C18 :3n-3)] / [(C12 :0 + C14 :0 + C16 :0)] \quad (5)$$

5.2.2.3 Détermination de la teneur en minéraux

5.2.2.3.1 Dosage du K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu et Mn par spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

Les éléments minéraux sont dosés par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA), son principe consiste à vaporiser l'échantillon liquide et à le chauffer à l'aide d'une flamme. La flamme est dirigée vers une lumière émise par une lampe appropriée émettant les longueurs d'onde caractéristiques de l'élément recherché.

La teneur des macroéléments (K, Ca, Na et Mg) et microéléments (Zn, Fe, Cu et Mn) du fromage était dosé sur les cendres obtenues à 550 °C pendant 6h selon la norme IDF119 :2007/ISO. Les cendres obtenues ont été dissoutes avec 5 ml d'acide nitrique (1 N HNO₃) sur une plaque chauffante et ont été filtrées en utilisant du papier filtre (Whatman n° : 41), et transférées quantitativement dans un récipient de graduation de 50 ml et complétés jusqu'au trait avec de l'eau ultra-pure. Après dilution appropriée, les solutions d'essais ont été vaporisées dans la flamme aéroacétylénique d'un spectromètre à absorption atomique (Varian, AA240FS) (IDF, 2007). Les valeurs d'absorbance des solutions des cendres ont été mesurées à des longueurs d'onde différentes selon l'élément à doser ($\lambda_K = 766,5 \text{ nm}$; $\lambda_{Na} = 589,6 \text{ nm}$; $\lambda_{Ca} = 422,7 \text{ nm}$; $\lambda_{Mg} = 285,2 \text{ nm}$; $\lambda_{Cu} = 324,7 \text{ nm}$; $\lambda_{Zn} = 213,9 \text{ nm}$; $\lambda_{Fe} = 248,3 \text{ nm}$; $\lambda_{Mn} = 279,5 \text{ nm}$).

5.2.2.3.2 Dosage du phosphore par colorimétrie

Le dosage du phosphore a été déterminé par spectrométrie UV-visible à partir de la même solution de cendres décrite précédemment. Ce dosage est basé sur la méthode colorimétrique au nitrovanado-molybdate où deux millilitres de ce réactif (nitrovanado-molybdite) ont été mélangés avec 2 mL de la solution de cendres. Après 30 min dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 436 nm à l'aide d'une spectrométrie UV-visible (Anthelie Advanced (Secoman, Alès, France)) comme décrit par Bord et al. (2016).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

5.2.2.4 L'électrophorèse sur gel urée-polyacrylamide (Urée-PAGE)

L'électrophorèse sur gel urée-polyacrylamide (urée-PAGE) sépare les protéines et les polypeptides selon leur rapport taille/charge et caractérise principalement la protéolyse primaire du fromage (Li et al., 2020; Mane et al., 2019).

5.2.2.4.1 Préparation de l'échantillon

Pour la caractérisation de la protéolyse primaire, nous avons utilisé le protocole décrit par (Fallico et al., 2004), il s'agit tout d'abord, d'extraire la fraction protéique insoluble à pH= 4,6 : Une masse de 25 g de fromage est homogénéisée avec 50 ml d'eau distillée pendant 10 min. Après homogénéisation, le pH est ajusté par addition de l'HCl (1N) jusqu'à stabilisation à 4,6. Les échantillons sont en suite, chauffés au bain-marie pendant 1h à 40°C. Une centrifugation à 11000 g pendant 30 min à 4°C est nécessaire pour retirer la couche de graisse (couche supérieure) et la séparation des protéines insolubles. Une séparation des protéines du culot de la centrifugation par Urée-PAGE est faite pour l'évaluation qualitative de la protéolyse en utilisant le protocole décrit par Andrews (1983).

L'échantillon destinés à l'analyse par électrophorèse (10 mg) est mélangé avec 1mL de tampon de charge (7,5g/l Tris, 490g/l urée, 7ml/l de 2-mercaptoéthanol), le mélange est homogénéisé au vortex jusqu'à solubilisation complète de la fraction insoluble avec ajout de 10 µl de bleu de bromophénol. Ensuite 15 µl de chaque échantillon sont déposés dans les puits du gel de concentration.

5.2.2.4.2 Préparation des gels

La séparation électrophorétique des constituants de la fraction insoluble à pH 4,6 a été réalisée sur le gel de polyacrylamide en présence d'urée (Urée-PAGE) avec un gel de concentration de 4% (p/v) et un gel de séparation de 12 % (p/v) de polyacrylamide. Les solutions de gel ont été préparées juste avant de couler le gel.

1. Gel concentration : 5 ml de solution d'acrylamide (40 %), 45 ml de tampon de gel concentration, 0,1 g de bis-acrylamide de méthylène. Les éléments ci-dessus sont mélangés ensemble et filtrés à travers du papier filtre Whatman® n° 113. Par la suite, 25 µl de TEMED et 300 µL de persulfate d'ammonium sont ajoutés au filtrat.

2. Gel de séparation : 22,5 ml de solution d'acrylamide (12 %), 52,5 ml de tampon gel séparateur. • 0,375 g de bis-acrylamide de méthylène. Les éléments ci-dessus sont mélangés

Chapitre 2. Matériels et méthodes

ensemble et filtrés à travers du papier filtre Whatman® n° 113. Par la suite, 37,5 µl de TEMED et 282 µL persulfate d'ammonium sont ajoutés au filtrat.

Sachant que, les tampons de gels et de migration sont préparés de la manière suivante :

1. Tampon de gel concentration : 4,15 g Tris, 150 g d'urée et 2,2 ml de HCl concentré sont mélangés ensemble et complétés à 500 ml avec de l'eau déminéralisée, en ajustant le pH à 7,6 avec HCl (2N).
2. Tampon de gel de séparation : Tris 32,15 g, 192,85 g d'urée et 2,86 ml de HCl concentré sont mélangés ensemble et complétés à 500 ml avec de l'eau déminéralisée, en ajustant le pH à 8,9 avec HCl (2N).
3. Tampon de migration : 15 g Tris, 73 g de glycine et complétés à 5 litres avec de l'eau déminéralisée, en ajustant le pH à 8,4 avec HCl (2N).

5.2.2.4.3 Électrophorèse

L'unité d'électrophorèse (BioRad Laboratories Ltd., Watford and Herts, Royaume-Uni) a été assemblée selon les instructions du fabricant. Par la suite les gels ont été placés dans l'unité, qui a été remplie au niveau correct avec un tampon d'électrode et les échantillons (15 µl) ont été appliqués, L'unité est alors mise sous tension appropriée ; Les échantillons ont été passés à 280 V à travers le gel d'empilement et à 300 V à travers le gel de séparation jusqu'à ce que le front de colorant de suivi soit proche du fond de la plaque de gel (4 à 5 heures).

Après fin de migration, les protéines ont été détectées par coloration du gel pendant au moins 30 minutes avec un mélange (5 :1 :4, v\v\v) de bleu de Coomassie (R-250, 0.1%, v\v), de l'eau ultra-pure, d'acide acétique (80%) et d'éthanol 96%. Enfin, le gel a été placé dans deux bains de décoloration successifs composés d'acide acétique (80%, 14 ml), d'éthanol (96%, 10 ml) et d'eau ultra-pure (76 ml) (v\v\v) (Andrews, 1983).

L'identification des bandes des caséines et des peptides a été déterminée par observation de l'intensité des bandes en comparant à un témoin qui présente la position des fractions des caséines natives du lait (caséines de références) et à l'aide de la bibliographie.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

5.2.3 Analyses microbiologiques du fromage

5.2.3.1 Dénombrement des principaux groupes microbiens

5.2.3.1.1 Flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la flore total est réalisé sur la gélose PCA (plate Count Agar) selon la norme ISO 4833-1:10-2013, en mettant 1 ml de chacune des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} dans la boîte de Pétri, puis la gélose PCA est fondue et mélangée soigneusement. Le comptage total a été effectué sur Plate Count Agar (30°C, 48 à 72 h, conditions aérobies, Biokar) (ISO, 2013).

Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet d'en suivre l'évolution. Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit (Guiraud et Rosec, 2004). Les résultats sont exprimés selon la relation : $N = \Sigma C / [(n1 + 0.1 n2)] d$. Où ΣC est la Somme des colonies comptées sur les boîtes retenues de deux dilutions successives et contenant entre 30 et 300 colonies; n1 est le nombre de plaques pour le premier rapport de dilution ; n2 est le nombre de plaques pour le deuxième taux de dilution ; d est le premier taux de dilution et N exprimé en unité formant colonie par gramme d'échantillon (ufc.g⁻¹) (Abraha et al., 2017).

5.2.3.1.2 Coliformes totaux et fécaux (CT, CF)

Les coliformes sont un groupe de micro-organismes utilisés comme indicateurs, dans le but de vérifier l'état microbiologique général d'un échantillon. Le dénombrement des coliformes totaux est effectué sur le milieu VRBL (La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre), il a été réalisé par défaut afin de confirmer le résultat des coliformes fécaux. Chaque dilution (stomachées pendant 2 min) a étéensemencée en masse. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 h (Guiraud, 2003). Les boîtes prises en considération pour le dénombrement contenaient entre 30 et 300 colonies. Ces colonies qui sont généralement rouge-violettes de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm sont considérées comme caractéristiques. Alors que, la numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBL après 48 heures d'incubation à 44°C (Guiraud, 2003).

5.2.3.1.3 Les staphylocoques à coagulase positive (SCP)

Afin d'isoler et de dénombrer les staphylocoques à coagulase positive, la méthode standard ISO 6888-2:2021 avec le milieu de Baird Parker a été utilisée. Les plaques de gélose inoculées ont été placées dans une pièce à 37 °C pendant 48 h. La limite de détection était de

Chapitre 2. Matériels et méthodes

100 ufc g⁻¹. Les cinq colonies typiques (circulaires, gris foncé à noires, lisses, convexes, aux bords parfaits, entourées d'une zone opaque et/ou d'un halo transparent) par échantillon ont été soumises à une coloration de Gram, test à la catalase et test de coagulase. Les plaques avec des colonies entre 20 ~ 200 ont été sélectionnées pour le comptage (ISO, 2021).

5.2.3.1.4 *Salmonella spp*

La détection de *Salmonella spp* a été effectuée selon (Andrews et al., 2018) avec des modifications, la préparation de l'échantillon et la dilution ont suivi les mêmes qu'auparavant, après que 1 ml des échantillons dilués ont été ajoutés à la cystine de sélénite et au Rappaport Vassiliadis pour une étape sélective d'enrichissement. Après une période d'incubation de 24 heures à 37 ° C, les échantillons ont été striés dans du milieu sélectif XLD (la gélose xylose lysine désoxycholate) et incubées à 37 ° C pendant 24 h. Les échantillons avec des colonies noir (centré, arrondi), de petites tailles (2 à 4 mm de diamètre) caractéristiques ont été considérés comme positifs.

5.2.3.1.5 Levures et moisissures (LM)

Le dénombrement des levures et des moisissures a été effectué conformément à la certification ISO 21527-1: 2008 sur la gélose Sabouraud au chloramphénicol (SCA) après ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution. La lecture est effectuée après 3 à 5 jours d'incubation à 25°C en aérobiose. Toutes les colonies d'aspect lisse ou filamenteux sont comptées (ISO, 2008b).

5.2.3.1.6 Bactéries lactiques (BL)

Détermination des bactéries lactiques (BL) Tout d'abord, 1 ml des échantillons dilués a été distribué uniformément dans une boîte de Pétri stérile ; puis, Man Rogosa et Sharp (MRS) Agar (Himedia, Mumbai, Inde) a été versé et mélangé. Les boîtes inoculées ont été renversées et incubées à 37°C pendant 48h en condition anaérobie à l'aide du système Gas-Pak (Gas Pak 100 Anaerobic System, BD Bioscience, USA) (Rotar et al., 2015).

5.2.4 Analyses statistiques

À partir des données échantillonnées, la variation de chaque paramètre physico-chimique (pH, acidité titrable, matière sèche, matières grasses, teneur en protéines, cendres et l'activité de l'eau) et chaque groupe microbien (FTAM, BL, CT, CF, SCP et ML) entre FPA et FPV a été testée à l'aide de l'analyse de variance unidirectionnelle non paramétrique de Kruskal-Wallis (ANOVA). Avant les tests ANOVA, la normalité a été vérifiée à l'aide du test

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Shapiro-Wilk. Les données microbiologiques ont été transformées en logarithmes avant analyse statistique. D'autre part, la variation de chaque macrominéral (calcium, phosphore, sodium, potassium, magnésium) et Oligo-éléments (zinc, cuivre, manganèse et le fer) a été testée également à l'aide de l'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) sous le logiciel R version 4.2.1 (R Core Team, 2022).

Les corrélations de Pearson ont été appliquées pour tester les relations entre les paramètres physico-chimiques et entre les principaux groupes microbiens analysés dans le fromage *Jben* fabriqué à partir de chacun des deux agents de coagulation du lait (présure d'agneau et fleurs de chardon (*Cynara cardunculus*)). Les matrices de corrélation ont été visualisées dans des tracés interactifs à l'aide du package (Wei et al., 2021) sous le logiciel R version 4.2.1 (R Core Team, 2022). Les tests du chi carré de Pearson ont été utilisés pour tester la variation des abondances d'acides gras entre le FPA et le FPV. La signification statistique a été fixée à $\alpha = 0,05$.

Finalement, pour comprendre et évaluer les interactions entre les paramètres physico-chimiques (pH, AC, MS, MG, PR, CE et AE) et microbiologiques (FTAM, BL, SCP, CT, CF et LM), la recherche de ces interactions est étudiée grâce à l'analyse en composantes principales (ACP), séparément chez les deux types de fromage (FPA et FPV) sous le logiciel Statistica version 8.0 (Statsoft, Tulsa, Oklahoma, États-Unis).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Chapitre 3. Résultats et discussion

1 Caractéristiques physico-chimiques du fromage frais (*Jben*)

L'ensemble des résultats des paramètres physico-chimiques (pH, acidité titrable, matière sèche, matières grasses, protéines, cendres et l'activité de l'eau) déterminés sont présentés dans la figure 5 qui illustre l'effet du type de coagulant du lait (c'est-à-dire la présure d'agneau et les fleurs de chardon) sur la composition physico-chimique du fromage frais traditionnel « *Jben* » fabriqué à partir de lait cru de vache.

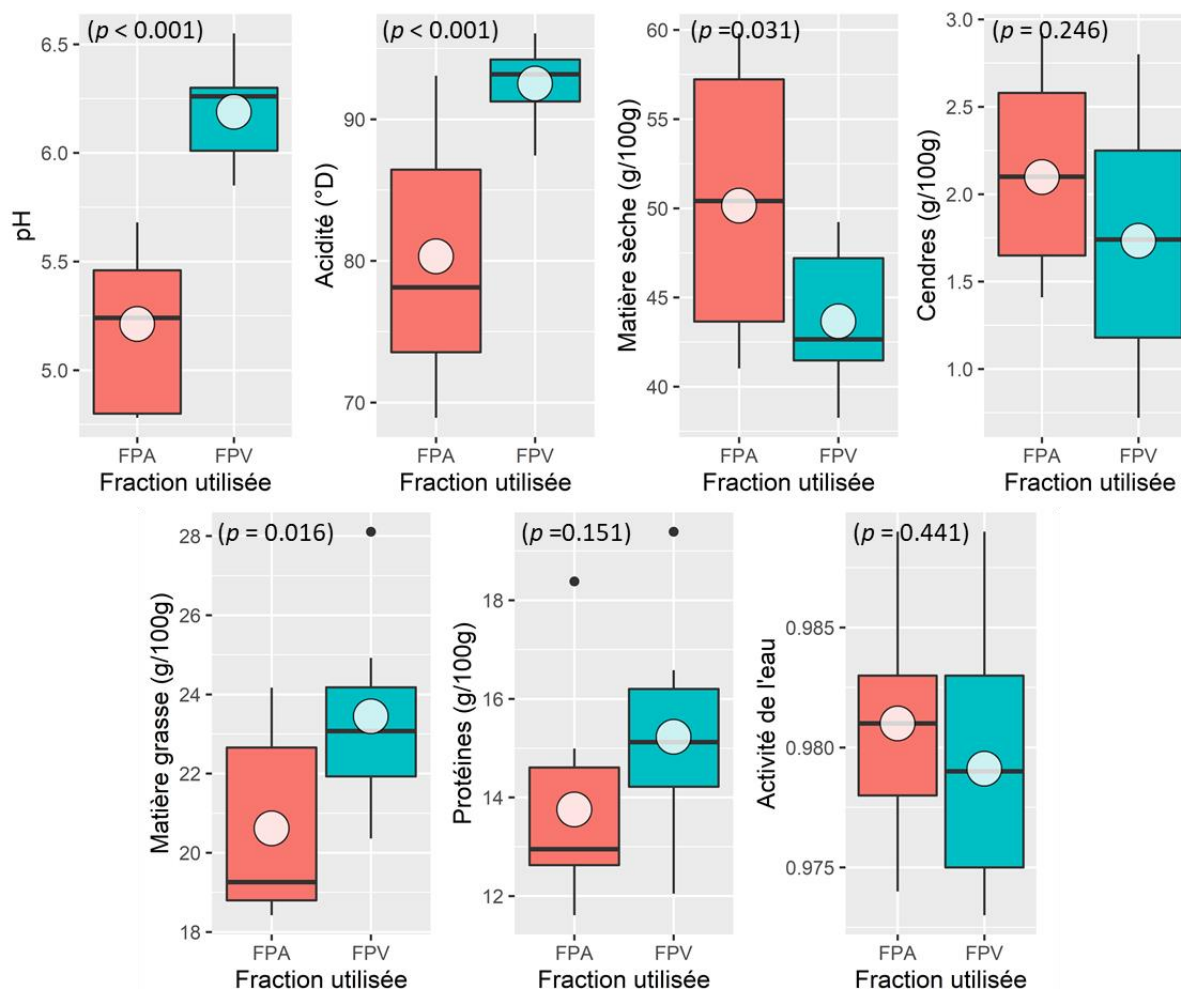


Figure 5. Variation des principaux paramètres physico-chimiques du fromage *Jben* fabriqué à l'aide de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal). Les chiffres affichés à l'intérieur des cercles blancs pleins sont des moyennes. Les valeurs P présentées entre parenthèses dans les graphiques sont les résultats de l'analyse de variance unidirectionnelle de Kruskal-Wallis.

1.1 pH

Concernant le pH, Les échantillons du fromage (*Jben*) fabriqués à l'aide de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal) se caractérisent par un pH légèrement acide. Les résultats ont indiqué que les échantillons avaient un pH de $5,21 \pm 0,35$ (moyenne \pm écart

Chapitre 3. Résultats et discussion

type) pour le fromage à base de présure d'agneau (FPA) et $6,19 \pm 0,23$ pour le fromage à base de présure végétale (FPV) (**Fig.5**). Statistiquement, L'ANOVA testant la variation des valeurs de pH, a montré que ces valeurs différaient significativement ($p < 0,05$) entre FPA et FPV. En comparaison avec d'autres études sur le même type de fromage, nos résultats sont globalement similaires à ceux rapportés par Yasar et Guzeler (2011) ($5,21 \pm 0,03$) et par Elkholy (2015) ($5,31$) pour un fromage fabriqué à base de présure animal et se rapprochent aux résultats obtenus par Amimour (2019) ($5,40 \pm 0,005$) et par Benyagoub et al. (2016) ($5,51 \pm 0,21$) sur le fromage du *Jben*. Alors que pour le FPV, nos valeurs moyennes se coïncident avec de nombreux travaux notamment révélés par Abdeen et al. (2021) ($6,06$), par Benyahia-Krid et al. (2016) ($6,28 \pm 0,02$), par Abd El-Salam et al. (2017) ($6,36$) et par Benyahia et al. (2021) ($6,38 \pm 0,015$). Cependant, nos résultats sont légèrement différents par rapport à ceux rapportés par Tadjine et al. (2020) ($4,69 \pm 0,12$) pour le FPA, par Kholif et Hamed (2022) ($6,88 \pm 0,07$) et par Islam et al. (2021) ($5,90 \pm 0,06$) pour le FPV.

Ces variations de pH peuvent s'expliquer par des différences dans le procédé de fabrication comme les quantités de présure utilisées pour la coagulation, qui entraînent des temps de coagulation très variables. Elle peut également être attribuée à l'augmentation de l'activité protéolytique de la présure qui est accentuée par la présence de la flore croissante du lait (Cantor et al., 2004), ou des variations saisonnières (Sánchez-Gamboa et al., 2018), des comptages microbiens et diversité (Vladimír et al., 2020) . De plus, l'emprésurage avec la présure d'agneau a diminué le pH par rapport à la présure végétale, ce qui pourrait être lié à une plus grande activité des bactéries lactiques (processus d'acidification) (Kajak-Siemaszko et al., 2022) .

1.2 L'acidité

L'analyse de variance, dont les résultats sont présentés dans la figure 5, a identifié l'effet très significatif ($p < 0,05$) de types du coagulant (agneau et végétal) sur les valeurs de l'acidité dans le fromage traditionnel. Les résultats de l'étude montrent une acidité titrable de $92,52 \pm 2,61$ °D pour FPV et $80,31 \pm 8,13$ °D pour FPA. En plus, comme le montre la figure 5, on a pu remarquer que tous les fromages présentaient une acidité titrable significativement élevée. Ceci peut être dû à la teneur élevée de l'acide lactique dans les échantillons de fromage. D'autre côté, la différence enregistrée dans les valeurs moyennes de l'acidité des échantillons étudiés peut être liée à l'activité plus élevée des bactéries lactiques lors de la fabrication du fromage dans le fromage à base de coagulant végétal (Czyżak-Runowska et al., 2020).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Pour le fromage à base de présure d'agneau, nos résultats obtenus se rapprochent avec ceux rapportés par El-Galeel et al. (2017) (85°D), par Bendimerad (2013) (88,50°D), par Rhiat et al. (2011) (87,4°D), alors que pour le fromage à base de présure végétale, nos valeurs moyennes étaient similaires à ceux trouvés par (Rhiat et al., 2011), par Elkholy (2015) (91°D) et par El-Galeel et al. (2017) (93°D). Cependant, Les teneurs de l'acidité titrable de nos fromages fabriqués en utilisant différents coagulants sont légèrement élevées à ceux obtenues par Islam et al. (2021) ($72 \pm 0,02$) pour le FPA, par (Benyahia et al., 2021) ($80 \pm 0,005$) pour le FPV.

Plusieurs auteurs ont rapporté dans leurs travaux que la variation de l'acidité dépend de la nature et de la composition initiale du lait utilisé pour la fabrication, de la flore microbienne et son activité métabolique (Aquilanti et al., 2011 ; Roseiro et al., 2003 ; Sousa et Malcata, 2002). D'autre part, les pâtes de la présure animales artisanales ont démontré une importante diversité microbienne, ce qui prouve que les pâtes de présure animale sont des sources de souches bactériennes lactiques dotées de caractéristiques technologiquement avantageuses pour la production de fromage (Cruciata et al., 2014 ; Kajak-Siemaszko et al., 2022).

1.3 La matière sèche

L'évaluation de la matière sèche des différents échantillons du fromage, montre qu'elle est supérieure dans le FPV par rapport au FPA $43,66 \pm 3,94\text{g}/100\text{g}$ de fromage contre $50,14 \pm 7,25 \text{ g}/100\text{g}$ de fromage respectivement (**Fig.5**). Le fromage à base de la présure d'agneau et le fromage fabriqué à base du coagulant végétal diffèrent significativement entre eux ($p < 0,05$). Les différences observées dans la teneur en matière sèche entre les coagulants animaux et végétaux peuvent s'expliquer par la structure tridimensionnelle du caillé, qui entraînerait des variations de rétention d'eau, comme mentionné par Sanjuán et al. (2002) . D'autre part, cette différence peut être due à la perte de protéines en raison d'activités protéolytiques excessives des fromage à base du coagulant végétal et par conséquent, la réduction de la matière sèche, ce qui est cohérent à nos résultats (Khan et Masud, 2013). Egalement, Les variations de teneur en extrait sec dans les échantillons peuvent être liées aux différents modes de fabrication du fromage (de Medeiros Carvalho et al., 2019).

Par rapport aux données de la littérature, nos valeurs moyennes étaient identiques à celles obtenues par García et al. (2012) (43,27%) pour le fromage obtenu par les fleurs de chardon (*Cynara cardunculus*) et par El-Galeel et al. (2017) (50,08%) pour le fromage obtenu

Chapitre 3. Résultats et discussion

par la présure animale. Cependant, nos résultats sont supérieurs aux valeurs obtenues par Bakr et al. (2021) (40,34%) pour le FPV et inférieurs aux résultats révélés par Benyagoub et al. (2016) ($56,12 \pm 0,21$) pour le *Jben*. La variation possible de l'extrait sec peut être due aux types de caillé obtenus, qui dépendent de la composition initiale du lait, de l'effet des coagulants ainsi que du type de drainage (Benyahia et al., 2021).

1.4 La matière grasse

Selon les résultats de l'analyse physico-chimique des fromages (**Fig.5**), la teneur de la matière grasse varie de $20,6 \pm 2,24$ g/100 g à $23,44 \pm 2,23$ g/100 g pour FPA et FPV, respectivement. Une différence significative ($p < 0,05$) a été observée entre les deux types de fromages, mais les deux avaient une teneur élevée en matières grasses. Tofalo et al. (2015) ont montré que le type du coagulant utilisé affecte significativement la matière grasse. Des valeurs similaires ont été révélées par Karki (2023) ($23,33 \pm 0,9$ g/100g), par Islam (2006) ($23,5 \pm 0,005$ g/100g), par Hashim et al. (2011) ($23,05 \pm 1,29$ g/100g) et par Benyahia et al. (2021) ($23,2 \pm 0,02$ g/100g) pour un fromage à base de coagulant végétal alors que, pour le fromage à base de coagulant animal nos résultats sont globalement proche de ceux dévoilés par Papetti et Carelli (2013) (21,092 g/100g), par García et al. (2012) ($21,95 \pm 0,244$ g/100g) et par Islam et al. (2021) ($22,02 \pm 0,05$ g/100g).

Cependant, nos valeurs moyennes sont différentes à celles d'autres travaux sur le même type de fromage frais ; Elkholy (2015) (17,10 g/100g), Amimour (2019) ($26,91 \pm 0,38$ g/100g) et de la Haba Ruiz (2017) ($32,7 \pm 5,0$ g/100g). Plusieurs variables, notamment les caractéristiques chimiques et microbiologiques du lait, les systèmes d'alimentation des animaux, l'origine des agents de coagulation du lait ont un fort impact sur la matière grasse du fromage (De Marchi et al., 2008; Formaggioni et al., 2015).

1.5 Les protéines

Les teneurs moyennes en protéines étaient de $13,76 \pm 2,03$ g/100 g de fromage pour le FPA, alors que les échantillons de FPV enregistraient $15,23 \pm 2,12$ g/100g. Aucune différence statistiquement significative ($P > 0,05$) n'a été déterminée pour la teneur en protéines entre les fromages fabriqués avec différents types de coagulant (**Fig.5**). Plusieurs auteurs n'ont trouvé aucune différence significative ($P > 0,05$) entre les fromages à base de la présure animale et du coagulant végétal concernant les valeurs en protéines (García et al., 2012; Pino et al., 2009). Selon les résultats obtenus, nos teneurs en protéines se concordent avec celles rapportées par Pino et al. (2009).

Chapitre 3. Résultats et discussion

La faible teneur en protéines dans le fromage à base de la présure animale par rapport au fromage à base du coagulant végétal peut être due au pH et à la température optimum de la présure qui varient selon l'espèce, le substrat et la méthode de production (Kumar et al., 2010). Comme le montre la figure 5, La teneur de la protéine dans le fromage à base de la présure animale est inférieure à la protéine dans le fromage avec le coagulant végétal, mêmes résultats sont produits dans l'étude de Sitepu (2020), Amimour (2019) pour le *Jben*, García et al. (2012) et Hashim et al. (2011). Cependant, nos résultats sont différents à ceux rapportés par Abdeen et al. (2021) et par Islam et al. (2021). Ces différences dans la teneur en protéines entre les fromages pourraient être liées au type de lait, origine des agents de coagulation du lait et aux méthodes de production (Kose et al., 2021; Uzun et al., 2020).

1.6 Les cendre

Selon les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques des fromages (**Fig.5**), La teneur en cendre est variable entre les deux types de fromages ($1,73 \pm 0,70\%$ pour FPA et $2,10 \pm 0,57\%$ pour FPV). Le type d'agent coagulant et les différentes techniques de production pourraient avoir causé de telles différences dans les résultats. Statistiquement, Le fromage à base de la présure et le fromage fabriqué au *Cynara cardunculus* diffèrent de manière non significative entre eux ($p > 0,05$), ce qui est cohérent aux résultats trouvés par Islam et al. (2021) pour des fromages fabriqués à base de coagulants d'origine végétale et animale. Dans cette recherche, le sel n'a pas été ajouté pendant la fabrication du fromage, il faut donc s'attendre à une teneur en cendres inférieure, bien que Khan et Masud (2013), Koirala (2021) et Islam et al. (2021) aient montré qu'une teneur en cendres plus élevée dans le fromage était enregistrée avec l'enzyme végétale par rapport à la présure animale, ce qui est probablement dû aux restes de la matière végétale dans ce type de coagulant sous sa forme brute (Maskey et Shrestha, 2020).

Nos résultats pour les cendres se coïncident avec ceux révélés par Gutiérrez-Peña et al. (2021) (1,76%), par Muneeb et al. (2020) (1,736%) et par Messias et al. (2021) (1,78%) pour le fromage à base de présure animale alors que pour le fromage à base du coagulant végétal, nos teneurs en cendres se rapprochent à celles rapportées par Ayeni et al. (2014) (2.03%), pour le fromage traditionnel à base du coagulant végétal (*Calotropis procera*) et par Komansilan et al. (2020) (0,59-2,06%). %) pour le fromage à base du coagulant végétal (*Ananas comosus*). Cependant, nos valeurs sont différentes à celles dévoilées par Abd El-Salam et al. (2017) (3,44%) pour le fromage à base des fleurs de chardon (*Cynara cardunculus*), par Tadjine et al. (2019) (1,21%) pour le *Jben* à base de présure animale,

Chapitre 3. Résultats et discussion

Massouras et al. (2023) (1,46%) et par Islam et al. (2021) (2,37%) pour le fromage à base du coagulant végétal (*Papaya latex*).

De nombreux facteurs peuvent être responsables de ces variations en cendres dans les fromages, dont ceux liés au lait (type de lait, race animale et période de lactation, alimentation, durée de stockage), la nature des ingrédients utilisés dans le processus de fabrication du fromage et l'ajout de sel lors de la fabrication du fromage. D'autre part, ces résultats pourraient être la conséquence de différentes techniques de fabrication (Hailu et al., 2014; Hrković-Porobija et al., 2021; Rana et al., 2017).

1.7 L'activité de l'eau

L'activité de l'eau (AE) est un paramètre important pour le développement microbien. Les fromages à activité de l'eau plus élevée présentent une plus grande tendance à se détériorer ou à favoriser la multiplication de microorganismes pathogènes et d'altération (Saraiva et al., 2021). D'après l'analyse de variance des résultats obtenus pour l'activité de l'eau (**Fig.5**), il n'y a pas de différence statistique significative entre les échantillons des fromages analysés ($p > 0,05$).

Les teneurs moyennes de l'activité de l'eau des différents échantillons de fromages frais analysés sont enregistrées sur la figure 5, pour le FPA, sa valeur moyenne est $0,981 \pm 0,00\%$ contre $0,979 \pm 0,001\%$ pour le FPV. Dans l'ensemble, nos résultats se rapprochent des teneurs trouvées par Galán et al. (2008) (0,982%) pour le fromage à base de présure animale et (0,978%) pour le fromage à base de coagulant végétal, par Morales et al. (2006) (0,983%) et dans la fourchette des résultats révélés par Gonçalves et al. (2018) (0,96-0,8 %) et par Aguiar et al. (2017) (0,97-0,98 %).

D'autre part, nos teneurs en activité de l'eau sont différentes par rapport aux autres études cette variabilité peut être due, par exemple, à la teneur en sel, à la liaison de l'eau par les composants alimentaires, ainsi que à l'acidité puisque l'activité de l'eau exprime le degré de disponibilité de l'eau pour les micro-organismes (Aljewicz et al., 2011; Bonczar et al., 2011), sans oublier, que le sel n'a pas été ajouté pendant la fabrication de notre fromage, il faut donc s'attendre des teneurs en activité de l'eau supérieures aux fromages salés puisque la réduction du taux de sel dans les fromages peut affecter leur stabilité microbiologique, en induisant une augmentation de l'activité de l'eau. Ceci peut se traduire par une baisse de la qualité sanitaire et une réduction de la durée de vie microbiologique des fromages car elles

Chapitre 3. Résultats et discussion

créent des conditions favorables qui favorisent la croissance des micro-organismes (Saraiva et al., 2021).

2 Interrelations entre les paramètres physico-chimiques du fromage

Pour évaluer s'il existe une corrélation entre les caractéristiques physicochimiques, un test de corrélation linéaire a été effectué avec les FPA et FPV (Fig.6, Tab.1 et Fig.7, Tab.2, respectivement).

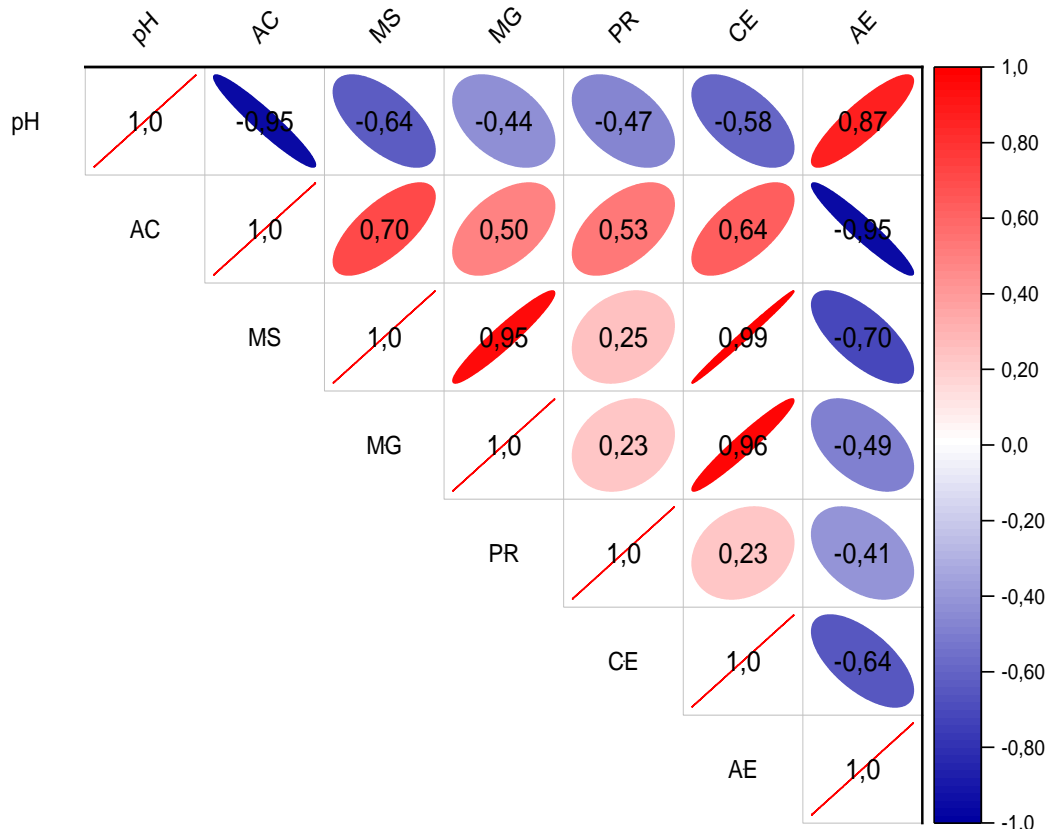


Figure 6. Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques analysés dans le fromage *Jben* fabriqué à partir de la présure animale. Les coefficients de Pearson sont mappés proportionnellement aux valeurs du diagramme circulaire et à l'intensité des couleurs. AC (Acidité), MS (Matière sèche), MG (Matière grasse), PR (Protéine), CE (Cendre) et AE (Activité de l'eau).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Tableau 1: Valeurs-p entre les paramètres physico-chimiques du fromage fabriqué à base de la présure animale (FPA).

Valeurs-p (FPA)	pH	AC	MS	MG	PR	CE	AE
Ph							
AC	<0.001						
MS	0.066	0.035					
MG	0.241	0.175	<0.001				
PR	0.199	0.139	0.513	0.547			
CE	0.101	0.064	<0.001	<0.001	0.559		
AE	0.002	<0.001	0.035	0.184	0.270	0.063	

AC (Acidité), MS (Matière sèche), MG (Matière grasse), PR (Protéine), CE (Cendre) et AE (Activité de l'eau).

Selon les résultats obtenus dans les deux types de fromage, une corrélation positive entre les valeurs de matière grasse et la matière sèche a été observée (**Fig.6, Fig.7**). La corrélation positive entre la matière sèche et la graisse semble logique dans la mesure où la déshydratation du fromage affecte la teneur en graisse pendant le processus de fabrication, car à mesure que la matière sèche augmente, la graisse augmente (Bertolino et al., 2011; Ioannidou et al., 2022). À l'inverse, il existe une très forte relation entre le pH et l'acidité dans les différents échantillons de fromage (FPA et FPV) ($r=-0,95$, $<0,001$). Car la diminution du pH est liée à l'action des bactéries lactiques et par conséquent à la production d'acide lactique. Ces résultats concordent avec les résultats trouvés par Ioannidou et al. (2022).

Chapitre 3. Résultats et discussion

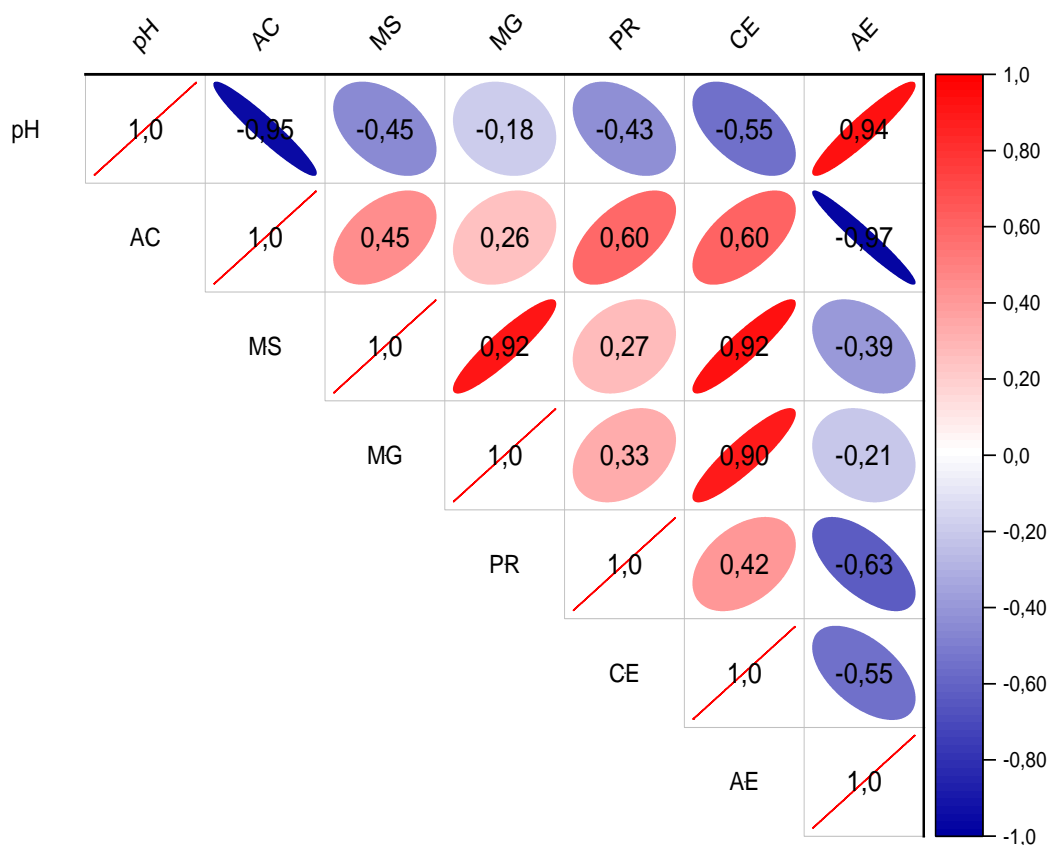


Figure 7. Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques analysés dans le fromage *Jben* fabriqué à partir du coagulant végétal. Les coefficients de Pearson sont mappés proportionnellement aux valeurs du diagramme circulaire et à l'intensité des couleurs. AC (Acidité), MS (Matière sèche), MG (Matière grasse), PR (Protéine), CE (Cendre) et AE (Activité de l'eau).

Tableau 2: Valeurs-p entre les paramètres physico-chimiques du fromage fabriqué à base du coagulant végétal (FPV).

Valeurs-p (FPV)	pH	AC	MS	MG	PR	CE	AE
pH							
AC	<0.001						
MS	0.228	0.220					
MG	0.634	0.503	0.001				
PR	0.251	0.091	0.475	0.379			
CE	0.125	0.086	0.000	0.001	0.264		
AE	<0.001	<0.001	0.302	0.586	0.070	0.122	

Chapitre 3. Résultats et discussion

D'autre part, dans tous les échantillons de fromage examinés (FPA et FPV), l'activité de l'eau était négativement corrélée à la matière sèche ($r = -0,70$, $r = -0,39$), à la matière grasse ($r = -0,49$, $r = -0,21$) et aux cendres ($r = -0,64$, $r = -0,55$), respectivement (**Fig.6, Fig.7**). Des résultats similaires ont été dévoilés par de nombreux auteurs (Brandielli et al., 2019 ; Manca et al., 2020) . En effet, les fromages sont complexes dans leur composition chimique ; ils contiennent généralement une phase solide (qui déjà négativement corrélée à l'activité de l'eau) constituée d'un gel protéique contenant une émulsion grasse et des minéraux, par conséquent ces composants semblent logiques être corrélés négativement avec l'activité de l'eau. D'autre part, les valeurs des cendres étaient positivement corrélées à la matière sèche dans les deux types de fromage (FPA et FPV) ($r = 0,99$, $r = 0,92$) respectivement, où ces corrélations étaient statistiquement très significatives ($<0,001$) (**Tab.1, Tab.2**). Cette relation est principalement due au calcium et au phosphore contenus, tous deux positivement corrélés aux protéines et par conséquent à la matière sèche (Franceschi et al., 2020).

De plus, le pH et la matière sèche sont corrélées négativement, où le pH dans le FPA était plus fortement corrélé à la matière sèche que dans le FPV ($r = -0,64$ contre $-0,45$, respectivement) (**Fig.6, Fig.7**). Manca et al. (2020) et de la Haba Ruiz et al. (2016) ont rapporté des résultats similaires. L'activité de l'eau uniquement était positivement corrélée avec le pH. Cette corrélation est très significative, où les processus suivants la coagulation tels que le moulage, le pressage et le salage, qui diffèrent selon le type de fromage, s'accompagnent d'une baisse du pH et provoquent une perte considérable d'humidité en éliminant le lactosérum et par conséquent la diminution l'activité de l'eau (Guiné et al., 2015). À l'inverse, l'activité de l'eau et les protéines sont corrélées négativement, où l'activité de l'eau dans le FPA était plus faiblement corrélée aux protéines que dans le FPV ($r = -0,41$ contre $-0,64$, respectivement). Ces corrélations semblent logiques puisque l'activité de l'eau était déjà corrélée négativement avec la matière sèche (Brandielli et al., 2019).

3 La fraction minérale

Le tableau 3 présente les teneurs moyennes des principaux éléments (calcium, phosphore, sodium, potassium, magnésium) et Oligo-éléments (zinc, cuivre, manganèse et le fer) présents dans les fromages frais traditionnels.

Chapitre 3. Résultats et discussion

Tableau 3: Les teneurs moyennes des principaux éléments et Oligo-éléments présents dans les fromages frais traditionnels (FPA et FPV).

Minéraux	Moyenne	Écart type	Min	Max	n	Valeur-P	
Principaux éléments (mg/100g)	Ca						
	FPA	469.00	15.56	458.00	480.00	2	0.096
	FPV	359.00	49.50	324.00	394.00	2	
	P						
	FPA	329.00	26.87	310.00	348.00	2	0.185
	FPV	282.00	19.80	268.00	296.00	2	
	K						
	FPA	187.50	0.71	187.00	188.00	2	0.446
	FPV	211.50	36.06	186.00	237.00	2	
	Na						
	FPA	209.50	36.06	184.00	235.00	2	0.169
	FPV	134.00	35.36	109.00	159.00	2	
	Mg						
	FPA	51.50	10.61	44.00	59.00	2	0.194
FPV	33.00	8.49	27.00	39.00	2		
Oligo-éléments (mg/100g)	Zn						
	FPA	0.05	0.01	0.04	0.05	2	0.310
	FPV	0.09	0.05	0.06	0.13	2	
	Cu						
	FPA	0.12	0.00	0.12	0.12	2	0.811
	FPV	0.14	0.08	0.08	0.19	2	
	Mn						
	FPA	0.08	0.01	0.07	0.09	2	0.096
	FPV	0.05	0.00	0.05	0.05	2	
	Fe						
	FPA	0.17	0.06	0.13	0.22	2	0.561
	FPV	0.25	0.16	0.14	0.36	2	

Calcium (Ca), phosphore(P), sodium (Na), potassium(K), magnésium (Mn), zinc (Zn), cuivre (Cu), manganèse (Mn) et le fer (Fe).

3.1 Principaux éléments

La teneur en minéraux majeurs dans les fromages a montré la tendance (Ca > P > Na > K > Mg).

3.1.1 Calcium (Ca)

Les teneurs en calcium (Ca) des échantillons de fromage à base de présure animale et à base de coagulant végétal, sont $469 \pm 15,56$ mg/100g et $359 \pm 49,50$ mg/100g (**Tab.3**), respectivement. Nos résultats étaient conformes aux valeurs obtenues par Kose et al. (2021)

Chapitre 3. Résultats et discussion

(323,78-708,1 mg/100g), González-Martín et al. (2009) (449 - 4038 mg/100g), Manuelian et al. (2017) (229-510 mg/100g) et par Mendil (2006) (347,3 - 455,6 mg/100g) également, nos teneurs sont proches de celles révélées par Çelebi et Şimşek (2015) ($450 \pm 0,31$ mg/100g) pour le FPA, alors que pour le FPV, nos résultats se trouvent dans la fourchette des ceux avancés par Çetinkaya et al. (2016) (221,25 - 532 mg/100g), Köse et Ocak (2019) (236,47 - 482,035 mg/100g).

Cependant, nos teneurs sont différentes aux valeurs trouvées par Adhikari et al. (2021) (610,3 - 628 mg/100g), Massouras et al. (2023) (358,04 mg/100g). La teneur en calcium des fromages à base de coagulant végétal est inférieure à celle des fromages à base de présure animale. Le même phénomène a été observé dans les fromages de brebis (Sanjuán et al., 1998). Ce phénomène peut être attribué au temps de coagulation élevé du lait à l'aide du coagulant végétal provoquant des pertes de la fraction protéique et par conséquent, se traduit par une faible teneur en calcium dans le caillé. D'autre part, différents chercheurs ont souligné que les techniques de production fromagère pouvaient entraîner des variations dans la teneur en calcium des fromages produits (Simões et al., 2013).

3.1.2 Phosphore (P)

Le tableau 3 représente les valeurs moyennes et les écarts-types obtenues pour le phosphore ($329 \pm 26,87$ mg/100g et $282 \pm 19,80$ mg/100g) pour les échantillons de fromages étudiés FPA et FPV, respectivement (**Tab.3**). L'analyse de variance montre que le type de la présure n'a pas d'effet significatif ($p > 0,05$) sur la teneur en phosphore dans les échantillons de fromage analysés. Les variabilités observées dans la teneur en phosphore entre les deux types de fromage (FPA et FPV) peuvent être dues au temps de la coagulation élevé du lait à l'aide du coagulant végétal ce qui entraîne par une perte de la teneur en phosphore dans le lactosérum et par conséquent, se traduit par sa faible quantité dans le caillé (Tejada et al., 2008).

Nombreux auteurs identifient des teneurs de même ordre de grandeur pour le même minéral dans les différents types de fromages, surtout frais dont González-Martín et al. (2009) (235-603 mg/100g), Messias et al. (2021) (275,70- 595,60 mg/100g), Deshwal et al. (2023) (143 -640 mg/100g), Çetinkaya et al. (2016) (241,25 – 548,5 mg/100g) et Manuelian et al. (2017) (170 - 419 mg/100g). Cependant, les résultats que nous avons obtenus dans cette étude sont différents par rapport aux résultats d'autres travaux, Osorio et al. (2015) et Kaminarides et al. (2019) identifient des quantités élevées (468,7 – 528,3 mg/100g) et (470 ± 30

Chapitre 3. Résultats et discussion

mg/100g) pour le fromage *Halloumi*, respectivement. Alors que, Mustafa et al. (2013) et Kose et al. (2021) ont révélé de faible quantité (91,12 - 108 mg/100g) et (82,24 – 233,65 mg/100g), respectivement.

Les différences enregistrées dans les teneurs du phosphore en comparaison avec les études de la littérature peuvent être attribuées au pH (la réduction du phosphore est due à la baisse du pH du lait qui provoque la solubilisation du phosphore colloïdal qui se perd par la suite dans le lactosérum (Tejada et al., 2008), aux procédés de fabrication (type de coagulant), au type du lait utilisé et aux conditions environnementales (Hrković-Porobija et al., 2021; Levkova et al., 2017; Mustafa et al., 2013).

En ce qui concerne le calcium, 80% de cet élément inorganique présent dans la phase colloïdale est associé aux micelles de caséine, le reste est associé aux phosphosérines. Le rôle du phosphate de calcium colloïdal (PCC) est très important, car il relie les sous-micelles pour former des micelles de caséine et contribue à la structure de la matrice protéique du fromage. Le rapport Ca/P dans ces fromages était compris entre 1,14 et 1,42 pour FPV et FPA, respectivement. Pour le FPV, ce rapport étant proche de 1,2 considéré comme normal par Jenness (1980), alors que pour le FPA, sa valeur se coïncide avec les rapports obtenus par Tejada et al. (2008) (1,4), par Osorio et al. (2015) (1,4 - 1,45) et par Barać et al. (2018) (1,33), d'autre part, de point de vue médicale, il doit exister un rapport Ca/P approprié dans l'alimentation humaine pour assurer une santé osseuse optimale. Sur la base du calcul des apports alimentaires recommandés en Ca et P, le ratio Ca/P alimentaire optimal (nourrissons, enfants, adultes et mères allaitantes) varie de 1 à 2. L'apport quotidien recommandé (AQR) du rapport Ca/P est de 1 à 1,72 pour les personnes de tous les intervalles d'âge (Institut de Médecine, 2011), ce qui est en concordance avec nos rapports.

3.1.3 Potassium (K)

La quantité de potassium (K) montre une grande variabilité dont les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans les fromages à base de la présure animale et les plus faibles dans les fromages à base du coagulant végétal. Ces valeurs sont $187,5 \pm 0,71$ mg/100g pour FPA et $211,5 \pm 36,06$ mg/100g pour FPV (**Tab.3**). Les teneurs en potassium de ces fromages frais ne différaient pas significativement ($p > 0,05$) selon le type du coagulant utilisé. Nos valeurs, pour le FPA se trouvent dans la fourchette des résultats dévoilés par de nombreux chercheurs dont Osorio et al. (2015) (151,72 - 203,9 mg/100g), González-Martín et al. (2009) (62 - 217 mg/100g) et se rapprochent de teneurs rapportées par Qaisar et Mustafa (2020)

Chapitre 3. Résultats et discussion

(198,39 mg/100g). Alors que, pour le FPV, nos résultats sont en concordance avec ceux révélés par Metry (2010) (208,6- 269,7 mg/100g), Manuelian et al. (2017). (85 - 394 mg/100g) et Barac et al. (2018) (124,5-290,4 mg/100g).

Tejada et al. (2008), ont trouvé des teneurs de K comprises entre 147 ± 11 mg/100 g et 152 ± 14 mg/100 g dans le fromage de chèvre fabriqué avec de la présure animale et végétale, respectivement. D'autre part, Messias et al. (2021) ont trouvé aussi des valeurs moyennes pour des fromages frais ; Ricotta fraîche ($108,22 \pm 13,38$ mg/100 g) et Minas frais ($84,97 \pm 4,78$ mg/100 g) qui sont inférieurs par rapport aux valeurs que nous avons trouvées pour nos fromages traditionnels (*Jben*).

Cette variabilité peut attribuer aux différences dans le processus de production du fromage notamment traditionnel (type et quantité de la présure ajoutée, salage et égouttage), type du lait utilisé et aux nombreuses techniques de dosage des minéraux (spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif (CIP-SEO), spectroscopie de fluorescence X (SFX) et spectroscopie d'absorption atomique (SAA). En plus, le potassium est majoritairement présent dans le lait (93%) sous forme soluble et les 7% restants sous forme colloïdale, la concentration de K dans le fromage est donc associée à l'humidité (Lante et al., 2006), ce qui signifie que les pertes minérales lors de la transformation du fromage augmentent. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans notre étude.

3.1.4 Sodium (Na)

La teneur en Na dans les échantillons de fromages a montré la valeur la plus élevée dans le FPA (209.5 ± 36.06 mg/100), par rapport aux échantillons de FPV ($134 \pm 35,36$ mg/100) (**Tab.3**). La différence dans la teneur de sodium entre les échantillons de fromage traditionnel est peut-être attribuée à la composition de la présure (caillette animale) et sa rétention résiduelle dans le caillé.

Nos valeurs, se situent dans la fourchette de résultats révélés par Levkova et al. (2017) (135 -267 g/100g), Deshwal et al. (2023) (108 - 219 mg/100g), Mustafa et al. (2013) (189 - 315 mg/100g). Cependant, les teneurs que nous avons enregistrées dans cette étude sont différentes en comparaison avec d'autres travaux, Tejada et al. (2008), ont trouvé des teneurs en Na comprises entre 317 ± 24 mg/100 g et 481 ± 21 mg/100 g, Çetinkaya et al. (2016) (485,25 - 1052 mg/100g), EL-Taweel et al. (2017) (280 - 580 mg/100g) et Köse et Ocak (2019) (571,96-1006,32 mg/100g). Selon la littérature, il semble que la quantité du sel ajoutée lors de la fabrication du fromage ait entraîné une augmentation significative de la

Chapitre 3. Résultats et discussion

concentration de sodium dans le fromage, sans oublier l'impact de différentes techniques de production (lait utilisé, agents de coagulation, méthode de salage et drainage) (González-Martín et al., 2009; Manuelian et al., 2017).

Le sodium est important pour la régulation de la pression sanguine et osmotique, le transport de l'eau dans et hors des cellules et la transmission des impulsions des cellules nerveuses (Cruz et al., 2011). Cependant, la consommation élevée de sodium est une préoccupation majeure pour la santé publique notamment l'hypertension et les maladies cardiovasculaires (Xue et al., 2023). Le fromage a été mis en avant comme aliment cible pour la réduction du sel (Organisation Mondiale de la Santé, 2013), et cette réduction a récemment reçu une attention considérable, des médias notamment scientifiques après des rapports sur la forte teneur en sel d'une large gamme de fromages dans les remarchés, L'organisation mondiale de la santé (OMS) recommande que la population adulte ne consomme pas plus de 5,0 g de NaCl ou 2,0 g de Na par jour. Ainsi, compte tenu des valeurs trouvées dans la présente l'étude, une tranche (100 g) de fromage traditionnel (*Jben*) à base de la présure animale contribue à 10% du besoin quotidien total en sodium.

3.1.5 Magnésium (Mg)

Il a été déterminé que la teneur en Mg des échantillons variait de $33 \pm 8,49$ à $51,1 \pm 10,61$ mg/100g pour le FPV et FPA, respectivement (**Tab.3**). La teneur en magnésium du fromage n'était pas significativement affectée par le type de coagulant ($p > 0,05$). Nos résultats se coïncident avec celles dévoilés par, Hrković-Porobija et al. (2021) (11,5 - 55,5 mg/100g), par Barac et al. (2018) (23,20 – 34,78 mg/100g), par Deshwal et al. (2023) (10 - 58 mg/100g), et par Messias et al. (2021) (25,8 – 68,7 mg/100g). D'autre part, nos valeurs sont supérieures aux celles révélées par Çetinkaya et al. (2016) (11,12 – 21,4 mg/100g) et Pawlos et al. (2022) (14,72- 24,1 mg/100g) sur des fromages coagulés par différents types de présure (animale, végétale et microbienne).

Le magnésium est important dans de nombreux processus physiologiques, tels que le métabolisme des protéines et des acides nucléiques, la transmission neuromusculaire et la contraction musculaire, la croissance osseuse et la régulation de la pression artérielle. D'après la littérature, La concentration en magnésium était la plus faible de tous les macroéléments testés dans la majorité des études réalisées sur les différentes variétés des fromages traditionnels ou industriels (Barac et al., 2018 ; Gore et al., 2019 ; Köse et Ocak, 2019 ; Massouras et al., 2023). Selon plusieurs chercheurs la variabilité en magnésium est due à de

Chapitre 3. Résultats et discussion

nombreux facteurs dont le type de lait utilisé, la saison de production, type de coagulant et les méthodes de fabrication (en particulier le pressage et le salage) et différentes méthodes de digestion du fromage avant l'analyse de la fraction minérale (Deshwal et al., 2023 ; Gordon, 2014 ; Moreno-Rojas et al., 2010 ; Pawlos et al., 2022).

L'augmentation de la teneur en Ca, P et Mg dans les échantillons de caillé est le résultat de leur capacité à rester dans la phase insoluble ou colloïdale du lait (70-80 % de Ca et P et 50 % de Mg) (Borys et al., 2006 ; De La Fuente et al., 1997 ; Yabrir et al., 2014). La teneur plus élevée en macroéléments dans les échantillons de caillé peut également être le résultat des méthodes traditionnelles de production qui impliquent des différences dans la quantité de la présure ajoutée, le temps de caillage et la manière de traiter les échantillons de caillé (Levkova et al., 2017).

3.2 Oligo-éléments

De manière générale, les concentrations en micro-éléments étaient très faibles dans la plupart des variétés de fromage, leurs doses élevées sont nocives et causent des problèmes de santé (Al Sidawi et al., 2021; Beikzadeh et al., 2019). En particulier, le lait et les produits laitiers sont potentiellement dangereux que les autres aliments en raison de leur consommation par les nourrissons et les personnes âgées (Al Sidawi et al., 2021).

3.2.1 Zinc (Zn)

Le Zinc (Zn) est l'un des minéraux essentiels qui a des effets importants sur de nombreuses fonctions physiologiques telles que la maturation sexuelle, le système immunitaire et la sécrétion d'insuline. De plus, il contribue au métabolisme des protéines, des glucides, des lipides et des acides nucléiques. Toutes ces fonctions de Zn sont causées par la contribution à la structure de nombreuses enzymes (Al Sidawi et al., 2021 ; Christophoridis et al., 2019 ; Meshref et al., 2014).

Les données obtenues à partir de la détermination comparative des niveaux de zinc ont révélé que, le FPA a une teneur moyenne en zinc de $0,05 \pm 0,01$ mg/100 g, tandis que sa teneur moyenne dans le FPV est $0,09 \pm 0,05$ mg/100g, en effet, ces différences sont statistiquement non significatives ($p > 0,05$). Nos résultats se rapprochent de la fourchette des valeurs dévoilées par Kalaycı et al. (2022) (0,093-1,194 mg/100g) pour le FPV et par Ibhaze (2018) (0,054-0,082 mg/100g) pour le FPA. D'autre part, certains auteurs rapportent des teneurs très élevées par rapport aux résultats que nous avons obtenus dans la présente étude

Chapitre 3. Résultats et discussion

dont ceux révélés par Levkova et al. (2017) (0,63 -1,16 mg/100g), Hrković-Porobija et al. (2021) (0,81 – 1,8 mg/100g) et par Kose et al. (2021) (1,18 – 3,06 mg/100g).

On pense que les variations détectées dans la teneur en zinc des fromages dans différentes études sont causées par le type du lait utilisé dans la production de fromage et l'éventuelle contamination par les ustensiles et récipients utilisés dans la fabrication. De plus, il est rapporté que 85 % du Zn dans le lait est exposé aux micelles de caséine et est libéré du caillé en devenant libre à des valeurs de pH acides (Çetinkaya et al., 2016).

3.2.2 Cuivre (Cu)

Le cuivre (Cu) est l'un des éléments importants pour de nombreux événements physiologiques humains tels que le système cardiovasculaire, l'élasticité des poumons, la fonction neuroendocrinienne et le métabolisme du fer (Al Sidawi et al., 2021; Meshref et al., 2014). Cependant, une consommation excessive de Cu peut entraîner certains problèmes de santé (troubles gastro-intestinaux, problèmes d'immunité, cirrhose du foie, troubles neurologiques et dermatite) (Meshref et al., 2014).

La teneur en cuivre variait de 0,12 à 0,14 mg/100g. Le niveau en cuivre dans le FPV est légèrement élevé qu'en FPA. Les résultats obtenus pour le cuivre se trouvent dans la fourchette rapportées par Castro-González et al. (2022) (0,1 – 0,18 mg/100g), par Kose et al. (2021) (0,051 - 0,23 mg/100g), par Çelebi et Şimşek (2015) (0,05-0,3 mg/100g) et par Çetinkaya et al. (2016)(0,09 - 0,204 mg/100g), Cependant, nos valeurs diffèrent de celles trouvées par El-Loly et al. (2022) (0,0188 mg/100g), par Baseri et al. (2018) (0,181 mg/100g). Cette variabilité dans la teneur en cuivre pourrait s'expliquer par la propagation de la contamination des ustensiles et récipients au cours du processus de transport et de transformation du lait en fromage où le Cu est fréquemment utilisé dans la production de chaudrons pour le processus de coagulation du lait et de la manipulation du caillé. (Christophoridis et al., 2019 ; Sevgi Kirdar et al., 2015).

3.2.3 Manganèse (Mn)

Le manganèse est un composant normal des êtres vivants, y compris les plantes et les animaux, de sorte que le manganèse est également présent dans les aliments. Pour la majorité des gens, la nourriture est la principale source de manganèse. En Médecine, les spécialistes recommandent que l'apport en manganèse provenant des aliments, de l'eau et des compléments alimentaires ne dépasse pas la limite supérieure quotidienne tolérable de 11 mg/jour (Food et Board, 2002). Dans la présente étude, le fromage traditionnel *Jben* à base du

Chapitre 3. Résultats et discussion

coagulant végétale est caractérisé par la teneur la plus élevée en Manganèse ($0,08 \pm 0,01$ mg/100g) par rapport au fromage à base de présure animal ($0,05 \pm 0,00$ mg/100g).

Nos valeurs moyennes pour le Manganèse se cohérent de celles révélées par Kirdar et al. (2013) ($0,012 - 0,237$ mg/100g), Mustafa et al. (2013) ($0,03 - 0,13$ mg/100g), Kose et al. (2021) ($0,051-0,23$ mg/100g), Barac et al. (2018) ($0,054-0,123$ mg/100g), d'autre part, certains chercheurs identifient des valeurs légèrement faibles par rapport aux résultats que nous avons obtenus dont Levkova et al. (2017) ($0,018 - 0,047$ mg/100g) et Köse et Ocak (2019) ($0,026 - 0,036$ mg/100g). Il est indiqué que certains métaux tel que le manganèse entrant dans la composition des récipients en acier utilisés dans les étapes de chauffage et d'ébullition de la production de fromage peuvent pénétrer dans le produit (Ozlu et al., 2012).

3.2.4 Fer (Fe)

Le fer est un oligo-élément essentiel qui est incorporé comme catalyseur dans diverses réactions métaboliques. Le lait et les produits laitiers représentent une source insuffisante en termes de Fe pour l'alimentation humaine (Zamberlin et al., 2012). Les concentrations minimales et maximales de Fe des échantillons de fromage variaient entre $0,17 \pm 0,06$ et $0,25 \pm 0,16$ mg/100g pour FPA et FPV, respectivement. Il n'y avait pas des différences statistiques concernant la teneur en Fe selon le type de coagulant utilisé lors la fabrication du fromage ($p > 0,05$). Les résultats obtenus dans cette étude se situent dans la fourchette des données rapportées par de nombreux auteurs dont, Kirdar et al. (2013) ($0,15 - 1,04$ mg/100g), Messias et al. (2021) ($0,18 - 0,26$ mg/100g), Deshwal et al. (2023) ($0,053 - 0,474$ mg/100g), Abebe et Emire (2020) ($0,07 - 1,85$ mg/100g), Contrairement aux valeurs obtenues, certains chercheurs ont dévoilés des teneurs élevées tels que, Mustafa et al. (2013) ($0,34 - 0,77$ mg/100g), Kose et al. (2021) ($0,38 - 1,168$ mg/100g) et Matera et al. (2018) ($0,7 - 1$ mg/100g).

La variabilité dans la quantité de fer entre les différents échantillons de fromages pourrait être due aux récipients en étain qui ont été fabriqués dans de mauvaises conditions. Fernández-García et al. (2006) ont indiqué l'existence de certains facteurs probablement non contrôlés associés au régime alimentaire des bétails, qui influençaient la concentration en Fe des produits laitiers. La valeur du fer la plus élevée ($0,25$ mg/100g) obtenue dans le fromage à base de la présure végétale peut être attribuée à la forte concentration de fer dans l'extrait, car les plantes (feuilles) sont connues pour être une riche source de fer (Ibhaze, 2018). En plus, Cette variabilité pourrait être lié à la fraction caséinique (50% fer) comme rapporté par Anguita et al. (1996) et/ou à une éventuelle contamination par les ustensiles, récipients, les

Chapitre 3. Résultats et discussion

outils utilisés dans le transport, le stockage et la transformation du lait (Cichoscki et al., 2002 ; Park, 2000 ; Qin et al., 2009), ce qui pourrait augmenter la concentration de Fe.

En conclusion, Les variations observées dans les teneurs en minéraux pourraient être attribuées à de nombreux facteurs dont le type de lait, la race animale, la période de lactation, l'alimentation, les variations dans le processus de production technologique (en particulier le pressage et le salage) (Gordon, 2014). D'autre part, La teneur plus élevée en macroéléments dans les échantillons de fromage peut également être le résultat des méthodes traditionnelles de production qu'impliquent qu'il existe des différences dans la quantité de la présure ajoutée, à la contamination suite à la traite, contamination par les ustensiles et les différentes méthodes de dosage des minéraux (Barac et al., 2018; Cetinkaya et al., 2016; Hrković-Porobija et al., 2021; Levkova et al., 2017).

4 Composition des acides gras du fromage

En plus d'être des fournisseurs abondants de nutriments vitaux comme les protéines, le calcium et les vitamines, le lait et les produits laitiers comprennent également une variété de composés bioactifs, parmi lesquels les AG sont de la plus grande importance. La matière grasse laitière est la plus complexe de l'alimentation humaine puisqu'elle contient plus de 400 AG différents. De plus, une partie substantielle de ces AG provient des produits laitiers dont les fromages, qui constituent la quasi-totalité de leur source dans notre alimentation (Summer et al., 2017).

La composition des acides gras (AG) dans la matière grasse totale (% des AG totaux) obtenue à partir des fromages de vache frais traditionnels est présentée dans le tableau 4. Les chromatogrammes de GC/MS pour les échantillons FPA et FPV sont présentés dans la figure 8. Selon le type de fromage, jusqu'à quinze AG ont été trouvés dans les conditions expérimentales utilisées dans ce travail. Dix d'entre eux étaient des acides gras saturés (AGS), tandis que les cinq autres étaient des acides gras insaturés (AGI) (acides gras monoinsaturés (AGMI) et acides gras polyinsaturés (AGPI)).

Les fromages de vache frais traditionnels étudiés avaient généralement des compositions qualitatives identiques en acides gras dans les deux types de fromages. Nos résultats ont démontré que les AGS étaient prédominants dans les deux échantillons de fromage, constituant 65,88 % des AG dans le FPA et 64,3 % dans le FPV. Les AGMI et les AGPI ont atteint des valeurs de 30,9 % et 3,22 % pour la FPA et de 32,63 et 3,07 % pour la FPV, respectivement (**Tab.4**). Les AGS les plus abondants dans tous les fromages étaient

Chapitre 3. Résultats et discussion

l'acide myristique (C14:0), l'acide stéarique (C18:0) et l'acide palmitique (C16:0). Ces AG constituaient respectivement 11, 69 à 12, 17%, 13, 07 à 13, 37% et 27, 81 à 28, 80 % de tous les AG identifiés pour le FPV et FPA, respectivement (**Tab.4**). Les tests du chi carré de Pearson n'ont révélé aucune différence significative ($p > 0,05$) pour chaque concentration d'AG entre FPV et FPA.

Tableau 4: Teneur en acides gras des fromages traditionnels (% des acides gras totaux).

Acides gras	Formule	FPA (%)	FPV (%)
Acides gras saturés (AGS)		65.88	64.3
Acide caproïque	C6 :0	1.52	1.38
Acide caprylique	C8 :0	1.25	1.22
Acide caprique	C10 :0	2.89	2.88
Acide laurique	C12 :0	3.91	3.78
Acide myristique	C14 :0	12.17	11.69
Acide pentadécanoïque	C15 :0	1.28	1.50
Acide palmitique	C16 :0	28.80	27.81
Acide margarique	C17 :0	0.60	0.75
Acide stéarique	C18 :0	13.37	13.07
Acide arachidique	C20 :0	0.09	0.22
Acides gras monoinsaturés (AGMI)		30.9	32.63
Acide myristoléique	C14 :1	0.85	1.10
Acide palmitoléique	C16 :1	1.48	2.21
Acide heptadécanoïque	C17 :1	0.89	1.16
Acide oléique	C18 :1 n-9 cis	27.68	28.16
Acides gras poly insaturés (AGPI)		3.22	3.07
Acide linoléique	C18 :2 n-6 cis	3.22	3.07
Acides gras insaturés (AGI)		34.12	35.7
AGCC		5.66	5.48
AGCM		49.98	50
AGCL		44.36	44.52

AGS : Acides gras saturés ; AGMI : Acides gras monoinsaturés ; AGPI : Acides gras polyinsaturés. AGCC : Acides gras saturés à chaîne courte de C4 :0 à C10 :0 ; AGCM : Acides gras saturés à chaîne moyenne de C12 :0 à C17 :0 ; AGCL : Acides gras saturés à longue chaîne de C18:0 à C24:0.

Chapitre 3. Résultats et discussion

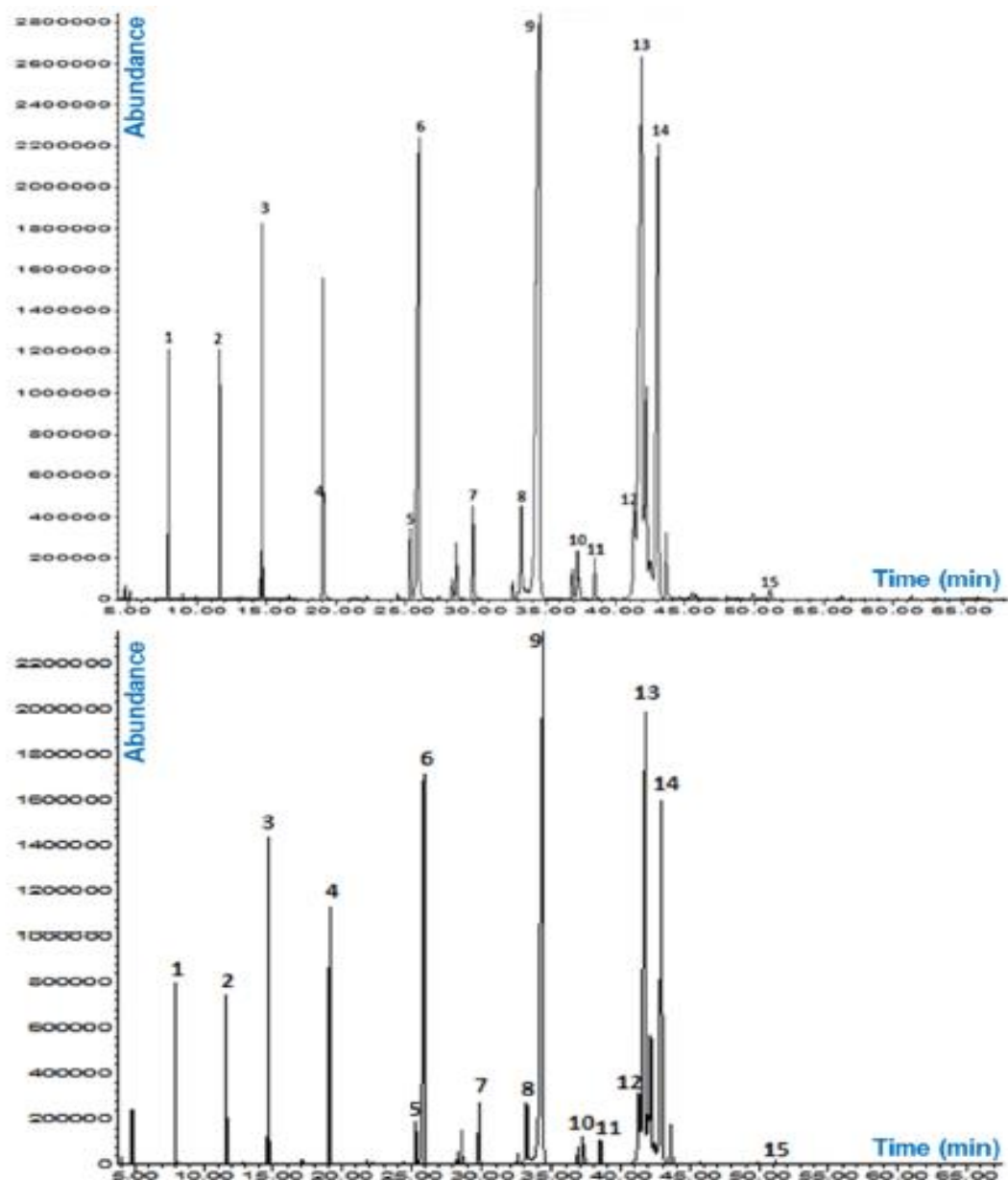


Figure 8. Chromatogramme de la séparation obtenue de l'échantillon de fromage à base de la présure végétale (graphique du haut) et de l'échantillon de fromage à base de la présure d'agneau (graphique du bas). Les chiffres des pics sont des AG (1 : Caproïque, 2 : Caprylique, 3 : Caprique, 4 : Laurique, 5 : Myristique, 6 : Pentadécénoïque, 7 : Palmitique, 8 : Margarique, 9 : Stéarique, 10 : Arachidique, 11 : Myristoléique, 12 : Palmitoléique, 13 : Heptadécénoïque, 14 : Oléïque et 15 : Linoléïque).

L'acide gras qui a le plus contribué au profil des AGI est l'acide oléïque (C18:1 n9cis). Le deuxième AGMI le plus abondant était C16:1, identifié dans le FPA, qui était inférieur à son contenu dans le FPV. Pour le C17:1, sa valeur dans le FPV a également dépassé légèrement sa valeur dans le FPA. La teneur en C14:1 était aussi faible que la teneur en C16:1 pour le type le plus élevé (FPV) et pour le type le plus bas (FPA). L'acide oléïque (C18:1 n-9 cis) trouvé dans tous les échantillons de fromage examinés correspond à l'acide prédominant

Chapitre 3. Résultats et discussion

du groupe AGMI, dont les valeurs obtenues étaient de 28,16 et 27,68 pour FPV et FPA, respectivement. En ce qui concerne les AGPI dans les échantillons des FPA et FPV, seul l'acide linoléique (C18:2 n-6 cis) était présent avec 3,22 % et 3,07 %, respectivement (**Fig.9**).

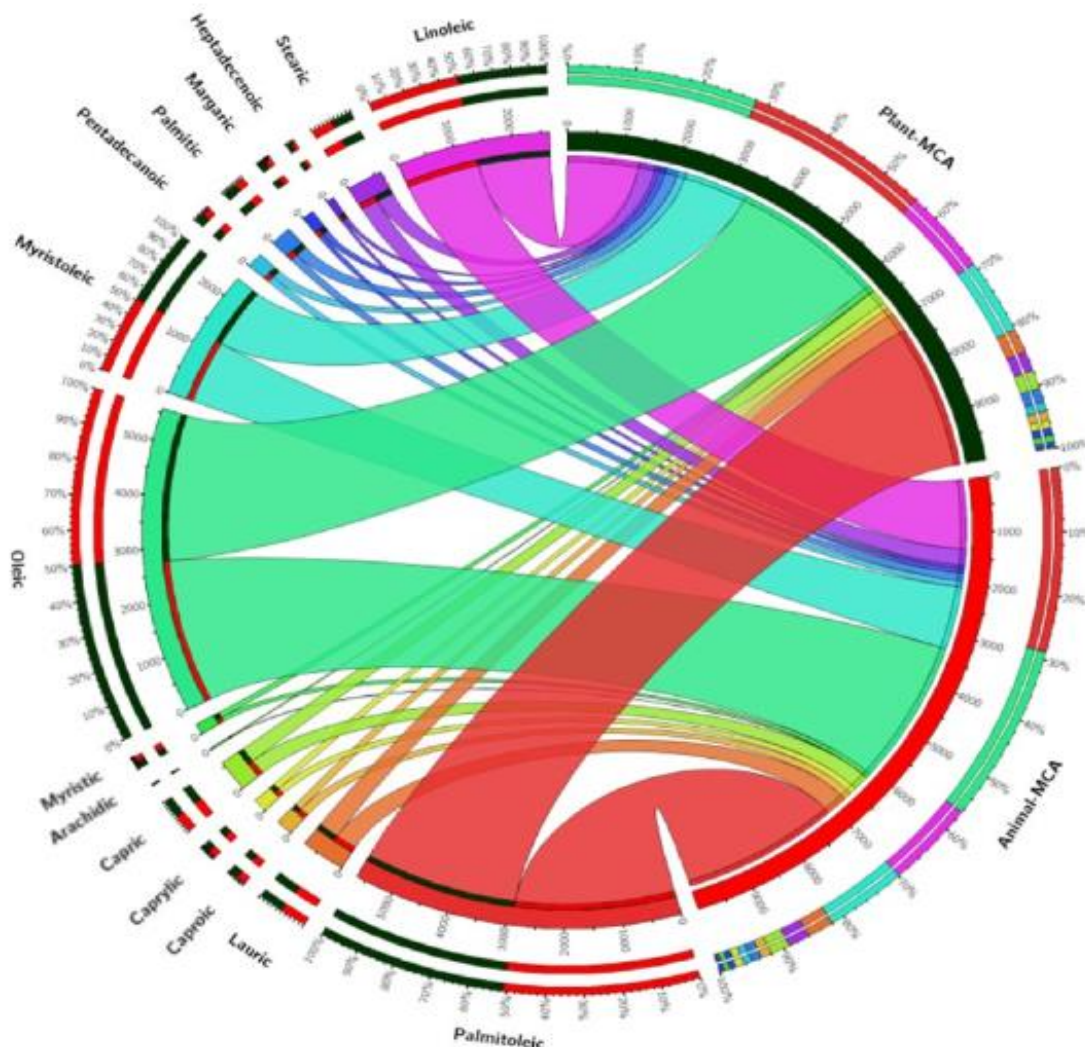


Figure 9. Diagramme à corde de la composition en acides gras des fromages à base de la présure d'agneau et du coagulant végétal (% des AG totaux).

Sur la base de la longueur de la chaîne hydrocarbonée, les AG du fromage sont généralement classés en acides gras à chaîne courte (AGCC) (C4-C10), à chaîne moyenne (AGCM) (C12-C17) et à chaîne longue (AGCL) (\geq C18). Selon cette classification, la teneur AGCC n'avait pas de différences significatives entre le FPA (5,66 %) et le FPV (5,46 %). D'autre part, les niveaux d'acides gras à chaîne moyenne (AGCM) dans les fromages examinés étaient comparables. A titre d'exemple, l'acide palmitique (C16), qui était plus abondant et plus élevé dans la FPA que dans la FPV, était le plus abondant dans les AGCM, en revanche, l'acide myristique (C14), qui était plus abondant dans la FPA que la FPV, était le deuxième acide gras le plus répandu. Bien que le C18 (stéarique, oléique et linoléique) soit

Chapitre 3. Résultats et discussion

l'AG le plus représentatif parmi les acides gras à chaîne longue (AGCL), cette classe d'AG était pratiquement la même dans les FPV (44,52 %) que dans les FPA (44,36 %).

De nombreuses études ont évalué les profils des AG dans les fromages traditionnels (Barać et al., 2018 ; Çetinkaya et Oz, 2018 ; Paszczyk et al., 2022). La quantité d'AG dans les produits laitiers (crème, yaourt, fromage) est liée au processus de fabrication du fromage et au temps de maturation (Białek et al., 2020 ; Buccioni et al., 2022 ; Paszczyk et al., 2020 ; Uzun et al., 2020). Comme prévu, les AGS et les AGI sont abondants dans les fromages frais, ainsi que dans d'autres variétés de fromages. Dans les profils AG, les AGS ont été caractérisées par la proportion la plus élevée dans tous les échantillons de fromage frais (FPA et FPV). Les valeurs des AG trouvées dans la présente étude sont cohérentes avec celles trouvées par (Dopieralska et al., 2020).

Les teneurs en AGS et AGPI dans les fromages frais étudiés (FPV et FPA) fabriqués avec du lait cru de vache variaient de 64,63 à 65,53 % et 3,07 à 3,22 %, respectivement, alors que, Les teneurs en AGMI variaient de 30,9 à 32,63 % dans les fromages (FPA et FPV). Ces résultats sont en accord avec les données rapportées par Barać et al. (2018), qui ont montré que la concentration d'AGS, d'AGMI et d'AGPI dans le fromage (*Sjenica*) dérivé du lait de vache était de 65,97 %, 30,31 % et 3,72 %, respectivement. De plus, les acides C16:0 (palmitique), C18:1n-9 (oléique) et C18:2 n-6 (linoléique) étaient les principaux AGS, AGMI et AGPI des Fromages (FPV et FPA). Maniaci et al. (2021) et Paszczyk et al. (2022) ont également recueilli des données comparables à celles des classes des AG citées précédemment.

Les résultats de la présente étude ont indiqué que l'absence de C:4 et la légère diminution de la proportion de C:6, C:8 et C:10 dans les fromages examinés pourraient être due à une proportion plus élevée de C18:0 dans l'alimentation, qui est un inhibiteur de la synthèse de novo des AG dans la glande mammaire (Chilliard et al., 2003), ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par Klir Šalavardić et al. (2021). Par rapport aux études de la littérature, Certains AG sont absents et les autres se trouvent avec des quantités minimales dans tous les traitements fromagers au temps zéro par rapport à la durée de stockage. Des résultats similaires sont rapportés par Türkoğlu (2011) et Morsy et al. (2022) pour le fromage *Orgu* de brebis turc et fondu égyptien, respectivement. Selon Suzzi et al. (2015), immédiatement après la production, les fromages obtenus avec de la présure de chevreau ont montré une plus faible abondance d'acide caproïque (C6:0), d'acide caprylique (C8:0), d'acide caprique (C10:0) par

Chapitre 3. Résultats et discussion

rapport aux autres fromages, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par de nombreux chercheurs (Đurović et al., 2022; El-Salam et al., 2019).

Les AGS intégraient 4 à 10 atomes de carbone (C4:0 à C10:0), en plus, de ces propriétés sensorielles du fromage car ces acides sont connus pour être plus accessibles aux enzymes bactériennes et sont des précurseurs de composés aromatiques (Fox et al., 2017; Tekin et Güler, 2019), plusieurs auteurs ont mentionné que cette catégorie d'AG n'entraîne pas d'augmentation du cholestérol circulant, ni n'affecte la fonction cardiaque chez ceux qui consomment ce type des produits laitiers. Dans le même temps, certains auteurs ont rapporté que ces acides gras peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine en inhibant la croissance bactérienne et virale ainsi qu'en dissolvant les dépôts de cholestérol en raison de l'acide caprylique (C8:0) et de l'acide caprique (C10:0). L'acide caprylique est également reconnu comme ayant un effet retardateur sur la croissance tumorale (Haug et al., 2007; Markiewicz-Kęszycka et al., 2013).

D'autre part, concernant les AGCM, la teneur en acide laurique (C12:0), ayant des propriétés antimicrobiennes, variait de 3,78 à 3,91 %. Des valeurs similaires sont déterminées dans les fromages au lait de vache (Adamska et al., 2017; Rutkowska et al., 2009). Des teneurs plus élevée en C12:0 ont été enregistrées dans les fromages au lait de chèvre et de brebis (Aguilar et al., 2014; Prandini et al., 2007; Reis Lima et al., 2020). Ces différences étaient cependant dues à l'origine du lait, à savoir aux espèces animales. En plus, de ses propriétés antimicrobiennes, selon Mensink et al. (2003) et Parodi (2009), l'acide laurique est plus puissant que le C14:0 et le C16:0 puisque cet AG augmente le cholestérol sérique total plus que des autres AG, mais surtout le bon cholestérol sanguin HDL (lipoprotéine de haute densité), en générale, un rapport cholestérol total/ HDL plus faible est corrélé à une diminution des risques d'athérosclérose et cardiovasculaires.

Par rapport aux études de la littérature, il a été déterminé que les teneurs d'acides gras myristique (C14:0) trouvés étaient conformes aux résultats révélés par Zabek et al. (2021) (12.54-13.78%), par Mureşan et al. (2021) (13.61%), par Bodnar et al. (2021) (11.64%) et par Duarte et al. (2022) (11.49%). La présence de l'acide myristique dans le lait et les produits laitiers constituent donc sa source principale pour l'homme. Quant à l'acide palmitique qui représentait environ un tiers de la teneur totale en AG, ses teneurs pour les deux types d'échantillons de fromage (FPV et FPA) se coïncident avec celles révélées par Hirigoyen et al. (2018) (27.3-28.4%) pour le fromage traditionnel *Colonia*, par Zabek et al. (2021) (27.61-30.97%) et par Kalinova et al. (2019) (28.66-29.87%). L'acide gras C16:0 était également

Chapitre 3. Résultats et discussion

abondant dans d'autres fromages à base de lait de vache, comme le fromage Caciocavallo Palermitano, Maniaci et al. (2021), le fromage Domiati, Moneeb et al. (2019) et aussi dans le fromage Feta Gatzias et al. (2020).

Gómez-Cortés et al. (2018) ont démontré que les acides gras à chaîne courte et moyenne sont des composants favorables à la santé ; ces acides gras peuvent aider à maintenir l'équilibre du microbiote intestinal et à contrôler le poids corporel humain. Quant à l'acide stéarique (C18:0) a également été trouvé en grande quantité, avec des teneurs moyennes d'environ 13,07 % et 13,37 % dans les deux types de fromage, FPV et FPA, respectivement est rapidement converti en acide oléique AGMI (C18:1), qui est considéré comme l'une des sources de graisses les plus saines dans l'alimentation et n'est pas lié aux risques des maladies cardiovasculaires (Jakobsen et al., 2009). Nos résultats se coïncident avec ceux obtenus par Santillo et al. (2016) (12.120 à 13.33%) et par Klir Šalavardić et al. (2021) (11.8 à 14. 7%).

D'autre part, nos fromages traditionnels (FPV et FPA) contiennent des AG supplémentaires qui ont des effets favorables sur l'apparition et la progression des maladies chroniques, notamment de nombreux AG à chaîne impaire (AGCI) et C18: 1n -9 (acide oléique). Des AGCI plasmatiques élevés ont été associés à une consommation accrue de produits laitiers, en particulier C15: 0 et C17: 0, qui peuvent être utilisés comme biomarqueurs de l'absorption totale des graisses laitières, puisque le métabolisme humain n'est pas capable de produire de tels AG à chaînes impaires et les produits laitiers représentent une source importante de ces AG fonctionnels, (Jenkins et al., 2015). Les AGCI dans l'alimentation étaient associés à une diminution du risque d'inflammation chronique, d'adiposité, de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2, de cancer du pancréas et de maladie pulmonaire obstructive chronique (Jiménez-Cepeda et al., 2019 ; Kurotani et al., 2017 ; Liu et al., 2019 ; Matejcic et al., 2018 ; Rocha et al., 2016 ; Venn-Watson et al., 2020 ; Zhu et al., 2018).

Malgré les valeurs plus faibles enregistrées pour les AGCI dans le fromage examinés, il demeure que les échantillons du *Jben* examinés avaient des niveaux adéquats en C15:0 et en C17:0, en particulier dans le FPV, qui avait un profil FA amélioré. Les AGCI sont des bons indicateurs de la fermentation ruminale car elles sont produites par les populations bactériennes ruminales, Rego et al. (2016) ont observé une diminution de la concentration d'AGCI dans les matières grasses du lait et par conséquent du fromage lorsque les animaux laitiers étaient nourris au pâturage, ce qui est cohérent avec les résultats que nous avons obtenus dans la présente étude.

Chapitre 3. Résultats et discussion

Concernant les acides gras insaturés (AGI), Le deuxième groupe d'AG en termes de contribution quantitative dans la matière grasse du lait est le groupe des AGMI. Aucune différence significative n'a été notée entre les deux types de fromages (FPV et FPA) (**Tab.4**). L'acide oléique (C18:1n-9) était l'acide le plus répandu dans la classe des AGMI dans tous les échantillons de fromage examinés dont la teneur dépassait largement la teneur des autres AGMI. les quantités significativement plus élevées de l'acide oléique ont été détectées dans différentes variétés de fromages (Gürsoy et al., 2021) (21.06-27.20%). Cependant, nos résultats sont élevés par rapport nombreux autres travaux dont Subasi et al. (2022) (22.87-25.66%), El-Salam et al. (2019) (23.73- 24.31%) et Buccioni et al. (2022) (19.1-19.5%).

La présence d'un certain nombre des AG monoinsaturés moins représentés (C14:1- C16:1- C17:1) suggèrent une forte activité initiale des désaturases d'acides gras bactériennes (Baracé et al., 2022). Ces enzymes catalysent la biosynthèse des acides gras monoinsaturés (AGMI) par conversion des liaisons simples (C-C) en doubles liaisons (C=C) dans la chaîne acyle. La conversion des AG saturés en AGMI est catalysée principalement par la stéaroyl-CoA désaturase-1 qui utilise principalement l'acide stéarique comme substrat mais peut également convertir d'autres AGS (Czumaj et Śledziński, 2020). A titre d'exemple, l'acide palmitoléique (C16: 1), qui est signalé comme indiquant le niveau de lipolyse et même comme provoquant des défauts de goût et d'arôme (El-Salam et al., 2019). AGMI est signalé comme un excellent coadjuvant protecteur contre les facteurs de risque du syndrome métabolique et des maladies cardiovasculaires (Sperry et al., 2018). D'autre part, il a été démontré que les AGMI ont des caractéristiques anticancéreuses et anti-athérosclérotiques, de sorte qu'ils peuvent être utilisés dans l'alimentation quotidienne (Hanuš et al., 2018).

En revanche, dans tous les échantillons de fromage (FPV et FPA), la proportion d'AGPI était la plus faible des autres groupes d'AG total. Pour prévenir certaines maladies (cancer, diabète et cardiovasculaires) et bénéficier à la santé humaine, des apports suffisants en AG n-6 et n-3 sont nécessaires (Holub et Holub, 2004; Simopoulos, 2008 ; Willett, 2007). Le seul AG n-6 trouvé dans les échantillons examinés, parmi les AGPI, était l'acide linoléique (C18:2 n-6). Les maladies inflammatoires, cancéreuses et cardiovasculaires ne sont que quelques-unes des maladies dont la pathogenèse est facilitée par une augmentation du rapport n-6/n-3 résultant d'un excès d'AGPI n-6 (Russo, 2009; Simopoulos, 2006).

Dans les fromages FPV et FPA, la teneur en acide linoléique variait légèrement mais d'une manière non significative (3,22 % et 3,07 %, respectivement) (**Tab.4**). Par rapport aux données précédentes, ces valeurs sont cohérentes avec celles révélées par Paszczyk et al.

Chapitre 3. Résultats et discussion

(2022) et par Duarte et al. (2022). L'acide linoléique est nécessaire à la production d'acide arachidonique, qui sert de précurseur à un large éventail de composés vitaux tels que les prostaglandines (essentiels dans l'inflammation, la contraction des muscles lisses et les caillots sanguins) et les leucotriènes (essentiels dans les maladies allergiques) dans le lait des ruminants (Calder, 2012). Cependant, Par rapport à d'autres rapports, des teneurs faibles en acide linoléique ont été déterminées dans différents travaux tels que celles révélées par Subasi et al. (2022), par El-Salam et al. (2019) et par Maniaci et al. (2021). Plusieurs facteurs tels que l'origine du lait cru, les variations saisonnières, les différences d'alimentation, les conditions de production et de maturation des produits laitiers peuvent principalement influencer la teneur en acide linoléique des produits laitiers (Sampelayo et al., 2007 ; Seçkin et al., 2005).

Selon les résultats de la présente étude, il semble que nos échantillons contenaient plus d'acides gras à chaîne moyenne (49.98-50 %) et à chaîne longue (44,36-44.52 %) et moins de AGCC (5,48-5.66 %) (**Tab.4**). La teneur en AGCC déterminée dans les fromages était similaire aux valeurs obtenues par Çetinkaya et Oz (2018) (5.35 %). Néanmoins, malgré leurs très faibles concentrations dans nos fromages, les AGCC sont généralement responsables de donner aux fromages leurs saveurs distinctives et jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la santé humaine comme cité précédemment (Martino et al., 2019; Nair et al., 2005). Concernant les AGCM, qui représentent la composante la plus répandue dans les fromages examinés, des résultats similaires ont été trouvés par Milićević et al. (2022) et Moneeb et al. (2019). Des valeurs similaires pour les AGLC ont été trouvées par Kalinova et al. (2019) (38-50 %).

En conclusion, Suzzi et al. (2015), Tofalo et al. (2015), Moneeb et al. (2019), Bodnar et al. (2021), Maniaci et al. (2021), Margalho et al. (2021), Torres et al. (2022) et Paszczyk et al. (2022), ont rapportés que l'origine du lait utilisé, le régime alimentaire et la saison de production, la maturation, la concentration en sel, la lipase du lait, les différentes étapes de transformation étaient responsables des variations de la teneur en AG entre les fromages et efficaces sur la formation d'acides gras libres dans les fromages. D'autre part, ces variations en AG peuvent être attribuée également à l'activité lipolytique résultant à la fois des micro-organismes starter et à la pâte de la présure ajoutée au lait pendant le processus de fabrication du fromage (Bezie et Regasa, 2019 ; Buccioni et al., 2022 ; Gutiérrez-Peña et al., 2021).

Chapitre 3. Résultats et discussion

5 Indices de qualité lipidique

La collecte d'informations sur les indices de qualité des lipides peut contribuer à une meilleure compréhension des effets nutritionnels et/ou sanitaires de la consommation de produits laitiers. L'athérogénicité (IA), la thrombogénicité (IT), le rapport des acides gras souhaitables (DFA), les rapports UFA/SFA, MUFA/SFA et PUFA/SFA ont été comparés entre les FPA et FPV dans la présente étude (**Tab.5**).

Tableau 5: Indices de qualité lipidique du fromage *Jben* préparé à base de la présure d'agneau et du coagulant végétal à base du *Cynara cardunculus*.

Indices	FPA	FPV
Indice d'athérogénicité (IA)	2.43	2.19
Indice de thrombogénicité (IT)	3.18	2.91
Acides gras hypocholestérolémiques (AGh)	47.49	49.4
Acides gras hypercholestérolémiques (AGH)	44.88	43.28
Rapport hypocholestérolémique/hypercholestérolémique (h/H)	0.68	0.72
Rapport acides gras mono-insaturés/acides gras saturés (AGMI/AGS)	0.45	0.50
Rapport acides gras polyinsaturés/acides gras saturés (AGPI/AGS)	0.048	0.047
Rapport acides gras insaturés/acides gras saturés (AGI/AGS)	0.51	0.55

En ce qui concerne nos résultats, les types de fromage (FPA et FPV) n'ont pas montré d'impact significatif sur les indices IA ou IT, car ces derniers étaient pratiquement les mêmes dans les échantillons de fromages examinés. La capacité à induire l'agrégation plaquettaire est évaluée par les indices IA et IT. L'IT définit les AGPI (n-6 et n-3) et les AGMI comme antithrombogènes, et les AGS (en particulier les acides myristique, palmitique et stéarique) comme thrombogènes (Ulbricht et Southgate, 1991). Des faibles niveaux de ces indices sont connus pour être utiles dans la prévention des maladies des vaisseaux sanguins.

Dans la présente étude, les niveaux d'IA et d'IT dans tous les échantillons de fromage variaient de 2,19 à 2,43 et de 2,91 à 3,18 pour FPV et FPA, respectivement. Selon nombreux auteurs, il n'y a pas de valeurs recommandées pour les indices IT et IA (Chen et Liu, 2020). En l'absence d'étude équivalente sur des fromages traditionnels bovins frais dans la littérature, nos observations ont été comparées à d'autres études réalisées sur d'autres variétés de fromages. Dans notre travail, concernant l' IA ses niveaux sont cohérents avec ceux révélés par Barac et al. (2018) (1.89-3.09%), par Gutiérrez-Peña et al. (2021) (2.52%), par Đurović et al. (2022) (2.28-2.59%), et par Margalho et al. (2021) (1.4-3%). Les valeurs d 'IT dans le

Chapitre 3. Résultats et discussion

présent essai étaient en accord avec les rapports obtenus par Margalho et al. (2021) (2 -3.3%), par Đurović et al. (2022) (2.28 -3.31%), par Maniaci et al. (2021) (2.67 -3.42%) et par Paszczyk et al. (2022) (1.83 -3.87%). Cependant, nos résultats sont différents par rapport à d'autres travaux dont révélés par Abbas et al. (2021) et par Barać et al. (2022).

D'autre part, des niveaux plus élevés du rapport h/H ont été notés comme plus sains et pour prévenir certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires. Les valeurs des rapports H/h obtenues pour les deux fromages étaient respectivement de 0,68 et 0,72, ce qui correspond à celles trouvées dans d'autres études (Paszczyk et Łuczyńska, 2020; Santos-Silva et al., 2002). En plus, la concordance citée précédemment, les teneurs que nous avons trouvées sont supérieures par rapport à de nombreuses études (Bodnar et al., 2021; Paszczyk et al., 2022), ce qui est favorable pour la santé.

De plus, les résultats de notre recherche indiquent que la FPV contient les acides gras hypercholestérolémiques (AGH) les moins indésirables et les acides gras hypocholestérolémiques (AGh) les plus bénéfiques. Les valeurs d'AGh dans la présente étude sont en accord avec celles de Barać et al. (2018). Le rapport AGI/AGS était légèrement différent dans les échantillons de fromages analysés (FPV et FPA), ces résultats variaient entre 0,51 et 0,55, respectivement. Ces valeurs sont proches de celles citées par Paszczyk et al. (2022) (0,52) et par Barać et al. (2018) pour les fromages de vache traditionnels serbes *Sjenica* (0,51).

Afin de prévenir les problèmes de santé des consommateurs, l'indicateur le plus utilisé pour évaluer la qualité nutritionnelle des aliments, y compris le fromage, est le rapport AGPI/AGS. Un rapport AGPI/AGS plus élevé est directement lié à une valeur plus élevée d'AGPI, qui a une incidence bénéfique sur la santé humaine, car ils abaissent le taux de cholestérol sanguin, ce qui empêche certaines maladies contemporaines telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires (Michikawa, 2003; Wood et al., 2004). Les valeurs du rapport AGPI/AGS rapportées dans la présente étude (0,047 pour FPA et 0,048 pour FPV) étaient très faibles aux niveaux recommandés (supérieurs à 0,45) pour la consommation humaine. En comparaison avec les données de la littérature, nos résultats étaient similaires à ceux dévoilés par Abbas et al. (2021), Zabek et al. (2021) et par Paszczyk et al. (2022). Le rapport AGMI/AGS était plus élevé pour FPV (0,50) que pour FPA (0,45), et ces résultats sont cohérents avec ceux trouvés par Maniaci et al. (2021) et par Paszczyk et al. (2022).

Chapitre 3. Résultats et discussion

6 La protéolyse

La protéolyse primaire du fromage implique l'hydrolyse des caséines, qui sont principalement catalysées par le coagulant résiduel et, dans une moindre mesure, par la plasmine, entraînant la formation de peptides de grande taille et de taille intermédiaire qui sont ensuite dégradés par les enzymes de la flore starter et non starter du fromage. La production de petits peptides et d'acides aminés libres résulte de l'action des protéinases et peptidases bactériennes. Ce qui contribue par la suite au développement dans la texture et l'arôme du produit fini (Fox, 1989 ; McSweeney, 2004 ; Rako et al., 2019).

La protéolyse primaire dans le fromage peut être définie comme les modifications des caséines (CN) et des peptides détectés par les méthodes électrophorétiques (Fox, 1989). Les résultats du profil électrophorétique sur gel d'urée-polyacrylamide (Urée-PAGE) au jour 1 après la fabrication de la fraction insoluble à pH 4,6 d'échantillons de fromage frais fabriqués avec le coagulant végétal (FPV) et de la présure animale (FPA) sont illustrés dans la figure 9.

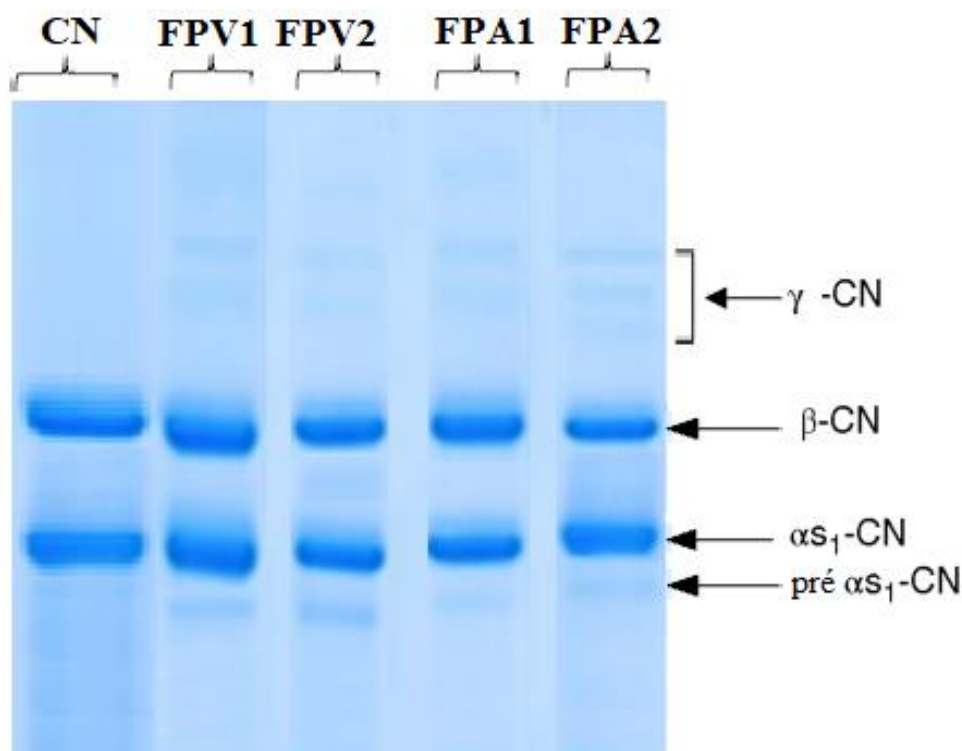


Figure 9. Électrophorèse sur gel d'urée-polyacrylamide de la fraction insoluble à pH 4,6 d'échantillons du fromage frais à la présure animale (FPA) et au coagulant végétal (*Cynara cardunculus*). CN : Caséine bovine de référence. γ -CN (γ -caséine, produits de la dégradation de la β -caséine), β -CN (β -caséine), α ₁-CN (α ₁-caséine), et pré α ₁-CN (pré α ₁-caséine, produits de la dégradation de la α ₁-caséine).

Le résultat du gel obtenu montre les principales bandes des fractions protéiques à faible mobilité électrophorétique, qui correspond à la caséine γ , à la caséine β et à l' α -caséine

Chapitre 3. Résultats et discussion

tandis que celui à mobilité plus élevée était la pré α -caséine. L'intensité de la coloration dans chaque bande reflète la quantité de chaque protéine ou peptide présente dans le fromage (Pappa et al., 2022). L'hydrolyse de la β -caséine dans tous les fromages a été indiquée par la diminution de l'intensité de cette bande et la formation de γ -caséines ; La β -CN est hydrolysé par la plasmine et produit le β -CN ; γ 1-CN (f29-209), le β -CN ; γ 2-CN (f106-209) et le β -CN ; γ 3-CN (f108-209) (**Fig.9**), qui sont les principaux produits de dégradation de la β -caséine par la plasmine (Farrell Jr et al., 2004 ; Sousa et al., 2001 ; Trujillo et al., 2002).

Cette hydrolyse est relativement faible (β -caséine), même si des bandes de γ -CN (de faible intensité) étaient présentes au premier jour de production à des intensités dépendant du traitement du fromage (par la présure animale et du coagulant végétal). Cette faible dégradation de la caséine β peut être attribuée au pH bas (le pH de nos fromages était compris entre 5,21 et 6,19), ce qui est considérablement inférieur au pH optimal pour l'activité plasmine (pH 7,5), nombreux chercheurs ont rapportés, que des niveaux élevés de sel et/ou de faibles pH sont les principaux facteurs de la faible dégradation de la caséine β dans leurs fromages (Candioti et al., 2010; Hayaloglu et al., 2008; Moatsou et al., 2004; Vassiliadis et al., 2009). En conséquence, des interactions hydrophobes se produisent dans la chaîne de caséine β qui entraînent son agrégation et masquent plusieurs liaisons peptidiques sensibles à l'action des enzymes (Gorostiza et al., 2004). D'autre part, la faible concentration en NaCl du fromage favorise l'hydrolyse de la β -caséine notamment par la plasmine (Alichanidis et al., 1984). La mobilité anodique plus faible des bandes γ -CN peut être due à la libération de la région N-terminale phosphorylée chargée négativement de β -CN (puisque la γ -caséine est considérée comme un fragment C-terminal de la β -caséine qui est libéré par l'activité de la plasmine) (Caballero Villalobos, 2016).

D'autre part, La concentration de γ -CN était élevée dans les fromages fabriqués avec la présure animale, peut-être parce que dans les fromages à base de coagulant végétal, les protéases de *Cynara Cardunculus* (cardosines) hydrolysaient ces fractions ou inhibaient peut-être l'action de la plasmine. Tejada et al. (2008) ont rapporté des résultats similaires et mentionnés les mêmes justifications dans le fromage Murcia al Vino fabriqué avec deux coagulants (végétal et animal). Sur la base de ces informations, Le type de coagulant utilisé dans la fabrication du fromage *Jben* a affecté les concentrations de β -CN, ainsi que la concentration de leurs produits de dégradation, γ -CN. En général, différents niveaux d'hydrolyse de la caséine β ont été rapportés pour différents types de fromages. Ceci est principalement attribué au type et à l'origine du coagulant utilisé et à l'activité de la plasmine

Chapitre 3. Résultats et discussion

(Candiotti et al., 2010). Par conséquent, la faible dégradation de la caséine β dans les échantillons de fromage peut être attribuée à ces conditions.

Les profils protéiques au premier jour après la fabrication (**fig.9**) montrent que l'hydrolyse de la caséine $\alpha 1$ était triviale dans tous fromages (FPA et FPV) avec des niveaux accrus de pré- $\alpha 1$ -caséines ($\alpha 1$ -I) dans le fromages à base de coagulant végétal par rapport aux fromages fabriqués à base de présure animale où les fromages fabriqués avec de coagulant végétal ont la mobilité électrophorétique la plus élevée dans la région des produits de dégradation de la caséine pré- α , ce qui est cohérent avec les travaux de García et al. (2012) et Tejada et al. (2008) qui ont décelés que les fromages fabriqués avec le coagulant végétal ont un taux de protéolyse (d' $\alpha 1$ -caséine) plus élevé par rapport aux fromages fabriqués avec de la présure animale.

McSweeney et al. (1993) et Fox et McSweeney (1996) ont également observé l'augmentation remarquable de la caséine $\alpha 1$ -I (f 24-199) au début et diminuée plus tard avec le temps de maturation. Ce comportement peut s'expliquer en tenant compte du fait que la caséine $\alpha 1$ -I est le fragment (f24–199) de la caséine $\alpha 1$ formé par le clivage initial par la présure. La production de caséine $\alpha 1$ (f 24-199) indique la survie de certaines présures, Gagnaire et al. (2001) et Mayer (1996) ont rapporté que la caséine $\alpha 1$ -I est le principal produit de dégradation, continue d'augmenter pendant la maturation et est ensuite hydrolysée pour donner différents peptides qui disparaissent pratiquement dans le produit fini. Les résultats présentés dans la figure 9 concordent aussi avec ceux publiés par Roseiro et al. (2003) et Sousa et al. (2001) qui ont trouvé dans des études comparatives que la dégradation des caséines par des enzymes extraites de *Cynara cardunculus* et par la chymosine dans les mêmes conditions, que les protéases végétales hydrolysaient davantage les liaisons $\alpha 1$ -peptide qu'avec la chymosine.

D'autre part, Les différences observées entre les bandes de chacun des agents comparés (**Fig.9**) étaient attendues et concordent avec les conclusions de Lawrence et al. (1987) et Tejada et al. (2008), qui ont suggéré que ces différences se produisent parce que les points de rupture sur les molécules de caséine sont spécifiques à chaque type de coagulant, et ont rapportés aussi que les fromages fabriqués avec des coagulants végétaux ont montré la mobilité électrophorétique la plus élevée dans la région des produits de dégradation de la caséine pré- α . Cela suggère que ce type du coagulants contenant dans les fleurs de chardon contient des protéases avec un large spectre d'hydrolyse de caséines avec une action spécifique sur les caséines- $\alpha 1$ que ceux obtenu avec la présure animale (Tejada et al., 2008).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Comme mentionné précédemment, les fromages frais dans cette étude présentaient une protéolyse minime, notamment fabriqués par la présure animale (**Fig.9**). D'autre part, la courte période de maturation et la faible implication des bactéries lactiques dans la dégradation des protéines dans la protéolyse primaire peuvent être les raisons les plus importantes du niveau insignifiant de protéolyse trouvé dans nos échantillons de fromages (FPA et FPV), notamment pour la β -caséine (Franco et al., 2001).

7 Analyses microbiologiques

Tableau 6: Résultats microbiologiques de l'évaluation de la qualité microbienne des fromages traditionnels frais (FPA et FPV).

Microbes	Moyenne	Écart type	Min	Max	N	Valeur-P
FTAM (log ufc g⁻¹)						
FPA	6.52	0.69	5.26	6.90	9	0.010
FPV	5.53	0.75	4.30	6.07	9	
CT (log ufc g⁻¹)						
FPA	3.76	1.43	1.60	6.20	9	0.613
FPV	4.10	1.83	2.50	6.80	9	
CF (log ufc g⁻¹)						
FPA	2.59	0.84	1.25	4.07	9	0.405
FPV	3.01	1.23	50	5.10	9	
SCP (log ufc g⁻¹)						
FPA	2.38	1.77	0.00	5.30	9	0.707
FPV	2.08	1.54	0.00	4.5.0	9	
LM (log ufc g⁻¹)						
FPA	3.41	0.88	1.90	4.83	9	0.698
FPV	3.60	1.16	2.23	9.90	9	
BL (log ufc g⁻¹)						
FPA	8.58	0.56	7.68	9.32	9	0.004
FPV	7.51	0.75	5.94	8.17	9	

Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), Salmonella, des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL). P < 0,05 ; **P < 0,01 ; ***P < 0,001.

Chapitre 3. Résultats et discussion

7.1 Flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Les valeurs moyennes (log ufc g⁻¹ de fromage) et les écarts-types de principaux groupes microbiens déterminés dans les fromages (FPV et FPA), fabriqués avec du coagulant végétal de *Cynara cardunculus* ou de la présure animale, sont illustrés dans le tableau 6. Statistiquement, L'ANOVA testant la variation des teneurs en FTAM, a montré que ces valeurs différaient très significativement ($p < 0,05$) entre les deux types de fromage analysés (FPA et FPV). Le nombre de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) dans les fromages analysés (FPV et FPA) était compris entre $5,53 \pm 0,75$ et $6,52 \pm 0,69$ log ufc g⁻¹, respectivement (**Tab.6**). Ces valeurs étaient plus élevées dans les fromages produits à partir de la présure animale par rapport aux fromages à base du coagulant végétal. Cette différence pourrait être due principalement au type du coagulant utilisé, notamment la présure animale traditionnel sous sa forme de pâte qui se caractérise par des charges microbiennes élevées par rapport au coagulant brut d'origine végétale (Cruciata et al., 2014; Murgia et al., 2019). Des conclusions similaires ont été rapportées par Islam et al. (2021) et par Tejada et Fernandez-Salguero (2003) sur des fromages frais fabriqués à base de coagulant animal et végétal. Diverses études ont montré que l'utilisation d'extraits aqueux obtenus par macération de fleurs de chardon augmente le taux microbien initial du lait et, par conséquent, du caillé (Fernández-Salguero et Sanjuán, 1999; Vioque et al., 2000). D'autre part, Selon de nombreux travaux, la présure traditionnelle animale se caractérise par une diversité microbienne considérable ce qui contribue à cette variété de la flore (Cruciata et al., 2014).

Nos résultats de dénombrement des FTAM corroborent ceux trouvés par Benyagoub et al. (2016) avec le même type de fromage ($2,88 \cdot 10^6$ ufc g⁻¹), Hassan et Aita (2011) ($2,12 \cdot 10^6$ ufc g⁻¹), Tejada et Fernandez-Salguero (2003) ($5,50$ log ufc g⁻¹) pour le fromage de brebis à base de fleurs de *Cynara cardunculus* comme coagulant. Cependant, nos valeurs sont inférieurs à celles trouvées par El Marnissi et al. (2013) pour le *Jben* Marocain ($7 \cdot 10^6$ ufc g⁻¹) et par Mourad et al. (2015) ($5,92 \cdot 10^6$ ufc g⁻¹) pour le *Jben* Algérien. La variabilité du nombre FTAM peut être le résultat de mauvaises pratiques de fabrication par les manipulateurs. D'autre part, le type et l'origine de coagulant utilisé, l'utilisation du lait non pasteurisé et l'eau utilisée peuvent également contribuer à la charge bactérienne (James et al., 2016; Laba et al., 2015).

Chapitre 3. Résultats et discussion

7.2 Coliformes totaux et fécaux

Les coliformes sont fréquemment utilisés pour prédire les conditions d'hygiène dans lesquelles les produits laitiers sont fabriqués. Les résultats de la présente étude indiquent que le nombre des coliformes totaux (**Tab.6**) n'a pas dépassé $4,10 \log \text{cfu g}^{-1}$, c'est la valeur la plus élevée enregistrée après 1 jour de fabrication pour les échantillons de FPV, alors que sa valeur pour les échantillons de FPA était $3,76 \log \text{cfu g}^{-1}$. Il n'y a eu aucun effet significatif sur les niveaux de coliformes totaux obtenus dans les échantillons de fromage analysé selon le type du coagulant utilisé.

La différence entre les deux types de fromages peut être attribuée à la diminution du pH due à l'activité fermentaire du lactose des bactéries lactiques ainsi qu'à leurs composés antimicrobiens (bactériocines, acides organiques et l'eau oxygénée). D'autre part, la qualité microbiologique de la présure d'agneau préparée artisanalement peut affecter la qualité microbiologique des fromages examinés, ce qui est cohérent avec les résultats de nombreuses études (Etayo et al., 2006 ; Moatsou et al., 2004).

L'analyse de nos résultats nous a permis de constater que le nombre des coliformes totaux dans le fromage traditionnel (*Jben*) étaient supérieurs aux limites données par la Commission Européenne (2007). Il n'est pas surprenant d'obtenir des comptes microbiologiques élevés dans le fromage avec des méthodes de fabrication artisanales grâce à l'utilisation de lait non pasteurisé (Kirdar et Kursun, 2011). Les résultats obtenus dans cette étude se rapprochent de ceux rapportés par Mourad et al. (2015) ($1,04 \cdot 10^4 \text{ufc g}^{-1}$) pour le *Jben* Algérien, par Benyahia-Krid et al. (2016) pour le *Jben* Algérien ($1,4 \cdot 10^4 \text{ufc g}^{-1}$) et par Saidane et al. (2021) pour le *Jben Elgafs* Algérien ($4,13 \log \text{ufc g}^{-1}$).

Plusieurs études antérieures ont rapporté que la pasteurisation, le pH, l'activité de l'eau, le type de lait et le type de croûte étaient associés de manière significative à la détection de coliformes dans le fromage. Par exemple, une prévalence plus élevée de coliformes a été détectée dans les fromages au lait cru (42 % avec $> 10 \text{ufc g}^{-1}$) que dans le fromage produit avec du lait pasteurisé (21 %) (Trmčić et al., 2016). D'autre part, les données de nombreux chercheurs révèlent à quel point les pratiques de fabrication insalubres lors de la production et de la manipulation du fromage au lait cru peuvent compromettre la qualité microbiologique du produit, situation qui a été signalée dans les pays développés et en développement (Hammad et al., 2022).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Quant aux coliformes fécaux (CF) qui appartiennent à un groupe important de micro-organismes indicateurs de qualité sanitaire dans les aliments, La charge de contamination par les CF était comprise entre $2,59 \pm 0,84$ et $3,01 \pm 1,23 \log \text{ ufc g}^{-1}$ dans les échantillons du FPA et FPV, respectivement (**Tab.6**), où la contamination d'origine fécale est légèrement importante dans les échantillons de FPV par rapport le FPA. La contamination du fromage par cette flore peut survenir lors des différentes étapes de fabrication traditionnelle (conditions souvent insalubres), en plus, la mauvaise pratique durant l'élimination des matières fécales des mamelles avant la traite (Pacheco et Galindo, 2010).

Selon les résultats obtenus, dans cette recherche, nos valeurs étaient inférieures à celles trouvées par El Marnissi et al. (2013) ($5,6 \cdot 10^4 \text{ ufc g}^{-1}$) et par Mennane et al. (2007) ($8,2 \cdot 10^4 \text{ ufc g}^{-1}$) dans le *Jben* Marocain à base de la présure animale et du coagulant végétal, respectivement. D'autre part nos résultats sont supérieurs à ceux dévoilés par (Tadjine et al., 2020) ($1,56 \pm 2,17 \log \text{ ufc g}^{-1}$) pour le fromage *Jben* d'origine caprine. Cette variabilité dans le nombre des CF peut être la conséquence d'une propagation massive de la flore fécale initialement présente dans la matière première utilisée pour la préparation du fromage. Une contamination supplémentaire du fromage par cette flore peut survenir en raison des conditions souvent insalubres lors de la fabrication du fromage (El Marnissi et al., 2013; Hammad et al., 2022).

En conclusion, la présence des coliformes dans les aliments est considérée comme un indicateur de conditions d'hygiène inadéquates lors de la traite et de la fabrication, au stockage non réfrigéré, au transport ainsi qu'à un faible taux de production d'acide pendant la fermentation du lait (Ordiales et al., 2013 ; Piras et al., 2013 ; Wullschleger et al., 2013).

7.3 Staphylocoques à coagulase positive et *Salmonella spp*

Comme le montre le tableau 6, Le nombre des staphylocoques à coagulase positive qui incluent *Staphylococcus aureus*, sont considérés comme des marqueurs d'hygiène (Commission Européenne, 2005) dans les deux types de fromages (FPV et FPA) variait entre $2,08$ et $2,38 \log \text{ ufc g}^{-1}$, respectivement. Les teneurs en SCP n'ont pas été affectées de manière significative par le type de coagulant utilisé ($P > 0,05$), dans les différentes variétés de fromages examinés. Sur la base des normes établies par la Commission Européenne (2007), le nombre maximum toléré de staphylocoques à coagulase positive dans le fromage au lait cru est de 10^5 ufc g^{-1} , ce qui cohérent à nos résultats. Selon les résultats obtenus, parmi les échantillons analysés, 78% étaient contaminés par staphylocoques à coagulase positive et

Chapitre 3. Résultats et discussion

dans 5,6% de ces échantillons, le nombre d'ufc était légèrement supérieur aux limites tolérées par la Commission européenne.

La différence entre les deux types de fromage peut être due à l'inhibition des staphylocoques à coagulase positive par les bactéries lactiques par production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et la production de substances antimicrobiennes, ce qui cohérait avec l'utilisation de la présure produite artisanalement qui contient des niveaux élevés de micro-organismes antagonistes notamment les bactéries lactiques (Wong-Villarreal et al., 2021). Les valeurs que nous avons obtenues sont en accord avec celles obtenues par Morar et al. (2021) ($2,37 \log \text{ ufc g}^{-1}$), par Savić Radovanović et al. (2020) ($1-5,79 \log \text{ ufc g}^{-1}$). Cependant, nos résultats sont très faibles à ceux révélés par Ibrahim et al. (2015) ($5,7 \log \text{ ufc g}^{-1}$), par Kheir et al. (2011) ($1,3-8,1.10^7 \text{ ufc g}^{-1}$) sur le fromage (*Gibna bayda*) frais à base de différents coagulants d'origine animale et végétale, par Mirzaei (2011) ($5,45 \pm 0,24 \log \text{ ufc g}^{-1}$), par Viçosa et al. (2010) ($4,58 \pm 0,66 \log \text{ ufc g}^{-1}$) et par Mennane et al. (2007) ($2,10^3 \text{ ufc g}^{-1}$) pour le fromage *Jben* à base de coagulant végétal.

Conformément au règlement européen n°2073/2005, les comptes staphylocoques à coagulase positive supérieurs à $4 \log \text{ ufc g}^{-1}$ montrent la nécessité d'appliquer des mesures correctives en matière d'hygiène des processus de collecte du lait, de fabrication du fromage et de la sélection des matières premières. Des valeurs supérieures ou égales à $5 \log \text{ ufc g}^{-1}$ conduisent à étudier la présence de toxine staphylococcique dans les fromages, car thermostable, elle peut persister même lorsque les staphylocoques sont morts. Globalement, si les concentrations de staphylocoques à coagulase positive détectées dans les échantillons sont supérieures à 10^5 ufc g^{-1} , les lots pourraient être testés pour les entérotoxines staphylococciques, qui pourraient ne pas être détectées dans des échantillons de fromage de 25 g (un nanogramme de toxine par gramme de fromage) peut provoquer un risque pour la santé publique des consommateurs (Fox et al., 2017).

La présence de staphylocoques à coagulase positive dans le fromage reflète les faibles mesures de contrôle appliquées pendant le processus de fabrication du fromage par les producteurs, y compris la manipulation du caillé sans gants, masque facial, contamination du lait cru utilisé dans la fabrication du fromage. En outre, l'exposition directe et sans restriction des assortiments à l'environnement (l'air, la poussière, les surfaces en contact avec les aliments) pourraient grandement contribuer à l'augmentation de la quantité CPS dans le produit final (Bulajic et al., 2017 ; Rola et al., 2016 ; Salem et al., 2016).

Chapitre 3. Résultats et discussion

D'autre part, les *Salmonella spp*, agents pathogènes considérés comme marqueurs de santé (Commission Européenne, 2005), étaient absentes dans tous les échantillons analysés (Tab.6). De nombreuses épidémies de salmonellose liées à la consommation de fromages ont été signalées dans le monde ces dernières années (Possas et al., 2021; Robinson et al., 2020), ce qui prouve que *Salmonella* est également un pathogène préoccupant dans ces matrices alimentaires. Selon la Commission Européenne (2005), le critère actuel pour *Salmonella spp* dans les fromages est « l'absence (non détection) du pathogène dans 25 g de produit » pour les produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation. Des résultats similaires ont été obtenus par nombreux chercheurs sur le même type de fromage (Benhaddi et Hellal, 2019 ; Benyagoub et al., 2016 ; Mourad et al., 2015).

7.4 Levures et moisissures

La présence de levures et de moisissures (LM) dans les fromages frais est très courante et ce sont parmi les micro-organismes les plus nombreux du fromage frais. La fermentation de ces fromages s'effectue à température ambiante, ce qui est également propice au développement de levures et de moisissures. En plus, les levures et les moisissures se développent à un pH inférieur à celui trouvé dans le fromage frais (Kirin, 2009).

La tendance de croissance des levures et des moisissures dans les fromages fabriqués avec de la présure animale ou du coagulant végétal qui sont présents dans 100 % des échantillons à des concentrations de 3,41 à 3,60 log ufc g⁻¹, est illustrée au tableau 6, bien que la plus grande croissance observée ait été dans le FPV (3,60 log ufc g⁻¹). En effet, les quantités des LM n'ont pas été affectées significativement par le type de coagulant ($P > 0,05$).

Nos résultats étaient supérieurs aux limites des normes législatives européennes pour les fromages fabriqués à partir de lait cru (Gil et al., 2007). Cela pourrait être dû aux mesures sanitaires adoptées lors de la traite, du transport, du stockage et de la transformation de la production de fromage (Awad, 2016). Les données que nous avons obtenues dans cette étude se situent dans la fourchette de résultats révélés par Abebe et Emire (2020) ($2,10^2$ - 10^4 ufc g⁻¹) pour un fromage frais à base de coagulant végétal, également par Saidane et al. (2021) (3,83 log ufc g⁻¹) pour le fromage *Jben Elgaf* et par Rhiat et al. (2011) ($0,6 \cdot 10^4$ ufc g⁻¹). Cependant, nos résultats sont différents par rapport à ceux trouvés par Tadjine et al. (2020) ($5,24 \pm 5,90$ log ufc g⁻¹) pour le fromage bovin *Jben* et par Benkerroum et Tamime (2004) où La population de levures et de moisissures dépassait 10^6 ufc.g⁻¹ dans le *Jben* marocain.

Chapitre 3. Résultats et discussion

La contamination par les levures et les moisissures peuvent être considérées comme des agents d'altération du fromage. Ces micro-organismes entraînent non seulement des pertes économiques et réduisent considérablement la durée de conservation du produit, mais ils peuvent également présenter un risque pour la santé, en particulier les moisissures qui ont la capacité de produire des mycotoxines, alors que des niveaux plus élevés en levures peuvent provoquer plusieurs altérations organoleptiques telles qu'une viscosité ou un aspect visqueux, une décoloration et une forte odeur d'alcool (Bintsis, 2021; Geronikou et al., 2020; Smits et Brul, 2005).

7.5 Bactéries lactiques

D'après les résultats obtenus (**Tab.6**), les niveaux des bactéries lactiques (BL) semblent être le groupe microbien prédominant dans tous les échantillons du fromage examinés. En effet, sa valeur dans les échantillons du FPA est 8.58 log ufc. g⁻¹ alors que dans le FPV est diminué d'environ 1 log (7,51 log ufc.g⁻¹). L'analyse de variance a identifié l'effet très significatif ($p < 0,01$) du coagulant (agneau et végétal) sur le nombre des bactéries lactiques dans le fromage traditionnel (FPA et FPV).

Selon de nombreux travaux, les variations des résultats enregistrés peuvent être liées principalement au type de coagulant utilisé notamment la présure traditionnelle animale qui se caractérise par une diversité microbienne considérable dont il a été récemment démontré qu'ils contribuent à la biodiversité des bactéries lactiques qui présentent des caractères technologiques utiles en fabrication fromagère (Cruciata et al., 2014). Des conclusions similaires ont été tirées sur des fromages fabriqués à base de coagulant animal et végétal (Kheir et al., 2011; Tejada et Fernandez-Salguero, 2003).

Selon la littérature, ce type de flore représente le principal groupe microbien du fromage, faisant partie de sa microflore naturelle, avec d'autres bactéries, levures et/ou moisissures (Beresford et al., 2001). Les résultats que nous avons obtenus dans cette étude sont cohérents avec ceux révélés par Tejada et Fernandez-Salguero (2003), par Ouadghiri et al. (2005) (2.10^8 - 3.10^9 ufc. g⁻¹), par Mureşan et al. (2021) ($0,55.10^8$ ufc.g⁻¹) par Benkirane et al. (2022) (10^8 - 10^9 ufc.g⁻¹) pour le *Jben* marocain et par Martín et al. (2022) (8,14 log ufc. g⁻¹). Cependant, nos valeurs sont différentes par rapport aux résultats d'autres études sur le même fromage dont celles trouvées par El Marnissi et al. (2013) ($3,210^5$ ufc. g⁻¹).

D'après de nombreuses études, La différence dans le nombre des bactéries lactiques dans les différentes variétés de fromage est due à de nombreux facteurs ; le type de lait utilisé

Chapitre 3. Résultats et discussion

dans la fabrication du fromage, traitement de lait (cru ou pasteurisé), type et origine du coagulant utilisé, type de fromage désiré (frais ou affiné), les conditions de stockage (stockage à température ambiante pourraient augmenter la perte d'humidité, ce qui modifierait le rapport humidité/sel, ce qui serait inhibiteur pour les bactéries lactiques) et les souches de BL ajoutées comme starters (Awad, 2016; Biolcati et al., 2019; Cruciata et al., 2014; Fox et al., 2017; Martín et al., 2022; Medeiros et al., 2016; Pappa et al., 2022).

8 Interrelations entre les groupes microbiens du fromage

Le microbiote des fromages au lait cru est assez complexe en raison des processus de fabrication du fromage, des procédures d'affinage et de la composition. Les souches et les types de micro-organismes non starter présents dans le fromage (bactéries coliformes, *Staphylococcus aureus*, levures, moisissures et *Salmonella*) dépendent de leur nombre initial dans le lait frais (en particulier lorsqu'il est fabriqué avec du lait non pasteurisé), contamination ultérieure, et capacité de survie et compétition des souches dans l'environnement du fromage (disponibilité des nutriments, sel, activité de l'eau, pH, acidité, température) (Johnson, 2001). En général, la plupart des aliments y compris les fromages fournissent suffisamment de nutriments pour soutenir la croissance d'une grande variété d'agents pathogènes d'origine alimentaire (Food et Administration, 2001). Aujourd'hui, la plupart des interactions identifiées dans les fromages sont liées aux bactéries lactiques du fait de la connaissance de leur physiologie et des récentes publications de séquences génomiques de plusieurs espèces de bactéries lactiques (Siewverts et al., 2008).

Les coefficients de corrélation ont été calculés entre les abondances relatives des genres bactériens (BL, CF, CT, FTAM, SCP), levures et moisissures les plus abondants dans les fromages (FPA et FPV) sont présentés sous forme de corrélogramme de Pearson. La répartition des micro-organismes dans le fromage frais (FPA) est présentée dans la figure 10 et les valeurs-p dans le tableau 7, montre des corrélations positives et négatives entre les groupes microbiens étudiés.

Chapitre 3. Résultats et discussion

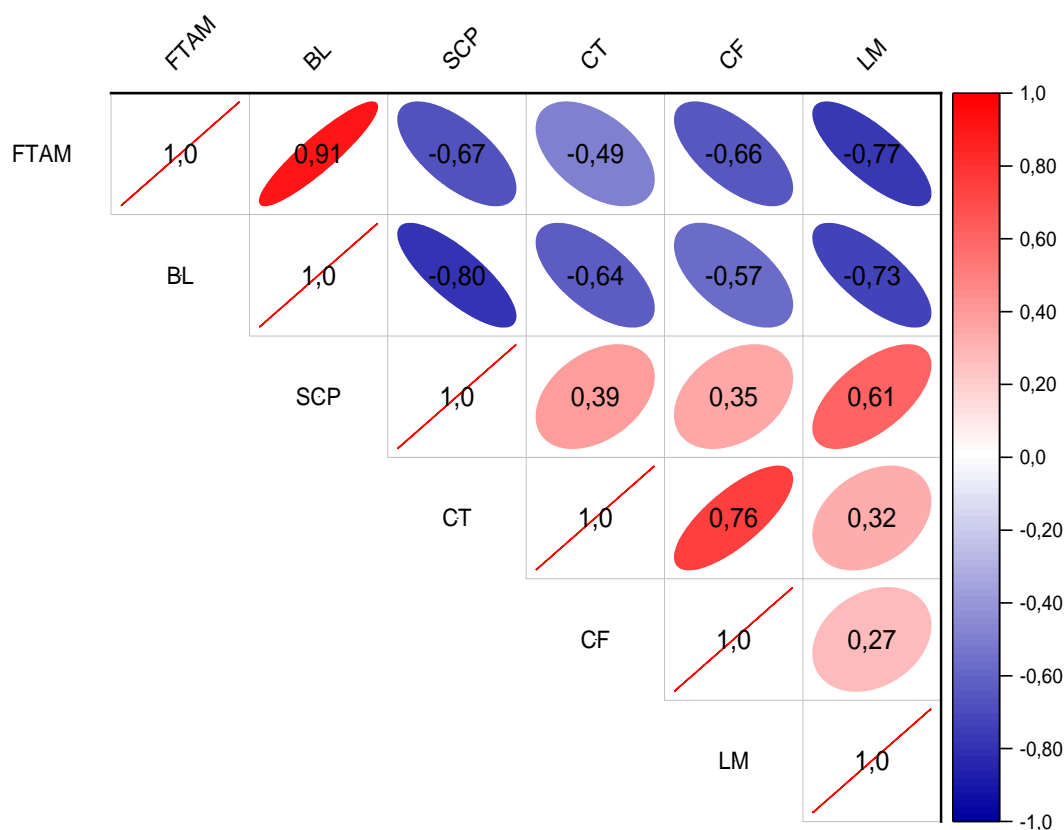


Figure 10. La matrice de corrélation représentant la distribution des micro-organismes dans les échantillons le fromage traditionnel (FPA).

Tableau 7: Les valeurs-p entre les micro-organismes pour le fromage à base de la présure animale (FPA). La corrélation est significative au niveau 0,05.

Valeurs-p (FPA)	FTAM	BL	SCP	CT	CF	ML
FTAM						
BL	0.001					
SCP	0.050	0.010				
CT	0.179	0.066	0.304			
CF	0.054	0.107	0.350	0.018		
ML	0.015	0.025	0.080	0.395	0.484	

Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL).

La corrélation positive la plus élevée dans le FPA a été observée entre la présence des bactéries lactiques et les FTAM ($r = 0,91$) (**Fig.10, Tab.7**), la même corrélation a été enregistrée dans le FPV ce qui signifie que la plupart des bactéries dénombrées (FTAM) dans

Chapitre 3. Résultats et discussion

les deux types de fromage étaient des bactéries lactiques (Hussein et Isa, 2021). Alors que, La corrélation négative la plus élevée et très significative a été enregistrée entre les bactéries lactiques et les coliformes totaux dans le FPV ($r = -0,86$) (**Fig.11, Tab.8**), tandis que, sa valeur dans le FPA se diminue ($r = -0,64$). Des résultats similaires ont été obtenus par Sebbane et al. (2021). Le nombre de bactéries coliformes était réduit, ce qui était probablement dû aux conditions défavorables créées par la population croissante de bactéries lactiques et la diminution du pH (Dolci et al., 2010 ; Litopoulou-Tzanetaki et Tzanetakis, 2011 ; Pyz-Łukasik et al., 2018).

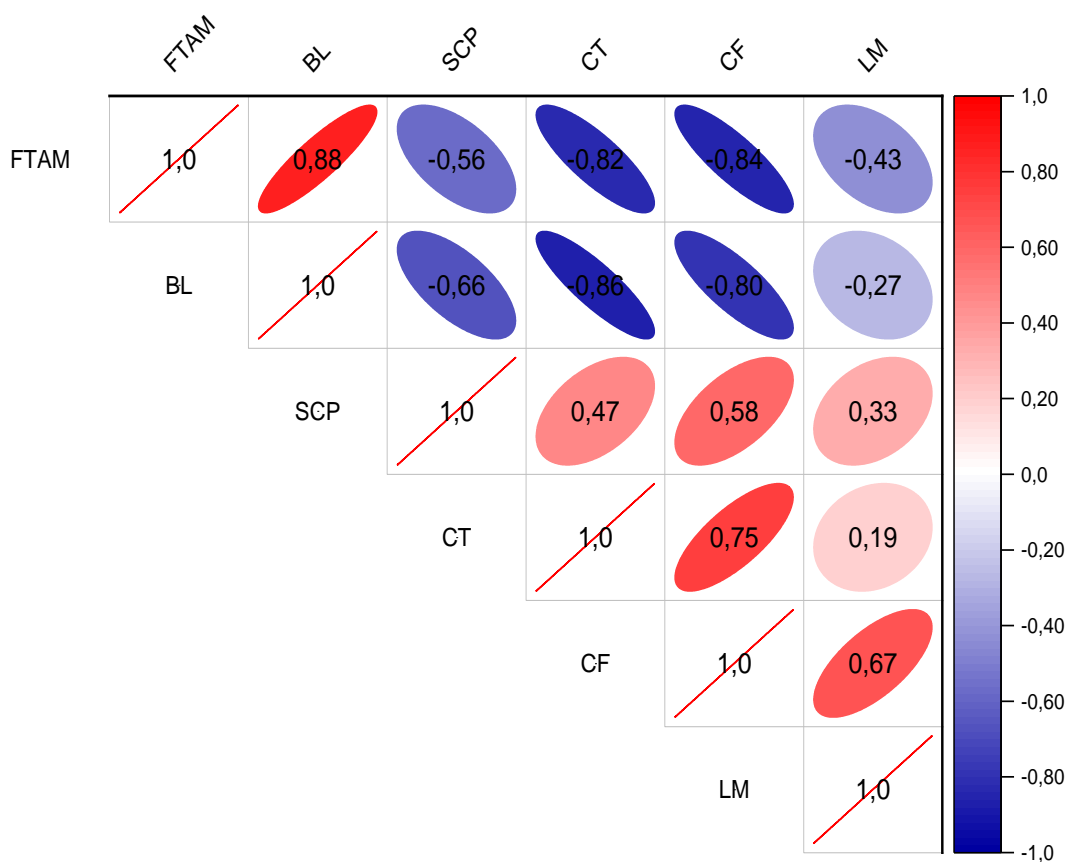


Figure 11. La matrice de corrélation représentant la distribution des micro-organismes dans les échantillons le fromage traditionnel (FPV). Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL).

Chapitre 3. Résultats et discussion

Tableau 8: Les valeurs-p entre les micro-organismes pour le fromage à base de la présure végétale (FPV). La corrélation est significative au niveau 0,05.

Valeurs-p (FPA)	FTAM	BL	SCP	CT	CF	ML
FTAM						
BL	0.002					
SCP	0.114	0.052				
CT	0.007	0.003	0.201			
CF	0.004	0.010	0.099	0.020		
ML	0.243	0.487	0.382	0.631	0.047	

Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL).

D'autre part, dans le FPA la corrélation négative la plus élevée et significative a été notée entre les bactéries lactiques et les SCP ($r = -0,80$), alors que sa valeur dans le FPV se diminue ($r = -0,66$). Des résultats similaires ont été trouvés dans une récente étude dévoilée par Pato et al. (2021) lors de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées du *Dadih* (lait fermenté traditionnel d'Indonésie) sur des souches de *Staphylococcus aureus*, dans lesquelles toutes les souches isolées ont pu supprimer la croissance de *Staphylococcus aureus*, da Silva Santos et al. (2019), dans une étude sur la caractérisation probiotique et moléculaire des bactéries lactiques isolées du fromage, ont noté que la caractérisation des probiotiques est extrêmement nécessaire puisque toutes les bactéries lactiques n'ont pas de caractéristiques antimicrobiennes (Saleh et al., 2023). Contrairement à ce qui a été rapporté par Saleh et al. (2023) qui a démontré que la présence de bactéries lactiques n'avait aucune influence sur la présence de SCP.

Les bactéries lactiques présentaient également une corrélation négative significative avec les LM ($r = -0,73$) dans le FPA et non significative dans le FPV ($r = -0,27$). Concernant la corrélation entre les bactéries lactiques et les LM, il a été rapporté que les métabolites de bactéries lactiques jouent un rôle clé dans l'activité antifongique, des études antérieures déterminées les effets antifongiques des métabolites de BL envers les LM. En effet, les mécanismes potentiels derrière l'activité antifongique de BL ont été principalement étudiés à travers la caractérisation et l'identification des métabolites microbiens agissant individuellement ou en synergie pour fournir de multiples barrières contre les moisissures d'altération (Fernandez et al., 2017). Ces métabolites comprennent principalement des acides organiques, des acides gras, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), des composés protéiques, de la

Chapitre 3. Résultats et discussion

reutéline et certains composés volatils, tels que le diacétyle (Aunsbjerg et al., 2015 ; Leyva Salas et al., 2018 ; Shi et Maktabdar, 2021). Les activités antifongiques de certains métabolites microbiens des bactéries lactiques ont été déterminées dans l'inhibition de la croissance fongique (Ebrahimi et al., 2020; Garnier et al., 2020).

La variabilité dans l'activité antimicrobienne des échantillons de fromage examinés peut être due principalement aux BL représentant le principal groupe microbien du fromage, faisant partie de sa microflore indigène et au type de coagulant utilisé (la présure animale qui se caractérise par une diversité microbienne importante, notamment en BL (Cruciata et al., 2014). Alors que, les fleurs de chardon sont connues par leur activité antimicrobienne en raison de leur teneur élevée en composés phénoliques (Falleh et al., 2008 ; Kukić et al., 2008 ; Scavo et al., 2019).

Les résultats de l'analyse des interactions entre les comptes de micro-organismes ont montré également, la présence des corrélations entre les comptes de bactéries coliformes et SCP. Les SCP avaient des corrélations positives avec les coliformes, où les corrélations observées entre les SCP et les groupes des coliformes suggèrent que les manquements aux pratiques d'hygiène représentent une source de contamination du fromage par les SCP et offre une explication que cette étude a montrés une association non significative ($r = 0.39$, $r = 0.35$) avec les coliformes totaux et fécaux dans le FPA et ($r = 0.47$, $r = 0.58$) dans le FPV, respectivement. Des résultats similaires ont été obtenus par Trmčić et al. (2016). D'autre part, certains auteurs n'ont trouvé aucune association entre la présence d'agents pathogènes (SCP) et la détection de coliformes (Martin et al., 2016).

Les FTAM étaient négativement corrélés avec les LM dans les deux types de fromage (FPV et FPA) ($r = -0,43$, $r = -0,77$), respectivement (**Fig.10 et Fig.11**). Statistiquement cette corrélation est significative que dans le FPA, cette différence peut être attribuée à la présence d'un nombre élevé des BL dans le FPA que dans le FPV. Une autre corrélation négative a été enregistrée entre le nombre de FTAM et le nombre des SCP dans les échantillons analysés (FPV et FPA) ($r = -0,67$, $r = -0,56$), respectivement. Ces dernières corrélations (FTAM, LM et SCP) semblent logiques car ces dernières présentaient déjà des corrélations négatives avec les bactéries lactiques qui constituent la majeure partie de la flore totale aérobie mésophile comme cité précédemment.

Chapitre 3. Résultats et discussion

9 Analyse en Composante Principale (ACP)

Afin de réduire les dimensions dans l'espace pour évaluer les interactions et la relation entre les paramètres physico-chimiques (pH, AC, MS, MG, PR, CE et AE) et microbiologiques (FTAM, BL, SCP, CT, CF et LM), la recherche de ces interactions est étudiée grâce à l'analyse en composantes principales (ACP), séparément chez les deux types de fromage (FPA et FPV). Les résultats liés aux paramètres physico-chimiques et microbiologiques après production des fromages (FPA et FPV) sont présentés dans les figures 12 et 13.

Pour le fromage à base du coagulant végétal (FPV), deux composantes principales (PCs) suffisaient à expliquer 90,85 % de la variance totale (PC1 : 72,56 % et PC2 : 18,29%). Le graphique des corrélations en cercles (**Fig.12**) montre l'association qui peut exister entre les différentes variables du fromage à base du coagulant végétal. L'axe 1 intègre l'information apportée par les paramètres physicochimiques représentés par AC et PR ainsi que BL, FTAM comme caractères microbiologiques d'une part et les variables microbiologiques représentées par SCP, CF, LM, et CT ainsi que le pH et AE (paramètre physicochimique), d'autre part. Ces deux ensembles de variables s'opposent le long de l'axe 1.

Les variables ont été assemblés en trois groupes en fonction de leurs corrélations. Le premier groupe constitué des variables AC, PR, BL et FTAM était positivement corrélé avec la section positive de l'axe 1(PC1) ; ($r = 0.99$, $r = 0.65$, $r = 0.86$ et $r = 0.95$), respectivement. Dans ce groupe comme prévu, l'AC a montré une forte corrélation positive avec les BL ($r = 0.91$), ces résultats semblent logiques car l'augmentation de l'acidité et la diminution de pH du FPV provoquées par la croissance du BL et par conséquent l'augmentation de la concentration des métabolites produits par les LAB, principalement les acides organiques. Même interprétation pour les FTAM ($r = 0.97$) puisque la plupart des bactéries dénombrées dans cette dernière sont des BL comme cité précédemment (corrélation entre groupes microbienne) (Cavicchioli et al., 2017; Fidan et al., 2022) . Une autre corrélation positive ($r = 0,59$) a également été identifiée entre les protéines et les BL cette association peut être attribué aux enzymes protéolytiques d'origine animale ou végétale qui ont une nature acide, ce qui signifie qu'elles ont une activité optimale (coagulation) dans un environnement légèrement acide. Par conséquent, l'action des LAB dans cette phase est cruciale car ils sont nécessaires pour libérer rapidement suffisamment d'acide lactique, pour abaisser le pH du lait (créant ainsi un environnement approprié pour une activité optimale de la présure s'accompagnant par la

Chapitre 3. Résultats et discussion

coagulation et par conséquent l'agglomération des caséines entre elles) (Kongo, 2013 ; Pihlanto et al., 2010 ; Raveschot et al., 2018).

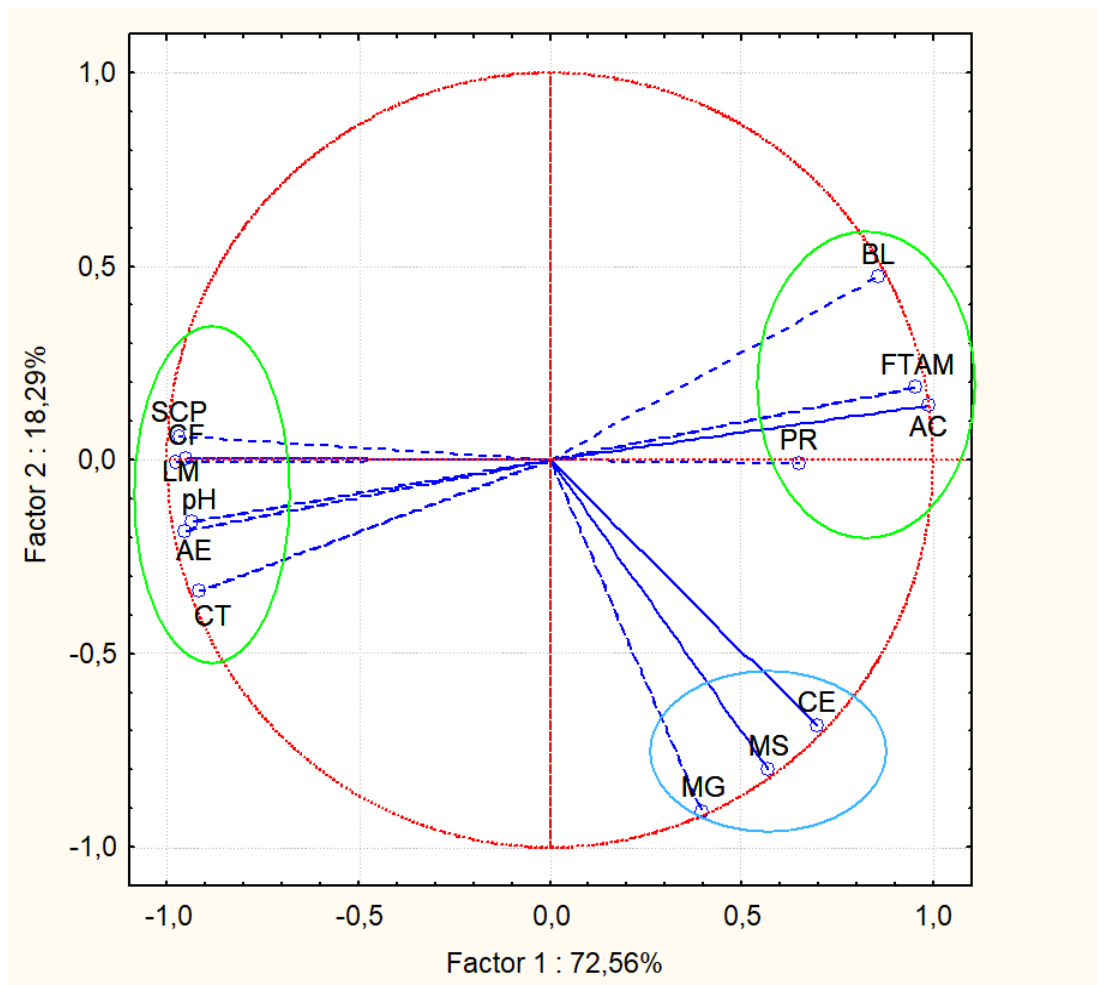


Figure 12. Cercle de corrélations entre les variables et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales dans le FPV.

Concernant le deuxième groupe contenant les SCP, CF, LM, AE, CT et le pH était négativement corrélé avec la section négative de l'axe 1 (PC1) ($r = -0.97$, $r = -0.95$, $r = -0.98$, $r = -0.95$, $r = -0.91$ et $r = -0.94$), respectivement (**Fig.12**). L'activité de l'eau est positivement corrélée avec les SCP, CF, LM, et CT ($r = 0.93$, $r = 0.85$, $r = 0.91$, $r = 0.89$), respectivement. En effet l'augmentation de l'activité de l'eau a entraîné une augmentation de la croissance d'agents pathogènes et de micro-organismes d'altération, ce qui est cohérent avec les résultats de nombreux chercheurs (Bangieva, 2020 ; Funck et al., 2015 ; György et Laslo, 2021). Egalement, le pH est corrélé positivement avec ces genres de microorganismes (SCP, CF, LM, et CT) ($r = 0.96$, $r = 0.85$, $r = 0.90$, $r = 0.89$), respectivement. Forsythe (2013) a rapporté que le pH supérieur à 4,5 est favorable au développement de micro-organismes pathogènes et lié à la durée de vie plus courte du produit, ce qui est cohérent à nos résultats. Les aliments à

Chapitre 3. Résultats et discussion

pH élevé, à forte activité de l'eau ou à faible teneur en NaCl sont adaptés à la croissance d'agents pathogènes et de micro-organismes d'altération, ce qui est conforme à nos résultats (Gaviao et al., 2020).

D'autre part. Ces deux ensembles de variables s'opposent le long de l'axe 1. A titre d'exemple le pH dans le groupe deux était négativement corrélé avec les BL ($r = -0.85$), cette association semble logique puisque ces dernières produisent des métabolites dont l'acide lactique qui entraîne la diminution du pH (Ioannidou et al., 2022; Pyz-Łukasik et al., 2018). Alors que, l'acidité, variable du premier groupe et négativement corrélée avec tous les microorganismes du deuxième groupe (SCP, CF, CT et LM) ($r = -0.95$, $r = -0.93$, $r = -0.96$, $r = -0.96$), cette corrélation pourrait être due principalement aux acides organiques (ont des propriétés antimicrobiennes, et cette propriété a été attribuée à des molécules dissociées qui sont déprotonées lors de leur entrée dans les membranes cellulaires) notamment, l'acide lactique qui empêche la croissance des bactéries Gram-négatives et Gram-positives, ainsi que des levures et des moisissures dans plusieurs produits alimentaires y compris les fromages (Ibrahim et al., 2021).

L'axe 2 intègre l'information relative au reste des paramètres physicochimique CE, MS et MG (**Fig.12**). Ces derniers sont corrélés négativement avec le deuxième PC qui a conservé 18,29 % de la variabilité d'origine CE ($r = -0,68$), MS ($r = -0,8$) et MG ($r = -0.9$). Les corrélations entre ces variables ont été bien discutées dans des sections antérieures (corrélations entre paramètres physicochimique).

Concernant le fromage à base de présure animale (FPA), La première (PC1) et la deuxième (PC2) dimensions expliquaient 80,97% de la variance totale. La composante principale 1 (PC1) représentait 68,08, tandis que la composante principale 2 (PC2) représentait 12,89% (**Fig.13**).

Chapitre 3. Résultats et discussion

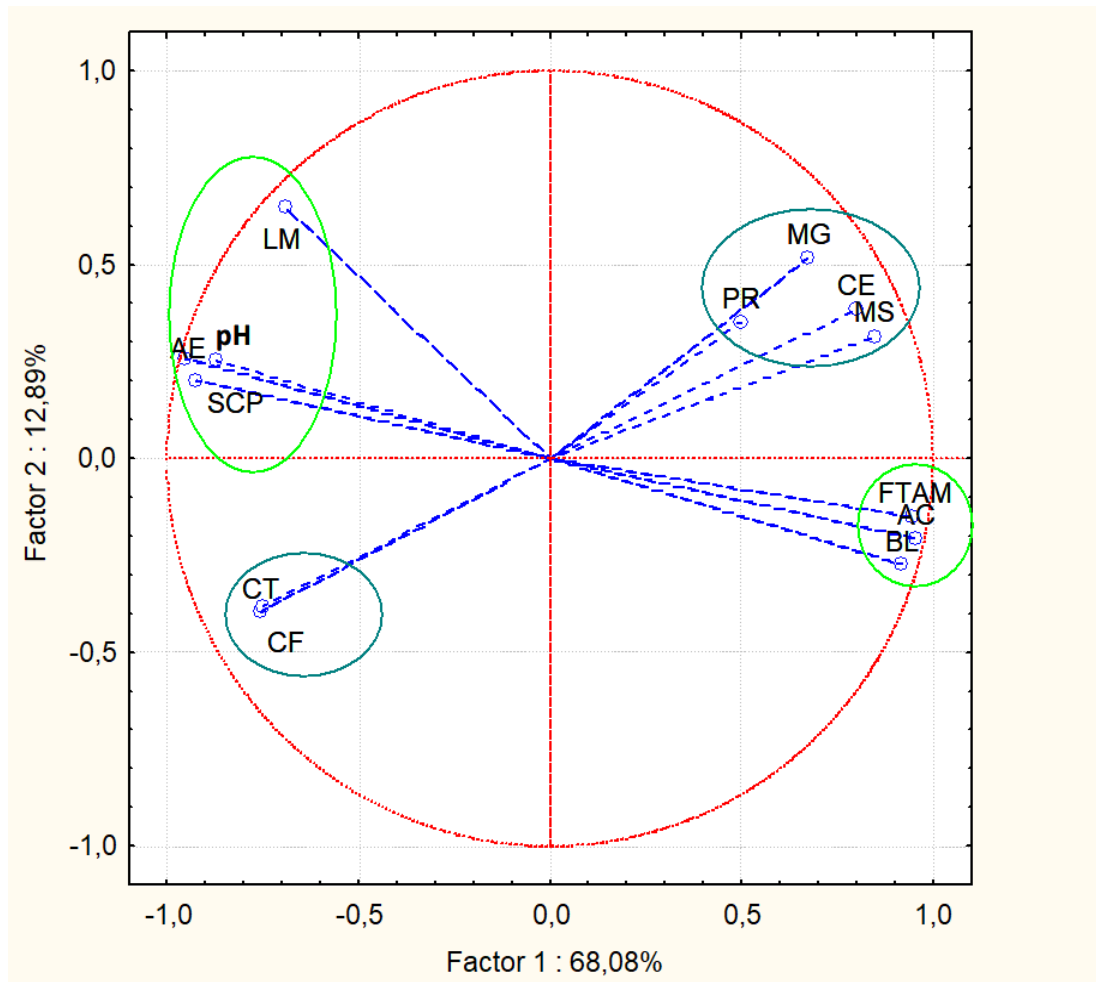


Figure 13. Cercle de corrélations entre les variables et les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales dans le FPA.

Concernant la première composante (PC1), les variables sont assemblées en quatre groupes, le premier groupe incluant MS, CE, MG et PR qui sont corrélés positivement ($r = 0.84$, $r = 0.80$, $r = 0.67$ et $r = 0.50$), avec la section positive de L'axe 1, respectivement. Tandis que, le deuxième groupe contenant AC, FTAM et BL a également été associé positivement avec la première composante ($r = 0.95$, $r = 0.94$ et $r = 0.92$), respectivement. Alors que, le troisième groupe regroupant AE, SCP, pH ainsi que LM était négativement corrélé avec la section négative de L'axe 2 ($r = -0.95$, $r = -0.93$, $r = -0.87$ et $r = -0.70$), respectivement. Enfin, le dernier groupe rassemblant les coliformes (CT et CF) était également négativement corrélé avec la section négative de L'axe 2 ($r = -0.76$, et $r = -0.75$), respectivement (**Fig.13**).

La deuxième composante (PC2) a conservé 12,89 % de la variabilité d'origine et a montré des corrélations positives les avec les variables physicochimiques (LM et MG) mais les coefficients de corrélation de ces variables restent inférieurs à ceux observés avec la

Chapitre 3. Résultats et discussion

première composante (PC1). À l'exception du nombre des regroupements différent entre les deux types de fromage, la tendance des corrélations dans le FPA entre variables physicochimiques et microbiologique sont presque les mêmes en comparaison avec le FPV.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion

Cette thèse vise à contribuer et à approfondir nos connaissances sur le *Jben*, une variété des fromages traditionnels qui font partie du patrimoine Algérien. La présente étude montre également la richesse culturelle de notre pays pour préserver l'histoire.

Dans notre étude, les propriétés physicochimiques des fromages frais traditionnels (*Jben*), qui ont été fabriqués à l'aide de deux agents de coagulation du lait (animal et végétal), ont montré d'une part, des différences significatives concernant le pH, l'acidité titrable, la matière sèche et la matière grasse et d'autre part non significatives concernant les protéines, cendres et l'activité de l'eau entre les caractéristiques physicochimiques des fromages fabriqués (FPA et FPV) sous l'effet de l'utilisation de deux agents de coagulation du lait. La caractérisation physico-chimiques de fromage a montré des niveaux adéquats et très intéressants en nutriments, confirmant la possibilité de l'utilisation de ce fromage notamment fabriqué à base du coagulant végétal comme produit diététique. La richesse de ce fromage en protéines, en matière grasse et en cendre constitue des attributs fascinants. En plus, La teneur élevée en acidité obtenue pour ce type de fromage permet d'assurer une bonne conservation pour une durée plus ou moins longue.

La qualité du fromage a été évaluée non seulement par ses caractéristiques physicochimiques, mais également par sa teneur en minéraux. Les minéraux sont également importants pour l'alimentation humaine en raison de leurs fonctions structurales, biochimiques, nutritionnelles et catalytiques ; ils sont donc fondamentaux pour la santé humaine. Les résultats obtenus dans cette étude ont montré des variations dans la concentration en macrominéraux et oligoéléments dans les échantillons de fromages examinés (FPA et FPV). En outre, il a été observé globalement, que les niveaux de macrominéraux (magnésium, phosphore, calcium et sodium) dans le fromage fabriqué à base de la présure animale sont supérieurs par rapport le fromage fabriqué à base du coagulant végétal. Des teneurs acceptables et souhaitables ont été obtenues pour les oligoéléments, à savoir, le zinc, le cuivre, le manganèse et le fer. D'autre part, La teneur plus élevée en macroéléments dans les échantillons de fromage peut également être le résultat des méthodes traditionnelles de production qu'impliquent qu'il existe des différences dans la quantité de présure ajoutée, à la contamination suite à la traite, le temps de caillage, contamination par les ustensiles et les différentes méthodes de dosage des minéraux. Étant donné que les éléments minéraux sont ingérés par l'alimentation et compte tenu des résultats obtenus dans la présente étude (teneurs

Conclusion et perspectives

particulièrement élevées en macrominéraux), cela fait de ce fromage un produit alimentaire d'une valeur exceptionnellement élevée.

Les résultats du profil électrophorétique sur gel d'urée-polyacrylamide (Urée-PAGE) au jour 1 après la fabrication de la fraction insoluble à pH 4,6 d'échantillons de fromage frais fabriqués avec un coagulant végétal (FPV) et une présure animale (FPA) ont montré qu'il était évident que de faibles nouvelles bandes apparaissaient (production de peptides) 24 heures après la fabrication du fromage dans les fractions insolubles analysées. De petites différences ont été observées dans le gel entre les échantillons examinés (FPA et FPV). Globalement, les fromages frais dans cette étude présentaient une protéolyse minimale, notamment ceux fabriqués par la présure animale. D'autre part, la courte période de maturation et la faible implication des bactéries lactiques dans la dégradation des protéines dans la protéolyse primaire peuvent être les raisons les plus importantes du niveau insignifiant de protéolyse trouvé dans nos fromages, notamment pour la β -caséine.

En plus d'être des fournisseurs abondants de nutriments vitaux comme les protéines, les minéraux tel que le calcium et les vitamines, les produits laitiers dont les fromages comprennent également une variété de composés bioactifs, parmi lesquels les AG représentant de la plus grande importance. Les résultats des profils d'acides gras analysés par CG-MS, ont montré que les fromages frais traditionnels (*Jben*) étudiés avaient généralement des compositions qualitatives identiques en acides gras dans les deux types de fromages. Également, statistiquement le profil d'acides gras a révélé que le type du coagulant n'a aucun effet significatif sur la composition quantitative des AG. En outre, nos résultats comme prévu, ont démontré que les acides gras saturés étaient prédominants dans les deux échantillons de fromage, constituant 65,88 % des AG dans le FPV et 64,3 % dans le FPA. Alors que, les acides gras monoinsaturés et les acides gras polyinsaturés ont atteint des valeurs de 30,22 % et 3,22 % pour la FPV et de 32,63 et 3,07 % pour la FPA, respectivement. Également, l'acide palmitique était le principal acide gras dans les fromages, tandis que l'acide oléique était le principal AG insaturé.

Quant aux indices de santé, la collecte d'informations sur les indices de qualité des lipides peut contribuer à une meilleure compréhension des effets nutritionnels et/ou sanitaires de la consommation de produits laitiers. L'athérogénicité (IA), la thrombogénicité (IT), le rapport des acides gras souhaitables (DFA), les rapports H/h, et PUFA/SFA ont été comparés entre FPA et FPV dans la présente étude. En ce qui concerne nos résultats, les types de fromage (FPA et FPV) n'ont pas montré d'impact significatif sur les principaux indices (IA ou

Conclusion et perspectives

IT, h/H) car ces derniers étaient pratiquement les mêmes dans les échantillons de fromages examinés, Les résultats de cette étude ont révélé également des pourcentages élevés des indices favorables notamment le rapport H/h, qui ont été notés comme plus sains et pour prévenir certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires, ce qui suggère que ces aliments peuvent être consommés dans le cadre d'une alimentation saine.

Finalement, l'analyse microbiologique de différents échantillons appartenant à nos fromages (FPA et FPV) a révélé que la qualité microbiologique du fromage traditionnel (*Jben*) était acceptable pour la plupart des échantillons testés (5,6% d'échantillons dépassaient légèrement la limite réglementaire tolérées par la Commission européenne pour les staphylocoques à coagulase positive) à travers l'analyse des principaux groupes microbiens. Après analyse, certains groupes microbiens (Flore totale aérobie mésophile (FTAM), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), des staphylocoques à coagulase positive (SCP), *Salmonella*, des levures et moisissures (LM) ainsi que des bactéries lactiques (BL) déterminés dans les fromages (FPV et FPA), fabriqués avec du coagulant végétal de *Cynara cardunculus* ou de la présure animale a montré que les niveaux des bactéries lactiques semblent être le groupe microbien prédominant dans tous les échantillons de fromages examinés, faisant partie souvent de la microflore naturelle du lait. En effet, la différence significative entre les différents échantillons de fromages examinés confirme l'effet de coagulant sur les niveaux de BL.

Concernant les autres groupes étudiés notamment la flore pathogène et d'altération (CF, CT, SCP, et LM), la présence de certains genres bactériens est évidente selon le type du fromage, à titre d'illustration, la présence de staphylocoques à coagulase positive dans le fromage reflète les faibles mesures de contrôle appliquées pendant le processus de la fabrication du fromage et/ou la contamination du lait cru utilisé. Alors que, la présence de la flore d'altération semble logique en raison des différentes étapes de fabrication traditionnelle (conditions souvent insalubres) et de la mauvaise pratique durant l'élimination des matières fécales des mamelles avant la traite. La présence de la flore d'altération, associés à la flore pathogène, suggère que les mesures d'hygiène pendant le processus de la fabrication du fromage doivent être améliorées.

Conclusion et perspectives

Perspectives

Ce travail ouvre de nouvelles perspectives de recherche dans cette voie, nous comptons poursuivre et approfondir ces aspects en prenant en charge, les éléments complémentaires qui nécessitent une telle étude :

- Pour prolonger la présente étude, il serait intéressant d'augmenter le nombre d'échantillons par type de fromage, type de lait et selon l'origine animale afin de rendre plus homogène l'étude.
- L'analyse sensorielle des fromages fabriqués n'a pas été effectuée, il serait alors possible d'être réalisée afin de connaître la perception gustative.
- La chromatographie liquide à haute performance en phase inversée couplée à la spectroscopie de masse (RP-HPLC-MS), rapide et fiable, est proposée pour quantifier toutes les principales fractions de caséine lors de la protéolyse.
- Afin d'élargir les connaissances sur les facteurs influençant la croissance des micro-organismes pathogènes, il serait intéressant d'étudier l'évolution de la flore au cours de la conservation des fromages. Ainsi, ces résultats permettraient de renforcer encore la sécurité sanitaire des aliments.
- La rhéologie du fromage caractérise son comportement en déformation lorsqu'il est soumis à une contrainte ou à une déformation. Il serait alors possible d'utiliser des méthodes rhéologiques ou des appareils plus sensibles tels que le chymographe pour étudier la formation des gels et leurs fermetés.

Résumé

Résumé

Le *Jben* est un fromage frais traditionnel populaire en Algérie et en Afrique du Nord, généralement fabriqué à partir de lait cru de ruminants (vaches, brebis ou chèvre). Ces procédés de fabrications traditionnelles sont encore utilisés dans de nombreuses régions, notamment pendant la saison d'abondance du lait. La présente étude a été réalisée pour évaluer et comparer l'effet de deux agents de coagulation du lait (animal et végétal) sur les paramètres physico-chimiques, les profils d'acides gras, les indices de qualité des lipides, la protéolyse primaire, la fraction minérale et les caractéristiques microbiologiques.

La caractérisation physico-chimique a montré que le pH, l'acidité, la matière sèche, la matière grasse, les teneurs en protéines, les cendres et l'activité de l'eau étaient respectivement de 6,19, 92,5 °D, 43,7 g/100 g, 23,4 g/100 g, 15,2 g/100 g, 2,1 g/100 g et 0,98 dans le FPV et 5,21, 80,3 °D, 50,1 g/100 g, 20,6 g/100 g, 13,8 g/100 g, 1,7 g/100 g et 0,98, respectivement pour le FPA.

Les teneurs moyennes en éléments majeurs (Ca, P, Na, K et Mg) et en traces (Zn, Cu, Mn et Fe) des échantillons du *Jben* ont été classées comme suit : Ca > P > Na > K > Mg et Fe > Cu > Mn > Zn, respectivement dans le FPA et Ca > P > K > Na > Mg et Fe > Cu > Zn > Mn, respectivement pour le FPV. Le profil des acides gras (AG) a été déterminé à l'aide de la méthode GC-MS. Pour le FPA, les AG comprenaient 0,09 à 28,8 % d'acides gras saturés (AGS), 0,85 à 27,68 % d'acides gras monoinsaturés (AGMI) et 3,22 % d'acides gras polyinsaturés (AGPI), alors que pour le FPV, les AG comprenaient 0,22 à 27,81 % d'AGS, 1,10 à 28,16 % d'AGMI et 3,07 % d'AGPI. Également, l'acide palmitique était le principal AG dans les fromages, tandis que l'acide oléique était le principal AG insaturé. Le niveau d'AGS le plus faible a été observé dans le FPV, qui présentait les indices de santé les plus bénéfiques. Les résultats du profil électrophorétique sur gel d'urée-polyacrylamide (urée-PAGE) ont révélé que les échantillons du *Jben* présentaient une protéolyse minimale, notamment fabriqués par la présure animale.

L'analyse microbiologique de différents échantillons des fromages a révélé que la qualité microbiologique du fromage traditionnel (*Jben*) était acceptable pour la plupart des échantillons testés. Les résultats ont révélé que les échantillons examinés présentent des charges importantes en bactéries lactiques avec une différence significative entre les deux types de fromage (FPA et FPV). En plus des bactéries lactiques, le *Jben* abrite également de micro-organismes pathogènes et d'altération incluant les staphylocoques à coagulase positive, les coliformes totaux et fécaux, les levures et moisissures. Ces résultats indiquent la nécessité d'une meilleure hygiène pendant la traite et la production de fromage.

Résumé

D'autre part, le bon choix des agents de coagulation du lait joue un rôle important dans la fabrication des fromages avec des propriétés acceptables, notamment la présure végétale qui ouvre de nouveaux horizons d'être utilisé à grande échelle comme substitut approprié à la présure animale.

Mots clés : Caractéristiques physicochimiques, coagulant végétal, fromage traditionnel, *Jben*, minéraux, présure animale, profil des acides gras, protéolyse, qualité microbiologique.

Abstract

Jben is a popular traditional fresh cheese in Algeria and North Africa, usually made from raw ruminant milk (cow, sheep or goat). These traditional manufacturing processes are still used in many regions, especially during the abundant milk production season. The present study was carried out to evaluate and compare the effect of two milk coagulation agents (animal and vegetable) on physicochemical parameters, fatty acid profiles, lipid quality indices, primary proteolysis, the mineral fraction and microbiological characteristics.

The physicochemical characterization showed that the pH, acidity, dry matter, fat, protein contents, ash and water activity were respectively 6.19, 92.5 °D, 43.7 g/100 g, 23.4 g/100 g, 15.2 g/100 g, 2.1 g/100 g and 0.98 in CVR and 5.21, 80.3 °D, 50.1 g/100 g, 20.6 g/100 g, 13.8 g/100 g, 1.7 g/100 g and 0.98, respectively for CAR. The average contents of major elements (Ca, P, Na, K and Mg) and traces (Zn, Cu, Mn and Fe) of the *Jben* samples were classified as follows: Ca > P > Na > K > Mg and Fe > Cu > Mn > Zn, respectively in FPA and Ca > P > K > Na > Mg and Fe > Cu > Zn > Mn, respectively for FPA.

The fatty acid (FA) profile was determined using the GC-MS method. For CAR, FAs comprised 0.09 to 28.8% saturated fatty acids (SFA), 0.85 to 27.68% monounsaturated fatty acids (MUFA), and 3.22% polyunsaturated fatty acids (PUFA), whereas FAs of CVR included 0.22 to 27.81% SFA, 1.10 to 28.16% MUFA, and 3.07% PUFA. Also, palmitic acid was the main FA in cheeses, while oleic acid was the main unsaturated FA. The lowest level of SFA was observed in CVR, which had the most beneficial health indices. The results of the urea-polyacrylamide (Urea-PAGE) gel electrophoretic profile revealed that the *Jben* samples exhibited minimal proteolysis, particularly produced by animal rennet.

The microbiological analysis of different cheese samples revealed that the microbiological quality of traditional cheese (*Jben*) was acceptable for most of the samples tested. The results revealed that the samples examined present significant loads of lactic acid bacteria with a significant difference between the two types of cheese (CAR and CVR). In addition to lactic acid bacteria, *Jben* also harbors pathogenic and spoilage microorganisms including coagulase-positive staphylococci, total and fecal coliforms, yeasts and molds. These results indicate the need for better hygiene during milking and cheese production.

On the other hand, the right choice of milk coagulation agents plays an important role in the manufacture of cheeses with acceptable properties, in particular vegetable rennet, in particular vegetable rennet which opens new horizons of being used on a large scale as a suitable substitute for rennet animal.

Abstract

Key words: Physicochemical characteristics, vegetable coagulant, traditional cheese, *Jben*, minerals, animal rennet, fatty acid profile, proteolysis, microbiological quality.

الجُبْنُ هو جبن طازج تقليدي شائع في الجزائر وشمال أفريقيا، عادة ما يتم تصنيعه من حليب المجترات الطازج (الأبقار، الأغنام أو الماعز). عمليات التصنيع التقليدية للجُبْن لا تزال تُستخدم في العديد من المناطق، خاصة خلال موسم وفرة الحليب. أجريت هذه الدراسة لتقييم ومقارنة تأثير اثنين من عوامل تخثر الحليب (الحيوانية والنباتية) على المعايير الفيزيائية والكيميائية، محتوى الأحماض الدهنية، مؤشرات جودة الدهون، التحلل البروتيني الأولي، العناصر المعدنية والخصائص الميكروبيولوجية.

أظهرت دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية أن الرقم الهيدروجيني، الحموضة، المواد الجافة، الدهون، محتويات البروتين، الرماد والنشاط المائي كانت على التوالي 6.19، D° 92.5، 43.7 غ/100 غ، 23.4 غ/100 غ، 15.2 غ/100 غ، 2.1 غ/100 غ و 0.98 في الجبن المصنوع من المنفحة النباتية (FPV) و 5.21، D° 80.3، 50.1 غ/100 غ، 20.6 غ/100 غ، 13.8 غ/100 غ، 1.7 غ/100 غ و 0.98 على التوالي في الجبن المصنوع من المنفحة الحيوانية (FPA).

النتائج المتحصل عليها أظهرت أن المحتوى المتوسط من العناصر المعدنية الرئيسية (Ca, P, Na, K و Mg) والصغرى (Zn و Cu و Mn و Fe) لعينات الجبن كانت على النحو التالي: $Ca > P > Na > K > Mg$ و $Fe > Cu > Mn > Zn$ ، على التوالي في الجبن المصنوع من المنفحة الحيوانية و $Ca > P > K > Na > Mg$ و $Fe > Cu > Zn > Mn$ ، على التوالي في الجبن المصنوع من المنفحة النباتية. تم تحديد المحتوى من الأحماض الدهنية (AG) باستخدام طريقة GC-MS. بالنسبة لـ FPA، الأحماض الدهنية كانت مكونة من 0.09 إلى 28.8% من الأحماض الدهنية المشبعة (AGS)، و 0.85 إلى 27.68% من الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة (AGMI)، و 3.22% من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (AGPI)، في حين تضمنت الأحماض الدهنية الخاصة بـ FPV، 0.22 إلى 27.81% من AGS، و 1.10-28.16% من AGMI و 3.07% من AGPI، من النتائج أيضا، كان حمض البالمتيك هو الحمض الدهني الرئيسي في الجبن، بينما كان حمض الأوليك هو الحمض الدهني الرئيسي غير المشبع. ولوحظ أن أدنى مستوى من AGS في FPV، الذي كان لديه المؤشرات الصحية الأكثر فائدة. من ناحية أخرى كشفت نتائج الترحيل الكهربائي على هلام اليوريا متعدد الاكريلاميد (Urée-PAGE) أن عينات الجُبْن أظهرت الحد الأدنى من التحلل البروتيني، خاصة المنتجة بواسطة المنفحة الحيوانية.

أظهر التحليل الميكروبيولوجي لعينات الجُبْن المختلفة أن الجودة الميكروبيولوجية للجبن التقليدي كانت مقبولة بالنسبة لأغلب العينات التي تم اختبارها. النتائج أظهرت كذلك أن العينات التي تم فحصها تحتوي على كميات كبيرة من بكتيريا حمض اللاكتيك مع وجود فرق واضح بين نوعي الجبن (FPV، FPA). بالإضافة إلى بكتيريا حمض اللاكتيك، تُؤوي الجُبْن أيضًا الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض والتلف بما في ذلك المكورات العنقودية إيجابية التخثر، والقولونيات الكلية والبرازية، والخمائر والعفن. تشير هذه النتائج إلى الحاجة إلى نظافة أفضل أثناء عملية الحلب وإنتاج الجبن.

من ناحية أخرى فإن الاختيار الصحيح لعوامل تخثر الحليب يلعب دورا هاما في صناعة الجبن ذات الخصائص المقبولة، لا سيما المنفحة النباتية التي يمكن أن تفتح آفاقا جديدة لاستخدامها على نطاق واسع كبديل مناسب للمنفحة الحيوانية.

الكلمات المفتاحية: الخصائص الفيزيائية والكيميائية، المخثر النباتي، الجبن التقليدي، الجبن، المعادن، المنفحة الحيوانية، محتوى الأحماض الدهنية، التحلل البروتيني، الجودة الميكروبيولوجية.

Références bibliographiques

- Abbas, H., Mohamed, A., Hasan, F., Abd-El-Gawad, M., Gafour, W., & Ahmed, N. (2014). Preparation of Imitated processed Cheese by Using Direct Acidification Technique to Resemble Mozzarella Cheese Properties. *Life Science*, *11*, 1-43.
- Abbas, H. M., Foda, M. S., Kassem, J. M., Bayomi, H. M., & Moharam, M. E. (2013). Production of white soft cheese using fungal coagulant produced by solid state fermentation technique. *World Applied Sciences Journal*, *25*(6), 939-944.
- Abbas, K. A., Abdelmontaleb, H. S., Hamdy, S. M., & Ait-Kaddour, A. (2021). Physicochemical, functional, fatty acids profile, health lipid indices, microstructure and sensory characteristics of walnut-processed cheeses. *Foods*, *10*(10), 2274.
- Abd El-Gawad, M. A., & Ahmed, N. S. (2011). Cheese yield as affected by some parameters review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, *10*(2), 131-153.
- Abd El-Salam, B., Ibrahim, O., & El-Sayed, H. (2017). Purification and characterization of milk clotting enzyme from artichoke (*Cynara cardunculus* L.) flowers as coagulant on white soft cheese. *Int. J. Dairy Sci*, *12*, 254-265.
- Abdeen, E.-S. M., Ibrahim, O. A., & Kholif, A. M. (2021). Utility of Moringa oleifera waste as a coagulant in goat soft cheese production. *Heliyon*, *7*(7).
- Abebe, B., & Emire, S. (2020). Manufacture of fresh cheese using east African Calotropis procera leaves extract crude enzyme as milk coagulant. *Food Science & Nutrition*, *8*(9), 4831-4842.
- Abraha, A., Bikila, T., Alemu, S., & Muktar, Y. (2017). Bacillus Cereus isolation and load from raw cow milk sold in Markets of Haramaya District, eastern Ethiopia. *International Journal of Food Contamination*, *4*, 1-6.
- Adamska, A., Rasińska, E., Rutkowska, J., & Antoniewska, A. (2017). Fatty acid profile of commercial Camembert-and Brie-type cheeses available on the Polish market. *CyTA-Journal of Food*, *15*(4), 639-645.
- Addis, M., Pes, M., Fiori, M., Nieddu, G., Furesi, S., & Pirisi, A. (2018). Effect of protein-to-fat ratio of sheep milk on the composition, rheological properties and yield of PDO Pecorino Romano cheese. *Small Ruminant Research*, *162*, 1-7.
- Adhikari, B., Bhattarai, R., Katwal, N., & Das, S. (2021). Effects of ginger protease on quality of mozzarella cheese. *Appro. Poult. Dairy Vet. Sci*, *8*(5), 835-845.
- Aguiar, A. C. R. d., Rocha Júnior, V. R., Caldeira, L. A., Ruas, J. R. M., Almeida Filho, S. H. C. d., Monção, F. P., Melo, M. T. P. d., & Pimentel, P. R. S. (2017). Quality of Minas fresh cheese made with milk from F1 Holstein/Zebu cows fed diets with different sources of nitrogen compounds. *Arquivos do Instituto Biológico*, *84*, e0192015.
- Aguilar, C., Toro-Mujica, P., Vargas-Bello-Pérez, E., Vera, R., Ugalde, C., Rodríguez, S., & Briones, I. (2014). A comparative study of the fatty acid profiles in commercial sheep cheeses. *Grasas y aceites*, *65*(4), e048-e048.
- Ahmed, I. A. M., Babiker, E. E., & Mori, N. (2010). pH stability and influence of salts on activity of a milk-clotting enzyme from Solanum dubium seeds and its enzymatic action on bovine caseins. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(5), 759-764.
- Ahmed, I. A. M., Morishima, I., Babiker, E. E., & Mori, N. (2009). Characterisation of partially purified milk-clotting enzyme from Solanum dubium Fresen seeds. *Food Chemistry*, *116*(2), 395-400.
- Aktayeva, S., Akishev, Z., & Khassenov, B. (2018). Proteolytic enzymes in cheese making. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*(1).
- Al Sidawi, R., Ghambashidze, G., Urushadze, T., & Ploeger, A. (2021). Heavy metal levels in milk and cheese produced in the Kvemo Kartli region, Georgia. *Foods*, *10*(9), 2234.
- Alichanidis, E., Anifantakis, E. M., Polychroniadou, A., & Nanou, M. (1984). Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. *Journal of Dairy Research*, *51*(1), 141-147.
- Aljewicz, M., Cichosz, G., & Kowalska, M. (2011). Cheese-like products, analogs of processed and ripened cheeses. *Zywnosc-Nauka Technologia Jakosc*, *18*(5), 16-25.

- Altun, S. K., & Paksov, N. (2020). Şanlıurfa'da Üretilen Urfa Peynirlerinde Nikel Düzeyleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(1), 49-52.
- Amimour, M. (2019). : *Essais d'optimisation des procédés de fabrication des fromages traditionnels de qualité (jben et klila)* Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis].
- Andrews, A. T. (1983). Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research*, 50(1), 45-55.
- Andrews, W. H., Jacobson, A., & Hammack, T. (2018). Bacteriological analytical manual (BAM) chapter 5: Salmonella. *Bacteriological Analytical Manual*, 110.
- Anema, S. G., & Li, Y. (2003). Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Research*, 70(1), 73-83.
- Angelidis, A., & Papademas, P. (2015). Dairy Microbiology—A Practical Approach.
- Anguita, G., Martín, R., García, T., Morales, P., Haza, A. I., González, I., Sanz, B., & Hernández, P. E. (1996). Immunostick ELISA for detection of cow's milk in ewe's milk and cheese using a monoclonal antibody against bovine β -casein. *Journal of food protection*, 59(4), 436-437.
- AOAC. (2005a). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International. *Official Methods: Gaithersburg, MD, USA*.
- AOAC. (2005b). Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists international. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 41, 12.
- Aquilanti, L., Babini, V., Santarelli, S., Osimani, A., Petruzzelli, A., & Clementi, F. (2011). Bacterial dynamics in a raw cow's milk Caciotta cheese manufactured with aqueous extract of *Cynara cardunculus* dried flowers. *Letters in applied microbiology*, 52(6), 651-659.
- Arias-Roth, E., Bachmann, H., Frölich-Wyder, M., Schmidt, R., Wechsler, D., Beuvier, E., Buchin, S., & Delbès, C. (2022). Raw milk cheeses. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (3. ed.), 299-308.
- Aunbjerg, S., Honoré, A., Marcussen, J., Ebrahimi, P., Vogensen, F., Benfeldt, C., Skov, T., & Knøchel, S. (2015). Contribution of volatiles to the antifungal effect of *Lactobacillus paracasei* in defined medium and yogurt. *International Journal of Food Microbiology*, 194, 46-53.
- Awad, S. (2016). Microbial safety criteria and quality of traditional Egyptian Karish cheese. *African Journal of Microbiology Research*, 10(22), 804-812.
- Ayeni, A. O., Adeeyo, O. A., & Oresegun, O. M. (2014). The production of Wara cheese from locally sourced coagulants and its nutritional evaluation. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(10), 55-57.
- Bakr, A., Ibrahim, O., El-Ghandour, A. E.-S., & El-Deeb, N. (2021). Purification and Characterization of Milk Clotting Enzyme from Edible Mushroom (*Pleurotus florida*).
- Bangieva, D. (2020). Microbiological and physicochemical changes during ripening in Bulgarian white brined cheese made from raw cow milk. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 23(4).
- Banjara, N., Suhr, M. J., & Hallen-Adams, H. E. (2015). Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. *Current microbiology*, 70, 792-800.
- Barać, M., Kresojević, M., Špirović-Trifunović, B., Pešić, M., Vučić, T., Kostić, A., & Despotović, S. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 68(1), 37-45.
- Barać, M., Vučić, T., Špirović-Trifunović, B., Barać, N., & Smiljanić, M. (2022). Protein and fatty acid profiles of Kajmak ripened at two different temperatures. *Food Science and Technology*, 42.

- Bárcenas, P., Elortondo, F. P., Salmerón, J., & Albisu, M. (2001). Sensory profile of ewe's milk cheeses. *Food science and technology international*, 7(4), 347-353.
- Barker, G., Grant, A., Beavitt, P., Christie, N., Giorgi, J., Hoare, P., Leggio, T., & Migliavacca, M. (1991). Ancient and modern pastoralism in central Italy: an interdisciplinary study in the Cicolano mountains. *Papers of the British School at Rome*, 15-88.
- Baseri, E., Alimohammadi, M., Nodehi, R., Nazmara, S., Khaniki, G., & Gorji, M. (2018). Determination of heavy metals through inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Iranian cheese and their potential health risks to the adult consumers. *Iranian Journal of Health, Safety and Environment*, 5(1), 926-933.
- Beikzadeh, S., Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Beikzadeh, M., Asghari-Jafarabadi, M., & Foroumandi, E. (2019). Heavy metal contamination of milk and milk products consumed in Tabriz. *Current nutrition & food science*, 15(5), 484-492.
- Ben Amira, A., Besbes, S., Attia, H., & Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76-S93.
- Ben Braïek, O., & Smaoui, S. (2021). Chemistry, safety, and challenges of the use of organic acids and their derivative salts in meat preservation. *Journal of food quality*, 2021, 1-20.
- Benamara, R., Gemelas, L., Ibri, K., Moussa-Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2016). Sensory, microbiological and physico-chemical characterization of Klila, a traditional cheese made in the south-west of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(41), 1728-1738.
- Bencini, R. (2002). Factors affecting the clotting properties of sheep milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(7), 705-719.
- Bendimerad, N. (2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. *Essai de fabrication de fromage frais type «Jben»*.
- Benheddi, W., & Hellal, A. (2019). Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria. *Journal of food science and technology*, 56, 3431-3438.
- Benkerroum, N. (2013). Traditional fermented foods of North African countries: technology and food safety challenges with regard to microbiological risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 54-89.
- Benkerroum, N., & Tamime, A. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4), 399-413.
- Benkirane, G., Ananou, S., Dumas, E., Ghnimi, S., & Gharsallaoui, A. (2022). Moroccan traditional fermented dairy products: Current processing practices and physicochemical and microbiological properties-a review. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12(1), e5636-e5636.
- Benyagoub, E., Guessas, B., Ayat, M., & Sanebaoui, B. (2016). Physicochemical and bacteriological properties of some Algerian traditional dairy products 'Klila and Jben' marketed in southwest of Algeria and their impact on consumers health. *International Journal of Advanced Research*, 4(12), 760-768.
- Benyahia-Krid, F., Aissaoui-Zitoun, O., Boughellout, H., Adoui, F., Harkati, A., Bakou, C., Wodo, D., & Zidoune, M. (2016). Fresh cheese "Peulh Type": Characterization and sensory aspects. *Journal Advances Dairy Research*, 4(163), 2.
- Benyahia, K., Djefal, F., Ferhati, H., Bendjerad, A., Benhaya, A., & Saidi, A. (2021). Self-powered photodetector with improved and broadband multispectral photoresponsivity based on ZnO-ZnS composite. *Journal of Alloys and Compounds*, 859, 158242.

- Beresford, T. (2003). Non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and cheese quality. *Dairy processing: Improving quality*, 448-469.
- Beresford, T., & Williams, A. (2004). The microbiology of cheese ripening. *Cheese: chemistry, physics and microbiology, 1*, 287-318.
- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., & Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal, 11*(4-7), 259-274.
- Bertolino, M., Dolci, P., Giordano, M., Rolle, L., & Zeppa, G. (2011). Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in wintertime. *Food Chemistry, 129*(3), 1001-1011.
- Bey, N., Debbebi, H., Abidi, F., Marzouki, M. N., & Salah, A. B. (2018). The non-edible parts of fennel (*Foeniculum vulgare*) as a new milk-clotting protease source. *Industrial Crops and Products, 112*, 181-187.
- Bezie, A., & Regasa, H. (2019). The role of starter culture and enzymes/rennet for fermented dairy products manufacture-A Review. *Nutr. Food Sci. Int. J, 9*, 21-27.
- Białek, A., Białek, M., Lepionka, T., Czerwonka, M., & Czauderna, M. (2020). Chemometric analysis of fatty acids profile of ripening chesses. *Molecules, 25*(8), 1814.
- Bintsis, T. (2006). Quality of the brine. *Brined cheeses*, 264-301.
- Bintsis, T. (2021). Yeasts in different types of cheese. *AIMS microbiology, 7*(4), 447.
- Bintsis, T., & Papademas, P. (2017). An overview of the cheesemaking process. *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, 120-156.
- Biolcati, F., Andrighetto, C., Bottero, M. T., & Dalmaso, A. (2020). Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di Roccaverano cheese. *Journal of Dairy Science, 103*(5), 4056-4067.
- Biolcati, F., Andrighetto, C., Ferrocino, I., Bottero, M., & Dalmaso, A. (2019). Culture-dependent and-independent analysis to explore microbiota of Robiola di Roccaverano cheese. IAFP European Symposium on food safety,
- Bisutti, V., Pegolo, S., Giannuzzi, D., Mota, L., Vanzin, A., Toscano, A., Trevisi, E., Marsan, P. A., Brasca, M., & Cecchinato, A. (2022). The β -casein (CSN2) A2 allelic variant alters milk protein profile and slightly worsens coagulation properties in Holstein cows. *Journal of Dairy Science, 105*(5), 3794-3809.
- Bodnar, A., Egerszegi, I., Kuchtik, J., Penksza, K., Póti, P., & Pajor, F. (2021). Effect of grazing on composition, fatty acid profile and nutritional indices of the goat milk and cheese. *J. Anim. Feed Sci, 30*, 320-328.
- Bollongino, R., Burger, J., Powell, A., Mashkour, M., Vigne, J.-D., & Thomas, M. G. (2012). Modern taurine cattle descended from small number of near-eastern founders. *Molecular biology and evolution, 29*(9), 2101-2104.
- Bonczar, G., Wszolek, M., Walczycka, M., Zebrowska, A., & Maciejowski, K. (2011). Effect of selected factors on water activity and microbiological quality of ewe's milk soft cheeses. *Zywnosc Nauka Technologia Jakosc (Poland)*.
- Bonfatti, V., Tuzzato, M., Chiarot, G., & Carnier, P. (2014). Variation in milk coagulation properties does not affect cheese yield and composition of model cheese. *International Dairy Journal, 39*(1), 139-145.
- Bonfiglio, S., Ginja, C., De Gaetano, A., Achilli, A., Olivieri, A., Colli, L., Tesfaye, K., Agha, S. H., Gama, L. T., & Cattonaro, F. (2012). Origin and spread of *Bos taurus*: new clues from mitochondrial genomes belonging to haplogroup T1. *PLoS One, 7*(6), e38601.
- Bonjour, J.-P., Guéguen, L., Palacios, C., Shearer, M. J., & Weaver, C. M. (2009). Minerals and vitamins in bone health: the potential value of dietary enhancement. *British journal of nutrition, 101*(11), 1581-1596.
- Bord, C., Guerinon, D., & Lebecque, A. (2016). Impact of heating on sensory properties of French Protected Designation of Origin (PDO) blue cheeses. Relationships with

- physicochemical parameters. *Food science and technology international*, 22(5), 377-388.
- Borgono, C. A., Michael, I. P., Komatsu, N., Jayakumar, A., Kapadia, R., Clayman, G. L., Sotiropoulou, G., & Diamandis, E. P. (2007). A potential role for multiple tissue kallikrein serine proteases in epidermal desquamation. *Journal of Biological Chemistry*, 282(6), 3640-3652.
- Borys, M., Pakulski, T., Borys, B., Pakulska, E., & Węgrzyn, E. (2006). The content and retention of some major and trace minerals in sheep's milk and cheese. *Archiv für Tierzucht*, 49, 263-267.
- Boucher, B., Brothersen, C., & Broadbent, J. (2006). Influence of starter and nonstarter lactic acid bacteria on medium redox. *Australian journal of dairy technology*, 61(2), 116.
- Brandielli, M. C., BURGARDT, V. C. F., Hashimoto, E. H., Tonial, I. B., Zemiani, A., Silva, A. F., Oro, S. R., Marchi, J. F., BADARÓ, A. C. L., & Castro-Cislaghi, F. P. (2019). Physicochemical parameters and lactic acid bacteria count during ripening of Brazilian regional cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. *Food Science and Technology*, 40, 877-884.
- Broadbent, J. R., & Steele, J. L. (2005). Cheese Flavor and the Genomics of Lactic Acid Bacteria-Genomics and molecular biology are valuable in helping to define how these bacteria contribute to the flavor and texture of cheeses. *ASM News-American Society for Microbiology*, 71(3), 121-128.
- Buccioni, A., Mannelli, F., Daghighi, M., Rapaccini, S., Scicutella, F., & Minieri, S. (2022). Influence of milk quality and cheese-making procedure on functional fatty acid transfer in three Italian dairy products: Mozzarella, Raveggiolo and Ricotta. *Lwt*, 163, 113476.
- Budak, Ş. Ö., Koçak, C., Bron, P. A., & de Vries, R. P. (2018). Role of microbial cultures and enzymes during cheese production and ripening. In *Microbial cultures and enzymes in dairy technology* (pp. 182-203). IGI Global.
- Bueno-Gavilá, E., Abellán, A., Bermejo, M. S., Salazar, E., Cayuela, J. M., Prieto-Merino, D., & Tejada, L. (2020). Characterization of proteolytic activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) flower extracts on bovine casein to obtain bioactive peptides. *Animals*, 10(5), 914.
- Bulajic, S., Colovic, S., Misic, D., Djordjevic, J., Savic-Radovanovic, R., Asanin, J., & Ledina, T. (2017). Enterotoxin production and antimicrobial susceptibility in *S. taphylococci* isolated from traditional raw milk cheeses in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 52(12), 864-870.
- Caballero Villalobos, J. (2016). Plasmin activity and other factors affecting quality of Manchega ewe milk.
- Caldeo, V., & McSweeney, P. (2012). Changes in oxidation-reduction potential during the simulated manufacture of different cheese varieties. *International Dairy Journal*, 25(1), 16-20.
- Calder, P. C. (2012). Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *The Journal of nutrition*, 142(3), 592S-599S.
- Callanan, M., & Ross, R. (2004). Starter cultures: genetics. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 4, 149-161.
- Candioti, M. C., Bergamini, C. V., Palma, S. B., Buseti, M., Meinardi, C. A., & Zalazar, C. A. (2010). Characterisation of proteolysis profile of Argentinean sheep cheeses made by two different production methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 36-42.
- Cantor, M., van den Tempel, T., Hansen, T., Ardö, Y., Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., & Guinee, T. (2004). Cheese: chemistry, physics and microbiology. *Major Cheese Groups*, 2, 175-198.

- Casey, M. G., Häni, J. P., Gruskovnjak, J., Schaeren, W., & Wechsler, D. (2006). Characterisation of the non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) of Gruyère PDO cheese. *Le Lait*, 86(6), 407-414.
- Castillo, M., Payne, F., Hicks, C., & Lopez, M. (2000). Predicting cutting and clotting time of coagulating goat's milk using diffuse reflectance: effect of pH, temperature and enzyme concentration. *International Dairy Journal*, 10(8), 551-562.
- Castro-González, N. P., Pérez-Sato, M., Soni-Guillermo, E., Edgar, V.-F., Martín, C.-V., & Francisco, C.-S. (2022). Nitric acid and hydrogen peroxide in milk and cheese digestion for the detection of metals. *Agroproductividad*, 15(4).
- Cavalli, S. V., Lufrano, D., Colombo, M. L., & Priolo, N. (2013). Properties and applications of phytepsins from thistle flowers. *Phytochemistry*, 92, 16-32.
- Cavicchioli, V., Camargo, A., Todorov, S., & Nero, L. (2017). Novel bacteriocinogenic *Enterococcus hirae* and *Pediococcus pentosaceus* strains with antilisterial activity isolated from Brazilian artisanal cheese. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 2526-2535.
- Cayot, P., & Lorient, D. (1998). Quelques propriétés fonctionnelles des protéines laitières en structures et technofonctions des protéines de lait, Technique et Documentation, Lavoisier. Paris. France, 209-337.
- Çelebi, M., & Şimşek, B. (2015). Effects of different coagulant enzymes used on quality of traditional Örgü cheese (Braided cheese). *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 65(1), 57-65.
- Çetinkaya, A., Akbaba, G. B., Özçakmak, S., & Gülbaz, G. (2016). Mineral and Heavy Metal Content in Cami Bogazi cheese on sale in TRABZON, TURKEY. *GIDA/The Journal of FOOD*, 41(5).
- Çetinkaya, A., & Oz, F. (2018). Changes in cholesterol and free fatty acid content of Kars Gravyer Cheese (A Turkish dairy product produced by the traditional method). *Ukrainian food journal*(7, Issue 3), 409-420.
- Chen, J., & Liu, H. (2020). Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5695.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., & Lamberet, G. (2003). A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1751-1770.
- Christophoridis, C., Kosma, A., Evgenakis, E., Bourliva, A., & Fytianos, K. (2019). Determination of heavy metals and health risk assessment of cheese products consumed in Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82, 103238.
- Cichoski, A. J., Valduga, E., Valduga, A. T., Tornadijo, M. a. E., & Fresno, J. M. (2002). Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. *Food Control*, 13(4-5), 329-336.
- Claverie-Martín, F., & Vega-Hernández, M. C. (2007). Aspartic proteases used in cheese making. In *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications* (pp. 207-219). Springer.
- Cogan, T., Beresford, T., Steele, J., Broadbent, J., Shah, N., & Ustunol, Z. (2007). Invited review: Advances in starter cultures and cultured foods. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4005-4021.
- Cogan, T. M., & Beresford, T. P. (2002). Microbiology of hard cheese. *Dairy Microbiology Handbook: the microbiology of milk and milk products*(Ed. 3), 515-560.
- Commission Européenne. (2005). Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on Microbiological Criteria for Foodstuffs, Official Journal of The European Union, L338/1–26.
- Commission Européenne. (2007). Commission Regulation (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 322, 12-29.

- Conolly, J., Manning, K., Colledge, S., Dobney, K., & Shennan, S. (2012). Species distribution modelling of ancient cattle from early Neolithic sites in SW Asia and Europe. *The Holocene*, 22(9), 997-1010.
- Contesini, F. J., Melo, R. R. d., & Sato, H. H. (2018). An overview of Bacillus proteases: from production to application. *Critical reviews in biotechnology*, 38(3), 321-334.
- Cooney, S., Tiernan, D., Joyce, Patrk, & Kelly, A. L. (2000). Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type cheese. *Journal of Dairy Research*, 67(2), 301-307.
- Copley, M., Berstan, R., Mukherjee, A., Dudd, S. N., Straker, V., Payne, S., & Evershed, R. P. (2005). Dairying in antiquity. III. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Neolithic. *Journal of Archaeological Science*, 32(4), 523-546.
- Corredig, M., & Salvatore, E. (2016). Enzymatic coagulation of milk. In *Advanced dairy chemistry: volume 1b: proteins: applied aspects* (pp. 287-307). Springer.
- Coulombe, R., Grochulski, P., Sivaraman, J., Menard, R., Mort, J., & Cygler, M. (1996). Structure of human procathepsin L reveals the molecular basis of inhibition by the prosegment. *The EMBO journal*, 15(20), 5492-5503.
- Cruciata, M., Sannino, C., Ercolini, D., Scatassa, M. L., De Filippis, F., Mancuso, I., La Storia, A., Moschetti, G., & Settanni, L. (2014). Animal rennets as sources of dairy lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 80(7), 2050-2061.
- Cruz, A. G., Faria, J. A., Pollonio, M. A., Bolini, H. M., Celeghini, R. M., Granato, D., & Shah, N. P. (2011). Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 276-291.
- Cstorner, A., & Ménard, R. (1994). [33] Catalytic mechanism in papain family of cysteine peptidases. In *Methods in enzymology* (Vol. 244, pp. 486-500). Elsevier.
- Czumaj, A., & Śledziński, T. (2020). Biological role of unsaturated fatty acid desaturases in health and disease. *Nutrients*, 12(2), 356.
- Czyżak-Runowska, G., Wójtowski, J. A., Gogół, D., Wojtczak, J., Skrzypczak, E., & Stanisławski, D. (2020). Properties of rennet cheese made from whole and skimmed summer and winter milk on a traditional polish dairy farm. *Animals*, 10(10), 1794.
- D'Incecco, P., Rosi, V., Cabassi, G., Hogenboom, J., & Pellegrino, L. (2018). Microfiltration and ultra-high-pressure homogenization for extending the shelf-storage stability of UHT milk. *Food Research International*, 107, 477-485.
- da Silva Santos, D., de Andrade Calaça, P. R., Porto, A. L. F., de Souza, P. R. E., & Cavalcanti, M. T. H. (2019). Caracterização parcial probiótica e molecular de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de coalho da cidade de Arcoverde–Pernambuco. *Iniciação Científica Cesumar*, 21(1), 7-14.
- Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015). La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique Science*, 11(6), 1-13.
- Dalgleish, D. G., & Corredig, M. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annual review of food science and technology*, 3, 449-467.
- De La Fuente, M. A., Carazo, B., & Juárez, M. (1997). Determination of major minerals in dairy products digested in closed vessels using microwave heating. *Journal of Dairy Science*, 80(5), 806-811.
- de la Haba Ruiz, M. A. (2017). *Caracterización físico-química y sensorial de los quesos artesanos andaluces* Tesis de Doctorado. Universidad de Cordoba].
- de la Haba Ruiz, M. A., Ruiz Pérez-Cacho, P., Dios Palomares, R., & Galán-Soldevilla, H. (2016). Classification of artisanal Andalusian cheeses on physicochemical parameters applying multivariate statistical techniques. *Dairy Science & Technology*, 96, 95-106.

- De Marchi, M., Bittante, G., Dal Zotto, R., Dalvit, C., & Cassandro, M. (2008). Effect of Holstein Friesian and Brown Swiss breeds on quality of milk and cheese. *Journal of Dairy Science*, *91*(10), 4092-4102.
- de Medeiros Carvalho, M., de Fariña, L. O., Strongin, D., Ferreira, C. L. L., & Lindner, J. D. D. (2019). Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk. *Journal of Dairy Science*, *102*(11), 9711-9720.
- Derouiche, M., & Zidoune, M. (2015). Caractérisation d'un fromage traditionnel, le Michouna de la région de Tébessa, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*, *27*(11), 229.
- Derouiche, N., Medjouj, H., Aissaoui-Zitoune, W., & Zidoune, M. (2017). Some traditional cheeses manufactured in Algeria. *Cheese Production, Consumption and Health Benefits. New York: Food Science and Technology, Nova Science Publisher*, 225-242.
- Deshwal, G. K., Gómez-Mascaraque, L. G., Fenelon, M., & Huppertz, T. (2023). Determination of Minerals in Soft and Hard Cheese Varieties by ICP-OES: A Comparison of Digestion Methods. *Molecules*, *28*(10), 3988.
- Dolci, P., Alessandria, V., Rantsiou, K., Bertolino, M., & Coccolin, L. (2010). Microbial diversity, dynamics and activity throughout manufacturing and ripening of Castelmagno PDO cheese. *International Journal of Food Microbiology*, *143*(1-2), 71-75.
- Domingos-Lopes, M., Stanton, C., Ross, P., Dapkevicius, M., & Silva, C. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, *63*, 178-190.
- Domingos, A., Cardoso, P. C., Xue, Z. t., Clemente, A., Brodelius, P. E., & Pais, M. S. (2000). Purification, cloning and autoproteolytic processing of an aspartic proteinase from *Centaurea calcitrapa*. *European journal of biochemistry*, *267*(23), 6824-6831.
- Donnelly, C. (2018). Review of controls for pathogen risks in Scottish artisan cheeses made from unpasteurised milk. *Food Standards Scotland*, *4*.
- Dopieralska, P., Barłowska, J., Teter, A., Król, J., Brodziak, A., & Domaradzki, P. (2020). Changes in fatty acid and volatile compound profiles during storage of smoked cheese made from the Milk of native polish cow breeds raised in the low Beskids. *Animals*, *10*(11), 2103.
- Drøhse, H. B., & Foltmann, B. (1989). Specificity of milk-clotting enzymes towards bovine κ -casein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, *995*(3), 221-224.
- Duarte, A. R., Duarte, D. M. R., Moreira, K. A., Cavalcanti, M. T. H., Lima-Filho, J. L. d., & Porto, A. L. F. (2009). *Jacaratia corumbensis* O. Kuntze a new vegetable source for milk-clotting enzymes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *52*, 1-9.
- Duarte, R. V., Casal, S., Gomes, A. M., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2022). Evaluation of cow's and goat's fresh cheese preservation under hyperbaric storage at room temperature up to 60 days versus refrigeration regarding nutritional and physicochemical parameters.
- Đurović, A. D., Kravić, S. Ž., Stojanović, Z. S., Iličić, M. D., Kanurić, K. G., Vukić, D. V., Vukić, V. R., Degenek, J. Đ., & Ćurić, K. S. (2022). Assessment of nutritional quality of cheeses and cheese analogues on the market of the Republic of Serbia. *Acta Periodica Technologica*(53), 100-108.
- Ebrahimi, M., Sadeghi, A., & Mortazavi, S. A. (2020). The use of cyclic dipeptide producing LAB with potent anti-aflatoxigenic capability to improve techno-functional properties of clean-label bread. *Annals of microbiology*, *70*(1), 1-12.
- Egito, A., Girardet, J.-M., Laguna, L., Poirson, C., Mollé, D., Miclo, L., Humbert, G., & Gaillard, J.-L. (2007). Milk-clotting activity of enzyme extracts from sunflower and

- albizia seeds and specific hydrolysis of bovine κ -casein. *International Dairy Journal*, 17(7), 816-825.
- El-Galeel, A., Ali, A., & El-Zawahry, A. (2017). Changes in physico chemical characteristics, proteolysis and organoleptic properties of edam cheese made with added aqueous extract of cardoon (*Cynara cardunculus*) and ginger (*Zingiber officinale*) during ripening. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 44(5), 1797-1808.
- El-Loly, M. M., Mohamed, A. G., & Farahat, E. S. (2022). Innovative vegetables-processed cheese: II. high nutritional and functional attributes. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 5(1), 13-32.
- El-Salam, B. A. E.-Y. A., Ahmed, M. S., Yasser, M. M., & Taha, S. S. E.-D. (2019). Soft white cheese ripening using bacterial protease enzyme. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18(4), 385-397.
- EL-Taweel, H., EL-Sisi, A. S., & Mailam, M. A. (2017). Improving functional properties of Kareish cheese by adding low sodium salt and dried parsley. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 95(3), 1179-1191.
- El Marnissi, B., Belkhou, R., & Bennani, L. (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les technologies de laboratoire*, 8(33).
- Elkholy, A. (2015). Ras Cheese Making with Vegetable Coagulant -a Comparison with Calf Rennet. 10, 82-89. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjdfs.2015.10.1.95110>
- Englund, R. K. (1991). Archaic dairy metrology. *Iraq*, 53, 101-104.
- Englund, R. K. (1995). Late Uruk period cattle and dairy products: Evidence from proto-cuneiform sources. *Bulletin of Sumerian Agriculture*, 8(2), 33-48.
- Etayo, I., Elortondo, F. J. P., Gil, P. F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., Barron, L. J. R., Nájera, A. I., Gómez-Hidalgo, M. E., & Delgado, C. (2006). Hygienic quality, lipolysis and sensory properties of Spanish protected designation of origin ewe's milk cheeses manufactured with lamb rennet paste. *Le Lait*, 86(6), 415-434.
- Evershed, R. P., Payne, S., Sherratt, A. G., Copley, M. S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan, A. E., & Nieuwenhuyse, O. (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, 455(7212), 528-531.
- Fagan, C. C., O'Callaghan, D. J., Mateo, M. J., & Dejmek, P. (2017). The syneresis of rennet-coagulated curd. In *Cheese* (pp. 145-177). Elsevier.
- Faheem, M., Martins-de-Sa, D., Vidal, J. F., Álvares, A. C., Brandão-Neto, J., Bird, L. E., Tully, M. D., von Delft, F., Souto, B. M., & Quirino, B. F. (2016). Functional and structural characterization of a novel putative cysteine protease cell wall-modifying multi-domain enzyme selected from a microbial metagenome. *Scientific reports*, 6(1), 38031.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologiques*, 331(5), 372-379.
- Fallico, V., McSweeney, P., Siebert, K., Horne, J., Carpino, S., & Licitra, G. (2004). Chemometric analysis of proteolysis during ripening of Ragusano cheese. *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3138-3152.
- Farrell Jr, H., Jimenez-Flores, R., Bleck, G., Brown, E., Butler, J., Creamer, L., Hicks, C., Hollar, C., Ng-Kwai-Hang, K., & Swaisgood, H. (2004). Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1641-1674.
- Fernández-García, E., Carbonell, M., Calzada, J., & Nuñez, M. (2006). Seasonal variation of the free fatty acids contents of Spanish ovine milk cheeses protected by a designation of origin: A comparative study. *International Dairy Journal*, 16(3), 252-261.
- Fernández-Salguero, J., & Sanjuán, E. (1999). Influence of vegetable and animal rennet on proteolysis during ripening in ewes' milk cheese. *Food Chemistry*, 64(2), 177-183.

- Fernandez, B., Vimont, A., Desfossés-Foucault, É., Daga, M., Arora, G., & Fliss, I. (2017). Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. *Food Control*, 78, 350-356.
- Ferreira, T. G. (2011). *Optimization of coagulation and syneresis processes in cheesemaking using a light backscatter sensor technology* [University of Kentucky Libraries].
- Fidan, H., Esatbeyoglu, T., Simat, V., Trif, M., Tabanelli, G., Kostka, T., Montanari, C., Ibrahim, S. A., & Özogul, F. (2022). Recent developments of lactic acid bacteria and their metabolites on foodborne pathogens and spoilage bacteria: Facts and gaps. *Food Bioscience*, 47, 101741.
- Flamm, E. L. (1991). How FDA approved chymosin: a case history. *Bio/Technology*, 9(4), 349-351.
- Fogeiro, É., Barracosa, P., Oliveira, J., & Wessel, D. F. (2020). Influence of cardoon flower (*Cynara cardunculus* L.) and flock lactation stage in PDO Serra da Estrela Cheese. *Foods*, 9(4), 386.
- Food, I., & Board, N. (2002). Dietary reference intakes: Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, DC: National Academy Press.[PubMed].
- Food, U., & Administration, D. (2001). Evaluation and definition of potentially hazardous foods, chapter 3: Factors that influence microbial growth. In.
- Formaggioni, P., Summer, A., Malacarne, M., Franceschi, P., & Mucchetti, G. (2015). Italian and Italian-style hard cooked cheeses: Predictive formulas for Parmigiano-Reggiano 24-h cheese yield. *International Dairy Journal*, 51, 52-58.
- Forsythe, S. J. (2013). *Microbiologia da segurança dos alimentos*. Artmed Editora.
- Fox, P. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1379-1400.
- Fox, P. (2003). Milk proteins: general and historical aspects. In *Advanced dairy chemistry—1 proteins: Part a/part B* (pp. 1-48). Springer.
- Fox, P., & McSweeney, P. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*, 12(4), 457-509.
- Fox, P., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P., O'Mahony, J., Fox, P., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P., & O'Mahony, J. (2015). Chemistry and biochemistry of cheese. *Dairy chemistry and biochemistry*, 499-546.
- Fox, P. F., & Guinee, T. P. (2013). Cheese science and technology. *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*, 357-389.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science* (Vol. 1). Springer.
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (2017). Cheese: an overview. *Cheese*, 5-21.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2004). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology, Volume 1: General aspects*. Elsevier.
- Fox, P. F., Mcsweeney, P. L., & Paul, L. (1998). Dairy chemistry and biochemistry.
- Franceschi, P., Malacarne, M., Faccia, M., Rossoni, A., Santus, E., Formaggioni, P., & Summer, A. (2020). New Insights in Cheese Yield Capacity of the Milk of Italian Brown and Italian Friesian Cattle in the Production of High-Moisture Mozzarella. *Food Technology and Biotechnology*, 58(1), 91-97.
- Franco, I., Prieto, B., Urdiales, R., Fresno, J., & Carballo, J. (2001). Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Aliva cheese: a Spanish traditional variety. *Food Chemistry*, 74(4), 463-469.
- Frederiksen, P., Andersen, K., Hammershøj, M., Poulsen, H., Sørensen, J., Bakman, M., Qvist, K., & Larsen, L. (2011). Composition and effect of blending of noncoagulating, poorly coagulating, and well-coagulating bovine milk from individual Danish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94(10), 4787-4799.

- Freitas, R., Silvestro, S., Coppola, F., Meucci, V., Battaglia, F., Intorre, L., Soares, A. M., Pretti, C., & Faggio, C. (2019). Biochemical and physiological responses induced in *Mytilus galloprovincialis* after a chronic exposure to salicylic acid. *Aquatic toxicology*, *214*, 105258.
- Funck, G. D., Hermanns, G., Vicenzi, R., Schmidt, J. T., Richards, N. S. P. d. S., Silva, W. P. d., & Fiorentini, Â. M. (2015). Microbiological and physicochemical characterization of the raw milk and the colonial type cheese from the Northwestern Frontier region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 247-257.
- Gagnaire, V., Mollé, D., Herrouin, M., & Léonil, J. (2001). Peptides identified during Emmental cheese ripening: origin and proteolytic systems involved. *Journal of agricultural and food chemistry*, *49*(9), 4402-4413.
- Gai, N., Uniacke-Lowe, T., O'Regan, J., Faulkner, H., & Kelly, A. L. (2021). Effect of Protein Genotypes on Physicochemical Properties and Protein Functionality of Bovine Milk: A Review. *Foods*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/foods10102409>
- Galán, E., Prados, F., Pino, A., Tejada, L., & Fernández-Salguero, J. (2008). Influence of different amounts of vegetable coagulant from cardoon *Cynara cardunculus* and calf rennet on the proteolysis and sensory characteristics of cheeses made with sheep milk. *International Dairy Journal*, *18*(1), 93-98.
- Gambra, R., Peñagaricano, F., Kropp, J., Khateeb, K., Weigel, K., Lucey, J., & Khatib, H. (2013). Genomic architecture of bovine κ -casein and β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, *96*(8), 5333-5343.
- García, V., Rovira, S., Teruel, R., Boutoial, K., Rodriguez, J. L., Roa, I., & López, M. B. (2012). Effect of vegetable coagulant, microbial coagulant and calf rennet on physicochemical, proteolysis, sensory and texture profiles of fresh goats cheese. *Dairy Science & Technology*, *92*, 691-707.
- Garnier, L., Penland, M., Thierry, A., Maillard, M.-B., Jardin, J., Coton, M., Salas, M. L., Coton, E., Valence, F., & Mounier, J. (2020). Antifungal activity of fermented dairy ingredients: Identification of antifungal compounds. *International Journal of Food Microbiology*, *322*, 108574.
- Gatti, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E., & Mucchetti, G. (2014). Invited review: Microbial evolution in raw-milk, long-ripened cheeses produced using undefined natural whey starters. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 573-591.
- Gatzias, I., Karabagias, I., Kontominas, M., & Badeka, A. (2020). Geographical differentiation of feta cheese from northern Greece based on physicochemical parameters, volatile compounds and fatty acids. *Lwt*, *131*, 109615.
- Gaviao, E. R., Munieweg, F. R., Czarnobay, M., Dilda, A., STEFANI, L. d. C. M., & Nespolo, C. R. (2020). Development and characterization of two novel formulations of Labneh cheese of sheep's milk. *Food Science and Technology*, *41*, 708-715.
- Geronikou, A., Srimahaeak, T., Rantsiou, K., Triantafillidis, G., Larsen, N., & Jespersen, L. (2020). Occurrence of yeasts in white-brined cheeses: Methodologies for identification, spoilage potential and good manufacturing practices. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 582778.
- Gil, P. F., Conde, S., Albisu, M., Pérez-Elortondo, F. J., Etayo, I., Virto, M., & de Renobales, M. (2007). Hygienic quality of ewes' milk cheeses manufactured with artisan-produced lamb rennet pastes. *Journal of Dairy Research*, *74*(3), 329-335.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L., & Fox, P. F. (2015). Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends in Food Science & Technology*, *45*(2), 167-178.
- Gomes, S., Belo, A. T., Alvarenga, N., Dias, J., Lage, P., Pinheiro, C., Pinto-Cruz, C., Brás, T., Duarte, M. F., & Martins, A. P. (2019). Characterization of *Cynara cardunculus* L. flower from Alentejo as a coagulant agent for cheesemaking. *International Dairy Journal*, *91*, 178-184.

- Gómez-Cortés, P., Juárez, M., & de la Fuente, M. A. (2018). Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. *Trends in Food Science & Technology*, *81*, 1-9.
- Gonçalves, M. T. P., Benito, M. J., Córdoba, M. d. G., Egas, C., Merchán, A. V., Galván, A. I., & Ruiz-Moyano, S. (2018). Bacterial communities in Serpa cheese by culture dependent techniques, 16S rRNA gene sequencing and high-throughput sequencing analysis. *Journal of food science*, *83*(5), 1333-1341.
- González-Martín, I., Hernández-Hierro, J., Vivar-Quintana, A., Revilla, I., & González-Pérez, C. (2009). The application of near infrared spectroscopy technology and a remote reflectance fibre-optic probe for the determination of peptides in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times. *Food Chemistry*, *114*(4), 1564-1569.
- Gonzalez-Rabade, N., Badillo-Corona, J. A., Aranda-Barradas, J. S., & del Carmen Oliver-Salvador, M. (2011). Production of plant proteases in vivo and in vitro—a review. *Biotechnology advances*, *29*(6), 983-996.
- Gordon, I. (2014). Minerals and vitamins in milk and dairy products. *Milk and Dairy Products as Functional Foods*, 289-313.
- Gore, E., Mardon, J., Cécile, B., & Lebecque, A. (2019). Calcium lactate as an attractive compound to partly replace salt in blue-veined cheese. *Journal of Dairy Science*, *102*(1), 1-13.
- Gorostiza, A., Cichoski, A. J., Valduga, A. T., Valduga, E., Bernardo, A., & Fresno, J. M. (2004). Changes in soluble nitrogenous compounds, caseins and free amino acids during ripening of artisanal prato cheese; a Brazilian semi-hard cows variety. *Food Chemistry*, *85*(3), 407-414.
- Gouin, P. (1997). Ancient oriental dairy techniques derived from archaeological evidence. *Food and Foodways*, *7*(3), 157-188.
- Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L., & Lacroix, C. (2008). Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Science and Technology*, *88*(4-5), 421-444.
- Green, M. L., & Grandison, A. S. (1993). Secondary (non-enzymatic) phase of rennet coagulation and post-coagulation phenomena. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Volume 1 General Aspects* (pp. 101-140). Springer.
- Green, M. W. (1980). Animal husbandry at Uruk in the Archaic period. *Journal of Near Eastern Studies*, *39*(1), 1-35.
- Guggisberg, D., Loosli, S., Blaser, C., Badertscher, R., & Schmidt, R. (2022). Impact of cheese milk cold storage on milk coagulation properties, calcium contents, and cheese yield. *International Dairy Journal*, *134*, 105465.
- Guiné, R., Tenreiro, M., Correia, P., Barracosa, P., & Correia, A. C. (2015). Effect of Thistle Ecotype in the physical-chemical and sensorial properties of Serra da Estrela cheese. *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*, *9*, 290-294.
- Guinee, T. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, *57*(2-3), 99-109.
- Guinee, T., & McSweeney, P. (2006). Significance of milk fat in cheese. In *Advanced dairy chemistry volume 2 lipids* (pp. 377-440). Springer.
- Guiraud, J.-P., & Rosec, J.-P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire* (Vol. 300). Afnor.
- Guiraud, J. (2003). Microbiologie alimentaire; Application à l'étude des principaux groupes microbiens. *Food Microbiology*.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2002). *Cheese rheology and texture*. CRC press.
- Gürsoy, O., Rabia, F., Kocatürk, K., Esgin, G., & Yilmaz, Y. (2021). Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of cheeses produced with goat milk. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, *27*(7), 835-841.

- Gutiérrez-Peña, R., Avilés, C., Galán-Soldevilla, H., Polvillo, O., Ruiz Pérez-Cacho, P., Guzmán, J. L., Horcada, A., & Delgado-Pertíñez, M. (2021). Physicochemical composition, antioxidant status, fatty acid profile, and volatile compounds of milk and fresh and ripened ewes' cheese from a sustainable part-time grazing system. *Foods*, *10*(1), 80.
- György, É., & Laslo, É. (2021). Microbial diversity of traditionally processed cheese from Northeastern Region of Transylvania (Romania). *Fermentation-Processes, Benefits and Risks*, 103.
- Hailu, Y., Seifu, E., & Yilma, Z. (2014). Physicochemical properties and consumer acceptability of soft unripened cheese made from camel milk using crude extract of ginger (*Zingiber officinale*) as coagulant. *African Journal of Food Science*, *8*(2), 87-91.
- Hammad, A. M., Eltahan, A., Hassan, H. A., Abbas, N. H., Hussien, H., & Shimamoto, T. (2022). Loads of coliforms and fecal coliforms and characterization of thermotolerant *Escherichia coli* in fresh raw milk cheese. *Foods*, *11*(3), 332.
- Hanuš, O., Samková, E., Křížová, L., Hasoňová, L., & Kala, R. (2018). Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability—a review. *Molecules*, *23*(7), 1636.
- Harboe, M., Broe, M., & Qvist, K. (2010). The production, action and application of rennet and coagulants. *Technology of cheesemaking*, 98-129.
- Hashem, A. M. (2000). Purification and properties of a milk-clotting enzyme produced by *Penicillium oxalicum*. *Bioresource Technology*, *75*(3), 219-222.
- Hashim, M. M., Dong, M., Iqbal, M. F., Li, W., & Chen, X. (2011). Ginger protease used as coagulant enhances the proteolysis and sensory quality of Peshawari cheese compared to calf rennet. *Dairy Science & Technology*, *91*, 431-440.
- Hassan, Z., & Aita, O. (2011). Effect of the calf rennet paste on some physiochemical and microbiological properties of buffalo's pickled soft cheese. *Journal of Food and Dairy Sciences*, *2*(1), 1-11.
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, *6*(1), 1-16.
- Hayaloglu, A., Brechany, E., Deegan, K., & McSweeney, P. (2008). Characterization of the chemistry, biochemistry and volatile profile of Kuflu cheese, a mould-ripened variety. *LWT-Food Science and Technology*, *41*(7), 1323-1334.
- Hayaloglu, A., Guven, M., & Fox, P. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal*, *12*(8), 635-648.
- Hayaloglu, A. A. (2016). Cheese: Microbiology of cheese. *Reference module in food science*, *1*, 1-11.
- Hayaloglu, A. A. (2017). Cheese varieties ripened under brine. In *Cheese* (pp. 997-1040). Elsevier.
- He, X., Ren, F., Guo, H., Zhang, W., Song, X., & Gan, B. (2011). Purification and properties of a milk-clotting enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* D4. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *28*, 203-208.
- Helmer, D., Gourichon, L., & Vila, E. (2007). The development of the exploitation of products from *Capra* and *Ovis* (meat, milk and fleece) from the PPNB to the Early Bronze in the northern Near East (8700 to 2000 BC cal.). *Anthropozoologica*, *42*(2), 41-69.
- Henning, D., Baer, R., Hassan, A., & Dave, R. (2006). Major advances in concentrated and dry milk products, cheese, and milk fat-based spreads. *Journal of Dairy Science*, *89*(4), 1179-1188.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., & Janke, A. (2002). Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for

- domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269(1494), 893-904.
- Hill, A., & Ferrer, M. A. (2021). Culture and Rennet Activity Tests. *Cheese Making Technology e-Book*.
- Hirigoyen, D., De Los Santos, R., Calvo, M., González-Revello, A., & Constantin, M. (2018). Chemical composition and seasonal changes in the fatty acid profile of Uruguayan “Colonia” Cheeses. *Grasas y aceites*, 69(2), e254-e254.
- Holub, D. J., & Holub, B. J. (2004). Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and cellular biochemistry*, 263, 217-225.
- Horne, D. S. (2020). Casein micelle structure and stability. In *Milk proteins* (pp. 213-250). Elsevier.
- Horne, D. S., & Lucey, J. A. (2017). Rennet-induced coagulation of milk. *Cheese*, 115-143.
- Hovjecki, M., Miloradovic, Z., Barukčić, I., Blažić, M., & Miocinovic, J. (2022). Rheological properties of goat milk coagulation as affected by rennet concentration, pH and temperature. *Fermentation*, 8(6), 291.
- Hrković-Porobija, A., Hodžić, A., Ohran, H., Hadžimusić, N., Batinić, V., Tahirović, D., Softić, A., Velić, L., & Kustura, A. (2021). Mineral elements in sheep cheese. *Veterinarska stanica*, 52(2), 185-192.
- Huppertz, T., Upadhyay, V., Kelly, A., & Tamime, A. (2006). Constituents and properties of milk from different species. *Brined cheeses*, 1-42.
- Ibhaze, G. (2018). Comparative evaluation of nutritional quality of soft cheese made from four plant sources. *Thai Journal of Agricultural Science*, 51(3), 118– 124-118– 124.
- Ibrahim, S. A., & El Zubeir, I. E. (2016). Processing, composition and sensory characteristic of yoghurt made from camel milk and camel–sheep milk mixtures. *Small Ruminant Research*, 136, 109-112.
- Ibrahim, G. A., Sharaf, O. M., & El-Khalek, A. (2015). Microbiological quality of commercial raw milk, domiati cheese and kareish cheese. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5(1), 171-176.
- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., & Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, 10(12), 3131.
- IDF. (2002). Milk Fat—Determination of the Fatty Acid Composition by Gas-Liquid Chromatography. In: International Dairy Federation Brussels.
- IDF. (2007). Milk and Milk Products: Determination of Calcium, Sodium, Potassium and Magnesium Contents (Atomic Absorption Spectrometric Method). In: International Dairy Federation Brussels.
- Institute de Medcine. (2011). Institute of Medicine committee on the Robert Wood Johnson Foundation initiative on the future of nursing, at the Institute of Medicine. In the future of nursing: Leading change, advancing health.
- Ioannidou, M. D., Maggira, M., & Samouris, G. (2022). Physicochemical characteristics, fatty acids profile and lipid oxidation during ripening of graviera cheese produced with raw and pasteurized milk. *Foods*, 11(14), 2138.
- Irlinger, F., & Mounier, J. (2009). Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(2), 142-148.
- Islam, M. (2006). Shelf-life of cheese as affected by salt content with particular reference to mozzarella cheese. *MSc. Bangladesh Agricultural Univ., Bangladesh*.
- Islam, M., Basunia, M., Rahman, A., Bari, M., Rahman, M., Mannan, M., & Datta, T. (2021). Effect of coagulants on the chemical and microbial quality of fresh cheese. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 50(2), 73-79.
- ISO. (2004). Cheese and processed cheese—determination of the total solids content (Reference method). ISO 5534: 2004 (IDF 4: 2004). In: International Standardization Organization Geneva.

- ISO. (2008a). 3433 Cheese-Determination of Fat Content—Van Gulik Method. *International Organization for Standardization*.
- ISO. (2008b). Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds—Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0, 95. ISO 21527-1: 2008.
- ISO. (2013). International Standard Organization, 4833-1: 2013. Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. In.
- ISO. (2017). ISO 18787: 2017. Foodstuffs—Determination of Water Activity. In: ISO Geneva, Switzerland.
- ISO. (2021). *ISO 6888-2: 2021 Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and Other Species).—Part 2: Method Using Rabbit Plasma Fibrinogen Agar Medium. International Organization for Standardization (ISO): Geneva, Switzerland, 2021.* International Organization for Standardization.
- ISO, E. (2014). ISO 8968-1: 2014 (IDF 20-1: 2014) Milk and milk products: Determination of nitrogen content-Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. *Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization*, 1-18.
- ISO, I. (2002). Milk fat-Preparation of fatty acid methyl esters. *International Organization for Standardization ISO*.
- Ivanova, A., & Hadzhinikolova, L. (2015). Evaluation of nutritional quality of common carp (*Cyprinus carpio* L.) lipids through fatty acid ratios and lipid indices. *Bulg. J. Agric. Sci*, 21, 180-185.
- Jakobsen, M. U., O'Reilly, E. J., Heitmann, B. L., Pereira, M. A., Bälter, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Hallmans, G., Knekt, P., & Liu, S. (2009). Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *The American journal of clinical nutrition*, 89(5), 1425-1432.
- James, S., Nwokocho, L., Tsebam, B., Amuga, S., Ibrahim, A., & Audu, Y. (2016). Effects of different coagulants on the physico-chemical, microbial and sensory properties of Wara, a Nigerian soft soy-cheese. *Agro-Science*, 15(3), 41-45.
- Jay, J. (2000). Indicators of food safety and quality, principles of quality control, and microbial criteria. *Modern Food Microbiology, 6th ed.; Jay, JM, Ed.; Aspen Publishers, Inc.: Gaithersburg, MD, USA*, 384-402.
- Jaya Shankar, T. (2023). Introductory Chapter: Food Processing, Preservation, and Packaging – A Brief Overview. In T. Jaya Shankar (Ed.), *Food Processing and Packaging Technologies* (pp. Ch. 1). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.110229>
- Jeanet, R., Croguennec, T., Schuch, P., & Brule, G. (2007). Science des aliments: Biochimie-Microbiologie-Procédés-Produits, Vol 2: Technologie des produits alimentaires, Tech & Doc, Paris. In: P.
- Jenkins, B., West, J. A., & Koulman, A. (2015). A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic acid (C15: 0) and heptadecanoic acid (C17: 0) in health and disease. *Molecules*, 20(2), 2425-2444.
- Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1968– 1979. *Journal of Dairy Science* 63(10), 1605-1630.
- Jensen, H., Holland, J., Poulsen, N., & Larsen, L. (2012). Milk protein genetic variants and isoforms identified in bovine milk representing extremes in coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2891-2903.
- Jiménez-Cepeda, A., Dávila-Said, G., Orea-Tejeda, A., González-Islas, D., Elizondo-Montes, M., Pérez-Cortes, G., Keirns-Davies, C., Castillo-Aguilar, L. F., Verdeja-Vendrell, L., & Peláez-Hernández, V. (2019). Dietary intake of fatty acids and its relationship with FEV1/FVC in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical nutrition ESPEN*, 29, 92-96.

- Johnson, M. E. (2001). Cheese products. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 345-384.
- Jõudu, I., Henno, M., & Värv, S. (2007). Milk protein genotypes and milk coagulation properties of Estonian native cattle. *Agricultural and Food Science*, 16(3), 222-231.
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. (2022). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties. *Foods*, 11(2), 156.
- Kajak-Siemaszko, K., Zielińska, D., Łepecka, A., Jaworska, D., Okoń, A., Neffe-Skocińska, K., Trzaskowska, M., Sionek, B., Szymański, P., & Dolatowski, Z. J. (2022). Effect of Lactic Acid Bacteria on Nutritional and Sensory Quality of Goat Organic Acid-Rennet Cheeses. *Applied Sciences*, 12(17), 8855.
- Kalaycı, N., Ürkek, B., Öztürk, F., Şengül, M., & Çiftçi, E. (2022). Determination of some heavy metal and mineral contents microbiological and chemical properties of Çökelek cheeses.
- Kalaydzhev, G., Balabanova, T., Ivanova, M., & Ivanov, G. (2021). Correlation between phenotypic characteristics of chemical composition and rennet coagulation of sheep milk. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering,
- Kalinova, G., Dimitrov, Z., Daskalov, H., & Mladenova, D. (2019). Seasonal differences in fatty acid content of white brine cheese offered at the Bulgarian market. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 22(1), 105-113.
- Kalit, S., Tudor Kalit, M., Dolencić Špehar, I., Salajpal, K., Samaržija, D., Anušić, J., & Rako, A. (2021). The Influence of Milk Standardization on Chemical Composition, Fat and Protein Recovery, Yield and Sensory Properties of Croatian PGI Lički Škripavac Cheese. *Foods*, 10(4), 690.
- Kamimura, B. A., Magnani, M., Luciano, W. A., Campagnollo, F. B., Pimentel, T. C., Alvarenga, V. O., Pelegriño, B. O., Cruz, A. G., & Sant'Ana, A. S. (2019). Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1636-1657.
- Kaminarides, S., Moschopoulou, E., & Karali, F. (2019). Influence of salting method on the chemical and texture characteristics of ovine Halloumi cheese. *Foods*, 8(7), 232.
- Kanekanian, A. (2014). The health benefits of bioactive compounds from milk and dairy products. *Milk and Dairy Products as Functional Foods*, 1-22.
- Karki, P. R. (2023). *Extraction, purification and utilization of proteolytic enzyme from the latex Calotropis gigantea in fresh cheese making* Department of Food Technology Central Campus of Technology Institute of ...].
- Kelleher, P., Murphy, J., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2015). Next-generation sequencing as an approach to dairy starter selection. *Dairy Science & Technology*, 95, 545-568.
- Ketto, I. A., Knutsen, T. M., Øyaas, J., Heringstad, B., Ådnøy, T., Devold, T. G., & Skeie, S. B. (2017). Effects of milk protein polymorphism and composition, casein micelle size and salt distribution on the milk coagulation properties in Norwegian Red cattle. *International Dairy Journal*, 70, 55-64.
- Khan, R. S., & Masud, T. (2013). Comparison of buffalo cottage cheese made from aqueous extract of *W ithania coagulans* with commercial calf rennet. *International Journal of Dairy Technology*, 66(3), 396-401.
- Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., & Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 343-360.
- Kheir, S. E. O., El Owni, O. A. O., & Abdalla, M. O. M. (2011). Comparison of quality of Sudanese white cheese (Gibna bayda) manufactured with *Solanum dubium* fruit extract and rennet. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(2), 106-111.
- Kholif, A. M. M., & Hamed, A. M. (2022). Evaluating Milk Coagulants from Seeds of *Solanum Elaeagnifolium* Plant against Animal and Microbial Rennet in Manufacturing White Soft Cheese. *Egyptian Journal of Food Science*, 50(2), 191-202.

- Khoualdi, G., & Zidoune, M. N. (2017). *Caractérisation du fromage traditionnel algérien* [Université Frères Mentouri-Constantine 1].
- Kilcawley, K. N., & Mannion, D. T. (2017). Free fatty acids quantification in dairy products. *IntechOpen: London, UK*, 209-220.
- Kindstedt, P. (2012). *Cheese and culture: a history of cheese and its place in western civilization*. Chelsea Green Publishing.
- Kindstedt, P. (2013). The Basics of Cheesemaking. *Microbiology Spectrum*, 1(1), 10.1128/microbiolspec.cm-0002-2012. <https://doi.org/doi:10.1128/microbiolspec.cm-0002-2012>
- Kindstedt, P. S. (2014). The basics of cheesemaking. *Cheese and microbes*, 17-38.
- Kindstedt, P. S. (2017). The history of cheese. *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, 1-19.
- Kirdar, S., & Kursun, O. (2011). Microflora and pathogen bacteria in traditional Anatolian Canak (Pan) cheese. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(19), 2511-2515.
- Kirdar, S., Ocak, E., & Köse, S. (2013). Mineral and trace metal levels of Akçakatik cheese collected from Mediterranean region-Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 25(3), 1643-1646.
- Kirin, S. (2009). Domestic fresh soft cheese from Bjelovar. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 59(2), 148-154.
- Kjellstrøm, T. T. (2017). *Dynamic modeling and optimalization of the cheese making procedure* [NTNU].
- Klir Šalavardić, Ž., Novoselec, J., Ronta, M., Čolović, D., Šperanda, M., & Antunović, Z. (2021). Fatty Acids of Semi-Hard Cheese Made from Milk of Goats Fed Diets Enriched with Extruded Linseed or Pumpkin Seed Cake. *Foods*, 11(1), 6.
- Koirala, A. (2021). *Comparative study on physico-chemical and microbiological properties of soft cheese prepared by using crude Aank (Calotropis gigantea) and jackfruit (Artocarpus heterophyllus) proteases* [Tribhuvan University Institute of Science and Technology Food Technology ...].
- Komansilan, S., Rosyidi, D., Radiati, L. E., & Purwadi, P. (2020). The effect of *Ananas comucis* Extracted Bromelain Enzyme Addition Under Different pH on the Physicochemical Properties of Cottage Cheese. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 15(1), 38-45.
- Kongo, J. (2013). Lactic Acid Bacteria as Starter-Cultures for Cheese Processing: Past. *Present and Future Developments*.
- Konno, K., Hirayama, C., Nakamura, M., Tateishi, K., Tamura, Y., Hattori, M., & Kohno, K. (2004). Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *The Plant Journal*, 37(3), 370-378.
- Kose, S., Ceylan, M. M., Altun, I., & ERIM KOSE, Y. (2021). Determination of some basic properties of traditional malatya cheese. *Food Science and Technology*, 42, e03921.
- Köse, Ş., & Ocak, E. (2019). Mineral composition of herby cheese produced from raw and pasteurized milk. *Applied Ecology & Environmental Research*, 17(3).
- Kukić, J., Popović, V., Petrović, S., Mucaji, P., Ćirić, A., Stojković, D., & Soković, M. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. *Food Chemistry*, 107(2), 861-868.
- Kumar, A., Grover, S., Sharma, J., & Batish, V. (2010). Chymosin and other milk coagulants: sources and biotechnological interventions. *Critical reviews in biotechnology*, 30(4), 243-258.
- Kurotani, K., Sato, M., Yasuda, K., Kashima, K., Tanaka, S., Hayashi, T., Shirouchi, B., Akter, S., Kashino, I., & Hayabuchi, H. (2017). Even-and odd-chain saturated fatty acids in serum phospholipids are differentially associated with adipokines. *PLoS One*, 12(5), e0178192.

- Laba, S., Arekemase, M., & Onajobi, I. (2015). Microbiological and proximate analyses of unripened cheese 'Wara' sold in Ilorin environs, Kwara State Nigeria. *J. Agric. Res. & Dev*, 14, 23-32.
- Lahsaoui, S. (2009). *Étude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel Algérien (Kilila)* Thèse de Doctorat: Science Agronomie, université de Batna (Algérie)].
- Lante, A., Lomolino, G., Cagnin, M., & Spettoli, P. (2006). Content and characterisation of minerals in milk and in Crescenza and Squacquerone Italian fresh cheeses by ICP-OES. *Food Control*, 17(3), 229-233.
- Lapointe-Vignola, C. (2002). *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Presses inter Polytechnique.
- Lawrence, R., Creamer, L., & Gilles, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70(8), 1748-1760.
- Lebedev, L., Kosogova, T., Teplyakova, T., Kriger, A., Elchaninov, V., Belov, A., & Koval, A. (2016). Study of technological properties of milk-clotting enzyme from *Irpex lacteus* (*Irpex lacteus* (fr.) fr.). *Foods and Raw materials*, 4(2), 58-65.
- Leclercq-Perlat, M.-N. (2011). Cheese| Camembert, Brie, and Related Varieties.
- Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019). Traditional dairy products in Algeria: case of Klila cheese. *Journal of Ethnic Foods*, 6(1), 1-14.
- Leksir, C., & Chemmam, M. (2015). Contribution on the characterization of klila, a traditional cheese in east of Algéria. *Livestock Research for Rural Development*, 27(5).
- Lemes, A. C., Pavón, Y., Lazzaroni, S., Rozycki, S., Brandelli, A., & Kalil, S. J. (2016). A new milk-clotting enzyme produced by *Bacillus* sp. P45 applied in cream cheese development. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 217-224.
- Levkova, V., Stafilov, T., Pacinovski, N., Bacheva, K., Mateva, N., Gjorgovska, N., Elena, E., & Kostadinov, T. (2017). The Content of macro and trace elements in curd and traditional white brined cheese. *VETERINARIJA IR ZOOTEHNIKA (Vet Med Zoot)*.
- Leyva Salas, M., Thierry, A., Lemaitre, M., Garric, G., Harel-Oger, M., Chatel, M., Le, S., Mounier, J., Valence, F., & Coton, E. (2018). Antifungal activity of lactic acid bacteria combinations in dairy mimicking models and their potential as bioprotective cultures in pilot scale applications. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1787.
- Li, B., Waldron, D. S., Tobin, J. T., Subhir, S., Kelly, A. L., & McSweeney, P. L. (2020). Evaluation of production of Cheddar cheese from micellar casein concentrate. *International Dairy Journal*, 107, 104711.
- Licitra, G. (2010). World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science & Technology*, 90(4), 357-374.
- Lindner, J. D. D., Bernini, V., De Lorentiis, A., Pecorari, A., Neviani, E., & Gatti, M. (2008). Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 511-523.
- Litopoulou-Tzanetaki, E., & Tzanetakis, N. (2011). Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 17-32.
- Liu, S., van der Schouw, Y. T., Soedamah-Muthu, S. S., Spijkerman, A. M., & Sluijs, I. (2019). Intake of dietary saturated fatty acids and risk of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands cohort: associations by types, sources of fatty acids and substitution by macronutrients. *European journal of nutrition*, 58, 1125-1136.
- Liu, X., Wu, Y., Guan, R., Jia, G., Ma, Y., & Zhang, Y. (2021). Advances in research on calf rennet substitutes and their effects on cheese quality. *Food Research International*, 149, 110704.

- Lo Piero, A. R., Puglisi, I., & Petrone, G. (2011). Characterization of the purified actinidin as a plant coagulant of bovine milk. *European Food Research and Technology*, 233, 517-524.
- Logan, A., Leis, A., Day, L., Øiseth, S. K., Puvanenthiran, A., & Augustin, M. A. (2015). Rennet gelation properties of milk: Influence of natural variation in milk fat globule size and casein micelle size. *International Dairy Journal*, 46, 71-77.
- Lopez, M., Lomholt, S., & Qvist, K. (1998). Rheological properties and cutting time of rennet gels. Effect of pH and enzyme concentration. *International Dairy Journal*, 8(4), 289-293.
- Lucey, J. (2002). Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 281-294.
- Lucey, J. (2011). Cheese| rennet-induced coagulation of milk.
- Lucey, J., & Fox, P. (1993). Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. *Journal of Dairy Science*, 76(6), 1714-1724.
- Lucey, J., Johnson, M., & Horne, D. (2003). Invited review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2725-2743.
- Lucey, J. A. (2016). Acid coagulation of milk. *Advanced dairy chemistry: volume 1b: proteins: applied aspects*, 309-328.
- Lucey, J. A. (2017). Formation, structural properties, and rheology of acid-coagulated milk gels. In *Cheese* (pp. 179-197). Elsevier.
- Luerce, T. D., Azevedo, M. S., LeBlanc, J. G., Azevedo, V., Miyoshi, A., & Pontes, D. S. (2014). Recombinant *Lactococcus lactis* fails to secrete bovine chymosin. *Bioengineered*, 5(6), 363-370. <https://doi.org/10.4161/bioe.36327>
- Macedo, I. Q., Faro, C. J., & Pires, E. M. (1996). Caseinolytic specificity of cardosin, an aspartic protease from the cardoon *Cynara cardunculus* L.: action on bovine α - and β -casein and comparison with chymosin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(1), 42-47.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Brule, G., & Schuck, P. (2003). *Productos lácteos industriales*. Acribia, Editorial, SA.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G., & Schuck, P. (2000). Les produits laitiers industriels. *Tec. et Doc. Lavoisier, Paris*, 52-55.
- Malacarne, M., Summer, A., Franceschi, P., Formaggioni, P., Pecorari, M., Panari, G., & Mariani, P. (2009). Free fatty acid profile of Parmigiano-Reggiano cheese throughout ripening: Comparison between the inner and outer regions of the wheel. *International Dairy Journal*, 19(10), 637-641.
- Manca, G., Ru, A., Siddi, G., Mocchi, A. M., Murittu, G., & De Santis, P. L. (2020). Biogenic amines content in Fiore Sardo cheese in relation to free amino acids and physicochemical characteristics. *Ital J Food Saf*, 9(1), 8457. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2020.8457>
- Mane, A., Ciocia, F., Beck, T., Lillevang, S., & McSweeney, P. L. (2019). Proteolysis in Danish blue cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 97, 191-200.
- Maniaci, G., Di Grigoli, A., Bonanno, A., Giosuè, C., Ilardi, V., & Alabiso, M. (2021). Fatty acids as biomarkers of the production season of Caciocavallo Palermitano cheese. *Animals*, 11(9), 2675.
- Manuelian, C. L., Currò, S., Penasa, M., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2017). Prediction of minerals, fatty acid composition and cholesterol content of commercial cheeses by near infrared transmittance spectroscopy. *International Dairy Journal*, 71, 107-113.
- Margalho, L. P., Kamimura, B. A., Pimentel, T. C., Balthazar, C. F., Araujo, J. V., Silva, R., Conte-Junior, C. A., Raices, R. S., Cruz, A. G., & Sant'Ana, A. S. (2021). A large survey of the fatty acid profile and gross composition of Brazilian artisanal cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101, 103955.

- Markiewicz-Kęszycka, M., Czyżak-Runowska, G., Lipińska, P., & Wójtowski, J. (2013). Fatty acid profile of milk—a review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 57(2), 135-139.
- Martín, I., Rodríguez, A., Alía, A., Martínez, R., & Córdoba, J. J. (2022). Selection and characterization of lactic acid bacteria with activity against *Listeria monocytogenes* from traditional RTE ripened foods. *Lwt*, 163, 113579.
- Martin, N. H., Trmčić, A., Hsieh, T.-H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods [Review]. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>
- Martino, C., Ianni, A., Grotta, L., Pomilio, F., & Martino, G. (2019). Influence of zinc feeding on nutritional quality, oxidative stability and volatile profile of fresh and ripened ewes' milk cheese. *Foods*, 8(12), 656.
- Maskey, B., & Shrestha, N. K. (2020). Optimization of crude papaya (*Carica papaya*) protease in soft-unripened cheese preparation. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 12(12), 1-8.
- Masotti, F., Hogenboom, J. A., Rosi, V., De Noni, I., & Pellegrino, L. (2010). Proteolysis indices related to cheese ripening and typicalness in PDO Grana Padano cheese. *International Dairy Journal*, 20(5), 352-359.
- Massouras, T., Zidou, E., Baradaki, Z., & Karela, M. (2023). Physicochemical, Microbiological and Sensory Characteristics of White Brined Cheese Ripened and Preserved in Large-Capacity Stainless Steel Tanks. *Foods*, 12(12), 2332.
- Matejčić, M., Lesueur, F., Biessy, C., Renault, A., Mebirouk, N., Yammine, S., Keski-Rahkonen, P., Li, K., Hémon, B., & Weiderpass, E. (2018). Circulating plasma phospholipid fatty acids and risk of pancreatic cancer in a large European cohort. *International journal of cancer*, 143(10), 2437-2448.
- Matera, J., Luna, A. S., Batista, D. B., Pimentel, T. C., Moraes, J., Kamimura, B. A., Ferreira, M. V. S., Silva, H. L., Mathias, S. P., & Esmerino, E. A. (2018). Brazilian cheeses: A survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Research International*, 108, 18-26.
- Mattiello, S., Caroprese, M., Crovetto, G. M., Fortina, R., Martini, A., Martini, M., Parisi, G., Russo, C., Severini, C., & Zecchini, M. (2018). Typical edible non-dairy animal products in Africa from local animal resources. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1), 202-217.
- Mayer, H. K. (1996). Electrophoretic ripening index for the evaluation of proteolysis and the deduction of the age of Parmesan cheese. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 202, 465-470.
- Mazorra-Manzano, M. A., Moreno-Hernández, J. M., Ramírez-Suarez, J. C., de Jesús Torres-Llanez, M., González-Córdova, A. F., & Vallejo-Córdoba, B. (2013). Sour orange *Citrus aurantium* L. flowers: a new vegetable source of milk-clotting proteases. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 325-330.
- McSweeney, P., Olson, N., Fox, P., Healy, A., & Højrup, P. (1993). Proteolytic specificity of plasmin on bovine α s1-Casein. *Food Biotechnology*, 7(2), 143-158.
- McSweeney, P. L. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144.
- McSweeney, P. L., Fox, P. F., Cotter, P. D., & Everett, D. W. (2017). Cheese: chemistry, physics and microbiology. (*No Title*).
- McSweeney, P. L., Ottogalli, G., & Fox, P. F. (2017). Diversity and classification of cheese varieties: an overview. *Cheese*, 781-808.
- McSweeney, P. L. H. (2007). *Cheese Problems Solved*. Elsevier Science Burlington.
- Meadows, J. R., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., & Kijas, J. W. (2007). Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics*, 175(3), 1371-1379.

- Medeiros, R., Araújo, L., Queiroga Neto, V., Andrade, P., Melo, M., & Gonçalves, M. (2016). Identification of lactic acid bacteria isolated from artisanal Coalho cheese produced in the Brazilian Northeast. *CyTA-Journal of Food*, 14(4), 613-620.
- Medjoudj, H., Aouar, L., Derouiche, M., Choiset, Y., Haertlé, T., Chobert, J.-M., Zidoune, M. N., & Hayaloglu, A. A. (2020). Physicochemical, microbiological characterization and proteolysis of Algerian traditional Bouhezza cheese prepared from goat's raw milk. *Analytical Letters*, 53(6), 905-921.
- Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M. N., & Hayaloglu, A. A. (2017). Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk. *International Journal of Food Properties*, 20(sup3), S3246-S3265.
- Meena, S., Rajput, Y., & Sharma, R. (2014). Comparative fat digestibility of goat, camel, cow and buffalo milk. *International Dairy Journal*, 35(2), 153-156.
- Mehta, D., Metzger, L., Hassan, A., Nelson, B., & Patel, H. (2019). The ability of spore formers to degrade milk proteins, fat, phospholipids, common stabilizers, and exopolysaccharides. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 10799-10813.
- Mendil, D. (2006). Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chemistry*, 96(4), 532-537.
- Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M., & Elyachoui, M. (2007). Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2(1), 23-27.
- Mensink, R. P., Zock, P. L., Kester, A. D., & Katan, M. B. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*, 77(5), 1146-1155.
- Meshref, A. M., Moselhy, W. A., & Hassan, N. E.-H. Y. (2014). Heavy metals and trace elements levels in milk and milk products. *Journal of food measurement and characterization*, 8, 381-388.
- Messias, T. B. O. N., Magnani, M., Pimentel, T. C., SILVA, L. M. d., Alves, J., Gadelha, T. S., Morgano, M. A., Pacheco, M. T. B., OLIVEIRA, M. E. G. d., & QUEIROGA, R. d. C. R. d. E. (2021). Typical Brazilian cheeses: safety, mineral content and adequacy to the nutritional labeling. *Food Science and Technology*, 42, e37121.
- Messias, T. B. O. N., Magnani, M., Pimentel, T. C., Silva, L. M. d., Alves, J., Gadelha, T. S., Morgano, M. A., Pacheco, M. T. B. O., Maria Elieidy Gomes de , & Queiroga, R. d. C. R. d. E. (2021). Typical Brazilian cheeses: safety, mineral content and adequacy to the nutritional labeling. *Food Science and Technology*, 42, e37121.
- Metin, B. (2018). Filamentous Fungi in Cheese Production. In Ş. Öztürkoğlu Budak & H. C. Akal (Eds.), *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology* (pp. 257-275). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-5363-2.ch014>
- Metry, W. (2010). Assessment of safety and quality of Tallaga cheese from different locations in Egypt. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 38(2), 231-242.
- Michalski, M.-C., Camier, B., Briard, V., Leconte, N., Gassi, J.-Y., Goudédranche, H., Michel, F., & Fauquant, J. (2004). The size of native milk fat globules affects physico-chemical and functional properties of Emmental cheese. *Le Lait*, 84(4), 343-358.
- Michikawa, M. (2003). The role of cholesterol in pathogenesis of Alzheimer's disease: dual metabolic interaction between amyloid β -protein and cholesterol. *Molecular neurobiology*, 27, 1-12.
- Milićević, D., Krešić, G., Vranić, D., Lešić, T., Nedeljković-Trailović, J., Janković, S., & Pleadin, J. (2022). Characterization and nutritional assessment of traditional dairy products from the Zlatibor region, Republic of Serbia. *Veterinarska stanica*, 53(1), 17-32.

- Miller, G. D., Jarvis, J. K., & McBean, L. D. (2006). *Handbook of dairy foods and nutrition*. CRC press.
- Miloradovic, Z., Kljajevic, N., Miocinovic, J., Tomic, N., Smiljanic, J., & Macej, O. (2017). High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening. *International Dairy Journal*, *68*, 1-8.
- Mirzaei, H. (2011). Microbiological changes in Lighvan cheese throughout its manufacture and ripening. *African Journal of Microbiology Research*, *5*(13), 1609-1614.
- Moatsou, G., Moschopoulou, E., Georgala, A., Zoidou, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S., & Anifantakis, E. (2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, *88*(4), 517-525.
- Moneeb, A. H., Aguilar-Pérez, C. F., Ayala-Burgos, A., Solorio-Sanchez, F., & Ku-Vera, J. (2019). Fatty acids profile of fresh cheese produced in an intensive silvopastoral system in the tropics. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, *22*(3).
- Monnet, C., Landaud-Liautaud, S., Bonnarme, P., & Swennen, D. (2015). Growth and adaptation of microorganisms on the cheese surface. *FEMS microbiology letters*, *362*(1), 1-9.
- Montel, M.-C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, *177*, 136-154.
- Morales, P., Calzada, J., Rodríguez, B., De Paz, M., Gaya, P., & Nuñez, M. (2006). Effect of cheese water activity and carbohydrate content on the barotolerance of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of food protection*, *69*(6), 1328-1333.
- Morar, A., Ban-Cucerzan, A., Herman, V., Tîrziu, E., Sallam, K. I., Abd-Elghany, S. M., & Imre, K. (2021). Multidrug resistant coagulase-positive *Staphylococcus aureus* and their enterotoxins detection in traditional cheeses marketed in Banat Region, Romania. *Antibiotics*, *10*(12), 1458.
- Moreno-Rojas, R., Sánchez-Segarra, P., Cámara-Martos, F., & Amaro-López, M. (2010). Multivariate analysis techniques as tools for categorization of Southern Spanish cheeses: nutritional composition and mineral content. *European Food Research and Technology*, *231*, 841-851.
- Morsy, T., Farahat, E., Azzaz, H., & Gaber, A. (2022). Quality evaluation of processed cheese made from milk of ewes fed diets supplemented with *Moringa oleifera* or *Echniacea purpurea*. *Egyptian Journal of Chemistry*, *65*(4), 241-248.
- Moschopoulou, E. (2017). Microbial milk coagulants.
- Mounier, J., Rea, M. C., O'Connor, P. M., Fitzgerald, G. F., & Cogan, T. M. (2007). Growth characteristics of *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, and *Staphylococcus* spp. isolated from surface-ripened cheese. *Applied and environmental microbiology*, *73*(23), 7732-7739.
- Mourad, G., Bettache, G., & Omrane, T. (2015). identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rural traditional cheese (Jben) of Djelfa province. *International Journal of Microbiology Research*, *6*, 175-187.
- Muneeb, M., Ayub, M., Khan, S. B., Sohail, A., Jabeen, F., Khan, M. A., Khan, A., Prince, K., Khan, A., & Ahmad, I. (2020). Quality Assessment of Cottage Cheese Available in Peshawar, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*, *52*(2), 687.
- Mureşan, C. C., Marc, R. A., Anamaria Semeniuc, C., Ancuţa Socaci, S., Fărcaş, A., Fracisc, D., Rodica Pop, C., Rotar, A., Dodan, A., & Mureşan, V. (2021). Changes in physicochemical and microbiological properties, fatty acid and volatile compound profiles of Apuseni cheese during ripening. *Foods*, *10*(2), 258.
- Murgia, M. A., Marcone, M., Deiana, P., & Mangia, N. P. (2019). Preliminary microbiological and chemical characterisation of edible goat's rennet, a unique

- product of Sardinian food tradition. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1327-1334.
- Mustafa, W., Sulieman, A., Abdelgadir, W., & Elkhalfa, E. (2013). Chemical composition of the white cheese produced at household level in Dueim area, White Nile State, Sudan. *Journal of Food Nutrition Disorder*, 2, 2-5.
- Mutalib, S. R. A., & Hakim, M. H. H. M. (2023). Chapter 8 - Enzyme, the cheese case. In N. N. Ahmad Nizar, S. A. S. Zainal Abidin, & A. Bujang (Eds.), *Innovation of Food Products in Halal Supply Chain Worldwide* (pp. 79-85). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91662-2.00004-1>
- Mutwedu, V. B., Ayagirwe, R. B. B., Mugumaarhahama, Y., Bahindwa, G., Barume, A., & Matendo, R. (2018). Effets des techniques de transformation sur la qualité du fromage blanc traditionnel «Mashanza» produit au Sud-Kivu, RD Congo. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 38(1), 6097-6111.
- Naderi, S., Rezaei, H.-R., Pompanon, F., Blum, M. G., Negrini, R., Naghash, H.-R., Balkız, Ö., Mashkour, M., Gaggiotti, O. E., & Ajmone-Marsan, P. (2008). The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46), 17659-17664.
- Nair, M., Joy, J., Vasudevan, P., Hinckley, L., Hoagland, T., & Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of caprylic acid and monocaprylin on major bacterial mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3488-3495.
- Nájera, A., De Renobales, M., & Barron, L. (2003). Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chemistry*, 80(3), 345-352.
- Nicosia, F. D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2022). Plant milk-clotting enzymes for cheesemaking. *Foods*, 11(6), 871.
- Nielsen, S. S., & Nielsen, S. S. (2017). Standard solutions and titratable acidity. *Food Analysis Laboratory Manual*, 179-184.
- Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S., Bellal, M., & Dadie, A. (2009). Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol*, 7(1), 20-29.
- Nyamakwere, F., Esposito, G., Dzama, K., & Raffrenato, E. (2021). A review of artisanal cheese making: An African perspective. *South African Journal of Animal Science*, 51(3), 296-309.
- O'Sullivan, O., & Cotter, P. D. (2017). Microbiota of raw milk and raw milk cheeses. In *Cheese* (pp. 301-316). Elsevier.
- Omri, B., Chalghoumi, R., Izzo, L., Ritieni, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Abdouli, H., & Santini, A. (2019). Effect of dietary incorporation of linseed alone or together with tomato-red pepper mix on laying hens' egg yolk fatty acids profile and health lipid indexes. *Nutrients*, 11(4), 813.
- Ong, L., Dagastine, R., Kentish, S., & Gras, S. (2010). The effect of milk processing on the microstructure of the milk fat globule and rennet induced gel observed using confocal laser scanning microscopy. *Journal of food science*, 75(3), E135-E145.
- Ong, L., Lawrence, R. C., Gilles, J., Creamer, L. K., Crow, V. L., Heap, H. A., Honoré, C. G., Johnston, K. A., Samal, P. K., & Powell, I. B. (2017). Cheddar cheese and related dry-salted cheese varieties. In *Cheese* (pp. 829-863). Elsevier.
- Ong, L., Soodam, K., Kentish, S. E., Powell, I. B., & Gras, S. L. (2015). The addition of calcium chloride in combination with a lower draining pH to change the microstructure and improve fat retention in Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 46, 53-62.

- Ordiales, E., Benito, M. J., Martín, A., Casquete, R., Serradilla, M. J., & de Guía Córdoba, M. (2013). Bacterial communities of the traditional raw ewe's milk cheese "Torta del Casar" made without the addition of a starter. *Food Control*, 33(2), 448-454.
- Organisation Mondiale de la Santé. (2013). *Directives: sur l'apport en sodium chez l'adulte et chez l'enfant: résumé d'orientation*.
- Osmari, E., Cecato, U., Macedo, F., & Souza, N. (2011). Nutritional quality indices of milk fat from goats on diets supplemented with different roughages. *Small Ruminant Research*, 98(1-3), 128-132.
- Osorio, M. T., Koidis, A., & Papademas, P. (2015). Major and trace elements in milk and Halloumi cheese as markers for authentication of goat feeding regimes and geographical origin. *International Journal of Dairy Technology*, 68(4), 573-581.
- Ouadghiri, M., Amar, M., Vancanneyt, M., & Swings, J. (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS microbiology letters*, 251(2), 267-271.
- Ozturkoglu-Budak, S., & de Vries, R. P. (2017). Mold-ripened and raw milk cheeses: Production, risks, and benefits to human health. *Dairy in human health and disease across the lifespan*, 353-361.
- Pacheco, F. P., & Galindo, A. B. (2010). Microbial safety of raw milk cheeses traditionally made at a pH below 4.7 and with other hurdles limiting pathogens growth. *Curr Res Technol Educ Top Appl Microbiol Microbial Biotechnol*, 2, 1205-1216.
- Panthi, R. R., Kelly, A. L., Sheehan, J. J., Bulbul, K., Vollmer, A. H., & McMahon, D. J. (2019). Influence of protein concentration and coagulation temperature on rennet-induced gelation characteristics and curd microstructure. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 177-189.
- Papademas, P., & Bintsis, T. (2018). *Global cheesemaking technology*. Nueva York, Estados Unidos: Wiley.
- Papetti, P., & Carelli, A. (2013). Composition and sensory analysis for quality evaluation of a typical Italian cheese: Influence of ripening period. *Czech Journal of Food Sciences*, 31(5), 438-444.
- Pappa, E. C., Bontinis, T. G., Samelis, J., & Sotirakoglou, K. (2022). Assessment of the microbiological quality and biochemical parameters of traditional hard xinotyri cheese made from raw or pasteurized goat milk. *Fermentation*, 8(1), 20.
- Parente, E. (2004). Starter cultures: general aspects, p 123–147. In Fox PF, McSweeney PLH, Cogan TM, Guinee TP (ed), *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, vol 1. General aspects. In: Elsevier Academic Press, London, United Kingdom.
- Park, Y. (2000). Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA. *Small Ruminant Research*, 37(1-2), 115-124.
- Parodi, P. W. (2009). Dairy product consumption and the risk of prostate cancer. *International Dairy Journal*, 19(10), 551-565.
- Paszczyk, B., & Łuczyńska, J. (2020). Fatty acids profile, conjugated linoleic acid contents and fat quality in selected dairy products available on the Polish market. *Czech Journal of Food Sciences*, 38(2), 109-114.
- Paszczyk, B., Polak-Śliwińska, M., & Łuczyńska, J. (2020). Fatty acids profile, trans isomers, and lipid quality indices in smoked and unsmoked cheeses and cheese-like products. *International journal of environmental research and public health*, 17(1), 71.
- Paszczyk, B., Polak-Śliwińska, M., & Zielak-Steciwo, A. E. (2022). Chemical Composition, Fatty Acid Profile, and Lipid Quality Indices in Commercial Ripening of Cow Cheeses from Different Seasons. *Animals*, 12(2), 198.
- Pato, U., Riftyan, E., Ayu, D. F., Jonnaidi, N. N., Wahyuni, M. S., Feruni, J. A., & Abdel-Wahhab, M. A. (2021). Antibacterial efficacy of lactic acid bacteria and bacteriocin

- isolated from Dadih's against *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology*, 42, e27121.
- Pawlos, M., Znamirowska-Piotrowska, A., Kowalczyk, M., & Zaguła, G. (2022). Application of Calcium Citrate in the Manufacture of Acid Rennet Cheese Produced from High-Heat-Treated Goat's Milk from Spring and Autumn Season. *Molecules*, 27(17), 5523.
- Pazzola, M., Stocco, G., Dettori, M. L., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2019). Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 3947-3955.
- Picon, A. (2017). Cheese microbial ecology and safety. *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, 71-99.
- Pihlanto, A., Virtanen, T., & Korhonen, H. (2010). Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *International Dairy Journal*, 20(1), 3-10.
- Pinho, O., Mendes, E., Alves, M., & Ferreira, I. (2004). Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science*, 87(2), 249-257.
- Pino, A., Prados, F., Galán, E., McSweeney, P. L., & Fernández-Salguero, J. (2009). Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. *Food Research International*, 42(3), 324-330.
- Pintado, M., Da Cruz, A. G., & De Sá, P. (2014). Cheese microbiology. *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*, 1, 113-133.
- Piras, C., Marincola, F. C., Savorani, F., Engelsens, S. B., Cosentino, S., Viale, S., & Pisano, M. B. (2013). A NMR metabolomics study of the ripening process of the Fiore Sardo cheese produced with autochthonous adjunct cultures. *Food Chemistry*, 141(3), 2137-2147.
- Possas, A., Bonilla-Luque, O. M., & Valero, A. (2021). From cheese-making to consumption: Exploring the microbial safety of cheeses through predictive microbiology models. *Foods*, 10(2), 355.
- Poulsen, N., Bertelsen, H., Jensen, H., Gustavsson, F., Glantz, M., Månsson, H. L., Andrén, A., Paulsson, M., Bendixen, C., & Buitenhuis, A. (2013). The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 4830-4842.
- Prandini, A., Sigolo, S., Tansini, G., Brogna, N., & Piva, G. (2007). Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(6), 472-479.
- Preetha, S., & Narayanan, R. (2020). Factors influencing the development of microbes in food. *Shanlax International Journal of Arts, Science and Humanities*, 7(3), 57-77.
- Puglisi, I., Petrone, G., & Piero, A. R. L. (2014). A kiwi juice aqueous solution as coagulant of bovine milk and its potential in Mozzarella cheese manufacture. *Food and Bioproducts Processing*, 92(1), 67-72.
- Pyz-Lukasik, R., Knysz, P., & Gondek, M. (2018). Hygiene quality and consumer safety of traditional short-and long-ripened cheeses from Poland. *Journal of food quality*, 2018.
- Qaisar, S. A., & Mustafa, R. A. (2020). Evaluation of concentrations of macro and trace minerals in consumed milk, milk products, and their biological functions in human life. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 14(4), 1698-1703.
- Qin, L.-Q., Wang, X.-P., Li, W., Tong, X., & Tong, W.-J. (2009). The minerals and heavy metals in cow's milk from China and Japan. *Journal of health science*, 55(2), 300-305.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 664-698.

- Rako, A., Tudor Kalit, M., Rako, Z., Petrović, D., & Kalit, S. (2019). Effect of composition and proteolysis on textural characteristics of Croatian cheese ripen in a lamb skin sack (Sir iz mišine). *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 69(1), 21-29.
- Ramet, J. (1997). La presure et les enzymes coagulantes. *Le Fromage, 3rd ed. Lavoisier Tec and Doc, Paris*, 165-173.
- Rana, M. S., Hoque, M. R., Rahman, M. O., Habib, R., & Siddiki, M. S. R. (2017). Papaya (*Carica papaya*) latex-an alternative to rennet for cottage cheese preparation. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 4(3), 249-254.
- Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D., & Dhulster, P. (2018). Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2354.
- Ray, B., & Bhunia, A. (2004). Microbial stress response in the food environment. *Fundamental food microbiology*, 103-122.
- Rego, O. A., Cabrita, A. R., Rosa, H. J., Alves, S. P., Duarte, V., Fonseca, A. J., Vouzela, C. F., Pires, F. R., & Bessa, R. J. (2016). Changes in milk production and milk fatty acid composition of cows switched from pasture to a total mixed ration diet and back to pasture. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1), 76-86.
- Reis Lima, M. J., Fontes, L., Bahri, H., Veloso, A. C., Teixeira-Lemos, E., & Peres, A. M. (2020). Fatty acids profile of Serra da Estrela PDO cheeses and respective atherogenic and thrombogenic indices. *Nutrition & Food Science*, 50(3), 417-432.
- Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Mennane, Z., & Ouhssine, M. (2011). Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 7(3).
- Riquelme, C., Câmara, S., Maria de Lurdes, N., Vinuesa, P., da Silva, C. C. G., Malcata, F. X., & Rego, O. A. (2015). Characterization of the bacterial biodiversity in Pico cheese (an artisanal Azorean food). *International Journal of Food Microbiology*, 192, 86-94.
- Robinson, E., Travanut, M., Fabre, L., Larréché, S., Ramelli, L., Pascal, L., Guinard, A., Vincent, N., Calba, C., & Meurice, L. (2020). Outbreak of *Salmonella* Newport associated with internationally distributed raw goats' milk cheese, France, 2018. *Epidemiology & Infection*, 148, e180.
- Robinson, R., & Wilbey, R. (1998). *Cheesemaking Practice*. R. Scott. In: Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, USA.
- Rocha, D., Caldas, A., Oliveira, L., Bressan, J., & Hermsdorff, H. (2016). Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis*, 244, 211-215.
- Rodrigues, L., Machado, M., & Pinheiro, C. (2018). Cheese: Food perception and food choice. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 9(2), 104-110.
- Rola, J. G., Czubkowska, A., Korpysa-Dzirba, W., & Osek, J. (2016). Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland. *Toxins*, 8(3), 62.
- Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M., & Wilbey, R. A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants—the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 56(2), 76-85.
- Rotar, A. M., Vodnar, D. C., Bunghez, F., Catunescu, G. M., Jimborean, M., & Semeniuc, C. A. (2015). Effect of goji berries and honey on lactic acid bacteria viability and shelf life stability of yoghurt. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(1), 196-203.
- Runesson, E. (2018). Milk coagulation. 12-27
- Russo, G. L. (2009). Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical pharmacology*, 77(6), 937-946.

- Rutkowska, J., Sadowska, A., Tabaszewska, M., & Stołyhwo, A. (2009). Skład kwasów tłuszczowych serów podpuszczkowych pochodzących z rejonów Polski: północnego, wschodniego i centralnego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, *42*, 263-269.
- Saidane, Z., Dahou, A., Tahlaiti, H., Daoudi, M., Doukani, K., & Homrani, A. (2021). Physico-chemical parameters with direct influence on the dynamism of the indigenous microflora of the traditional cheese "J'ben Elgafs". *Asian journal of dairy and food research*, *40*(2), 157-161.
- Salaün, F., Mietton, B., & Gaucheron, F. (2005). Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal*, *15*(2), 95-109.
- Saleh, M. M., Carvalho, A. M. d., Andrad, N. M. d., Fonseca, A. B. M., Keller, L. A. M., Duarte, M. C. K. H., & Franco, R. M. (2023). Bacteriological quality and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from organic and conventional fresh cheese. *Food Science and Technology*, *43*.
- Salem, H., El-Attar, L., & Omran, E. (2016). Microbiological assessment of some parameters of Kariesh cheese sold by supermarkets and street vendors in Alexandria, Egypt. *Journal of High Institute of Public Health*, *46*(2), 77-85.
- Salque, M., Bogucki, P. I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., & Evershed, R. P. (2013). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, *493*(7433), 522-525.
- Salque, M., Radi, G., Tagliacozzo, A., Uria, B. P., Wolfram, S., Hohle, I., Stäuble, H., Hofmann, D., Whittle, A., & Pechtl, J. (2012). New insights into the Early Neolithic economy and management of animals in Southern and Central Europe revealed using lipid residue analyses of pottery vessels. *Anthropozoologica*, *47*(2), 45-62.
- Sampelayo, M. S., Chilliard, Y., Schmidely, P., & Boza, J. (2007). Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, *68*(1-2), 42-63.
- Sánchez-Gamboa, C., Hicks-Pérez, L., Gutiérrez-Méndez, N., Heredia, N., García, S., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018). Seasonal influence on the microbial profile of Chihuahua cheese manufactured from raw milk. *International Journal of Dairy Technology*, *71*, 81-89.
- Sanjuán, E., Millán, R., Saavedra, P., Carmona, M., Gómez, R., & Fernández-Salguero, J. (2002). Influence of animal and vegetable rennet on the physicochemical characteristics of Los Pedroches cheese during ripening. *Food Chemistry*, *78*(3), 281-289.
- Sanjuán, E., Saavedra, P., Millán, R., Castelo, M., & Fernández-Salguero, J. (1998). Effect of ripening and type of rennet on the mineral content of Los Pedroches cheese. *Journal of food quality*, *21*(3), 187-200.
- Santillo, A., Caroprese, M., Marino, R., d'Angelo, F., Sevi, A., & Albenzio, M. (2016). Fatty acid profile of milk and Caciocotta cheese from Italian Simmental cows as affected by dietary flaxseed supplementation. *Journal of Dairy Science*, *99*(4), 2545-2551.
- Santos-Silva, J., Bessa, R., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, *77*(2-3), 187-194.
- Saraiva, B. B., Rodrigues, B. M., da Silva Junior, R. C., da Silva Scapim, M. R., Lancheros, C. A. C., Nakamura, C. V., Caetano, W., de Souza Pereira, P. C., de Santana, E. H. W., & dos Santos Pozza, M. S. (2021). Photodynamic inactivation of *Pseudomonas fluorescens* in Minas Frescal cheese using curcumin as a photosensitizer. *Lwt*, *151*, 112143.
- Sarmento, A. C., Lopes, H., Oliveira, C. S., Vitorino, R., Samyn, B., Sergeant, K., Debyser, G., Van Beeumen, J., Domingues, P., & Amado, F. (2009). Multiplicity of aspartic proteinases from *Cynara cardunculus* L. *Planta*, *230*, 429-439.

- Savić Radovanović, R., Zdravković, N., & Velebit, B. (2020). Occurrence and characterization of enterotoxigenic Staphylococci isolated from soft cheeses in Serbia. *Acta Veterinaria-Beograd*, 70(2), 238-254.
- Scavo, A., Pandino, G., Restuccia, C., Parafati, L., Cirvilleri, G., & Mauromicale, G. (2019). Antimicrobial activity of cultivated cardoon (*Cynara cardunculus* L. var. *altilis* DC.) leaf extracts against bacterial species of agricultural and food interest. *Industrial Crops and Products*, 129, 206-211.
- Schiffer, S., Scheidler, E., Kiefer, T., & Kulozik, U. (2021). Effect of temperature, added calcium and pH on the equilibrium of caseins between micellar state and milk serum. *Foods*, 10(4), 822.
- Scott, R., Robinson, R. K., & Wilbey, R. A. (1998). *Cheesemaking practice*. Springer Science & Business Media.
- Sebbane, H., Almi, D., Hadouchi, S., Hedjel, L., Smail-Saadoun, N., & Mati, A. (2021). Microbiological and physicochemical changes during ripening of Camembert cheeses made from raw and pasteurized cow milk produced in Tizi-Ouzou (north of Algeria). *Indian J. Dairy Sci*, 74, 18-29.
- Seçkin, A. K., Gursoy, O., Kinik, O., & Akbulut, N. (2005). Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. *LWT-Food Science and Technology*, 38(8), 909-915.
- Senoussi, A., Rapisarda, T., Schadt, I., Chenchouni, H., Saoudi, Z., Senoussi, S., Zitoun, O. A., Zidoune, M. N., & Carpino, S. (2022). Formation and dynamics of aroma compounds during manufacturing-ripening of Bouhezza goat cheese. *International Dairy Journal*, 129, 105349.
- Senoussi, A., Schadt, I., Hioun, S., Chenchouni, H., Saoudi, Z., Aissaoui Zitoun–Hamama, O., Zidoune, M. N., Carpino, S., & Rapisarda, T. (2021). Botanical composition and aroma compounds of semi-arid pastures in Algeria. *Grass and Forage Science*, 76(2), 282-299.
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691-697.
- Sevgi Kirdar, S., Kose, Ş., Gun, İ., Ocak, E., & Kursun, Ö. (2015). Do consumption of Kargi Tulum cheese meet daily requirements for minerals and trace elements? *Mljekarstvo/Dairy*, 65(3).
- Sforza, S., Cavatorta, V., Lambertini, F., Galaverna, G., Dossena, A., & Marchelli, R. (2012). Cheese peptidomics: A detailed study on the evolution of the oligopeptide fraction in Parmigiano-Reggiano cheese from curd to 24 months of aging. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 3514-3526.
- Shah, M. A., Mir, S. A., & Paray, M. A. (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: a review. *Dairy Science & Technology*, 94, 5-16.
- Sheehan, J. (2007). 13 What is thermisation and why is it used? *Cheese problems solved*, 26.
- Sherratt, A. (1981). Plough and pastoralism: aspects of the secondary products revolution.
- Sherratt, A. (1983). The secondary exploitation of animals in the Old World. *World Archaeology*, 15(1), 90-104.
- Shi, C., & Maktabdar, M. (2021). Lactic Acid Bacteria as Biopreservation Against Spoilage Molds in Dairy Products - A Review. *Front Microbiol*, 12, 819684. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.819684>
- Siewewerts, S., de Bok, F. A., Hugenholtz, J., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2008). Unraveling microbial interactions in food fermentations: from classical to genomics approaches. *Applied and environmental microbiology*, 74(16), 4997-5007.
- Simões, M. G., Rabelo, J. G., Portal, R. E., Domingues, A. F. N., Oliveira, E. B., & Ferreira, C. L. d. L. F. (2013). Physicochemical properties of Butter cheese from Marajó manufactured with buffalo milk and cow milk. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 5(3), 83-88.

- Simopoulos, A. (2008). Omega-3 fatty acids, exercise, physical activity and athletics. *Nutrition and fitness: cultural, genetic and metabolic aspects*, 98, 23-50.
- Simopoulos, A. P. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 60(9), 502-507.
- Sitepu, R. (2020). Vegetable Rennet Tablets for Fresh Cheese Making. *Jurnal Peternakan Integratif*, 8(1), 40-51.
- Smits, G. J., & Brul, S. (2005). Stress tolerance in fungi—to kill a spoilage yeast. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 225-230.
- Sousa, M., Ardö, Y., & McSweeney, P. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 327-345.
- Sousa, M. J., & Malcata, F. X. (2002). Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Le Lait*, 82(2), 151-170.
- Sperry, M. F., Silva, H. L., Balthazar, C. F., Esmerino, E. A., Verruck, S., Prudencio, E. S., Neto, R. P., Tavares, M. I. B., Peixoto, J. C., & Nazzaro, F. (2018). Probiotic Minas Frescal cheese added with *L. casei* 01: Physicochemical and bioactivity characterization and effects on hematological/biochemical parameters of hypertensive overweighted women—A randomized double-blind pilot trial. *Journal of Functional Foods*, 45, 435-443.
- St-Gelais, D., Tirard-Collet, P., Bélanger, G., Couture, R., & Drapeau, R. (2002). Fromage. *Science et technologie du lait: transformation du lait*, 349-415.
- Stocco, G., Pazzola, M., Dettori, M. L., Paschino, P., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2018). Effect of composition on coagulation, curd firming, and syneresis of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 101(11), 9693-9702.
- Stocco, G., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Malacarne, M., Cecchinato, A., Amalfitano, N., & Bittante, G. (2021). The mineral profile affects the coagulation pattern and cheese-making efficiency of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8439-8453.
- Subasi, K., SİVRİ, G. T., TAŞAN, M., & ÖKSÜZ, Ö. (2022). Determination of the Physicochemical Properties and Fatty Acid Composition of Some Cheese Types with Geographical Indication in Thrace Region. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(3), 477-486.
- Summer, A., Formaggioni, P., Franceschi, P., Di Frangia, F., Righi, F., & Malacarne, M. (2017). Cheese as functional food: The example of Parmigiano Reggiano and Grana Padano. *Food Technology and Biotechnology*, 55(3), 277-289.
- Suzzi, G., Sacchetti, G., Patrignani, F., Corsetti, A., Tofalo, R., Schirone, M., Fasoli, G., Gardini, F., Perpetuini, G., & Lanciotti, R. (2015). Influence of pig rennet on fatty acid composition, volatile molecule profile, texture and sensory properties of Pecorino di Farindola cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2252-2263.
- Synowiecki, J., Polaina, J., & Mac, C. (2007). The use of starch processing enzymes in the food industry. *Industrial Enzymes, Structure, Function and Applications*, 19-34.
- Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Gueroui, Y., Symeon, G., Mebirouk Boudechiche, L. T., Aicha, & Chemmam, M. (2020). Milk heat treatment affects microbial characteristics of cows' and goats' "Jben" traditional fresh cheeses. *Food Science and Technology*, 41, 136-143.
- Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Khelifa, R., Mebirouk Boudechiche, L., Tadjine, A., & Chemmam, M. (2019). Pasteurization effects on yield and physicochemical parameters of cheese in cow and goat milk. *Food Science and Technology*, 40, 580-587.
- Tejada, L., Abellan, A., Prados, F., & Cayuela, J. M. (2008). Compositional characteristics of Murcia al Vino goat's cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Journal of Dairy Technology*, 61(2), 119-125.

- Tejada, L., & Fernandez-Salguero, J. (2003). Chemical and microbiological characteristics of ewe milk cheese (Los Pedroches) made with a powdered vegetable coagulant or calf rennet. *Italian journal of food science*, 15(1), 125-132.
- Tekin, A., & Güler, Z. (2019). Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chemistry*, 286, 160-169.
- Thierry, A., Maillard, M.-B., Hervé, C., Richoux, R., & Lortal, S. (2004). Varied volatile compounds are produced by *Propionibacterium freudenreichii* in Emmental cheese. *Food Chemistry*, 87(3), 439-446.
- Thissen, L., Özbal, H., Bıyık, A. T., Gerritsen, F., & Özbal, R. (2010). 1 The land of milk? Approaching, dietary preferences or late neolithic communities in NW ” ANATOLIA. *Anatolia. Leiden J. Pottery Stud.*, 26, 157-172.
- Tofalo, R., Schirone, M., Fasoli, G., Perpetuini, G., Patrignani, F., Manetta, A. C., Lanciotti, R., Corsetti, A., Martino, G., & Suzzi, G. (2015). Influence of pig rennet on proteolysis, organic acids content and microbiota of Pecorino di Farindola, a traditional Italian ewe's raw milk cheese. *Food Chemistry*, 175, 121-127.
- Torres, A. M. G., Fagua, K. G. U., Morales, C. I. R., & Medina, O. J. (2022). The influence of milk-clotting enzymes on the lipid composition and organoleptic properties of semi-matured cheeses. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 20(1), 97-112.
- Trmčić, A., Chauhan, K., Kent, D. J., Ralyea, R. D., Martin, N. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6105-6120.
- Troch, T., Lefébure, É., Baeten, V., Colinet, F., Gengler, N., & Sindic, M. (2017). Cow milk coagulation: process description, variation factors and evaluation methodologies. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21.
- Trujillo, A., Buffa, M., Casals, I., Fernández, P., & Guamis, B. (2002). Proteolysis in goat cheese made from raw, pasteurized or pressure-treated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(4), 309-319.
- Tudor Kalit, M., Lojbl, T., Rako, A., Gün, I., & Kalit, S. (2020). Biochemical changes during ripening of cheeses in an animal skin. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 70(4), 225-241.
- Tunick, M. (2014). *The science of cheese*. Oxford University Press, USA.
- Türkoğlu, H. (2011). Free fatty acid composition and sensory characteristics of Orgu cheese. *Sci. Res. Essays*, 6(7), 1555-1560.
- Ulbricht, T., & Southgate, D. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet*, 338(8773), 985-992.
- Upadhyay, V., McSweeney, P., Magboul, A., & Fox, P. (2004). Proteolysis in cheese during ripening. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 1(3), 391-434.
- Ustunol, Z., Özer, B., & Akdemir-Evrendilek, G. (2014). Dairy starter cultures. *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*, 39.
- Uzun, P., Serrapica, F., Masucci, F., Assunta, B. C. M., Yildiz, H., Grasso, F., & Di Francia, A. (2020). Diversity of traditional Caciocavallo cheeses produced in Italy. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 234-243.
- Van Hooydonk, A. M., Hagedoorn, H., & Boerrigter, I. (1986). The effect of various cations on the renneting of milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 40(4), 369-390.
- Vassiliadis, A., Psoni, L., Nikolaou, S., Arvanitis, L., Tzanetakis, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2009). Changes in microbial populations, kinds of lactic acid bacteria and biochemical characteristics of Greek traditional feta cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 39-47.

- Vázquez-Velázquez, R., Salvador-Figueroa, M., Adriano-Anaya, L., DeGyves-Córdova, G., & Vázquez-Ovando, A. (2018). Use of starter culture of native lactic acid bacteria for producing an artisanal Mexican cheese safe and sensory acceptable. *CyTA-Journal of Food*, *16*(1), 460-468.
- Venn-Watson, S., Lumpkin, R., & Dennis, E. A. (2020). Efficacy of dietary odd-chain saturated fatty acid pentadecanoic acid parallels broad associated health benefits in humans: could it be essential? *Scientific reports*, *10*(1), 8161.
- Veríssimo, P., Esteves, C., Faro, C., & Pires, E. (1995). The vegetable rennet of *Cynara cardunculus* L. contains two proteinases with chymosin and pepsin-like specificities. *Biotechnology letters*, *17*, 621-626.
- Vétier, N., Banon, S., Ramet, J.-P., & Hardy, J. (2000). Hydratation des micelles de caséine et structure fractale des agrégats et des gels de lait. *Le Lait*, *80*(2), 237-246.
- Viçosa, G. N., Moraes, P. M., Yamazi, A. K., & Nero, L. A. (2010). Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus* spp. in raw milk and fresh soft cheese: An evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma Fibrinogen agar and the Petrifilm™ Staph Express count system. *Food Microbiology*, *27*(4), 447-452.
- Vigne, J.-D. (2011). The origins of animal domestication and husbandry: a major change in the history of humanity and the biosphere. *Comptes rendus biologiques*, *334*(3), 171-181.
- Vigne, J.-D., Carrere, I., Briois, F., & Guilaine, J. (2011). The early process of mammal domestication in the Near East: New evidence from the Pre-Neolithic and Pre-Pottery Neolithic in Cyprus. *Current Anthropology*, *52*(S4), S255-S271.
- Vigne, J.-D., & Helmer, D. (2007). Was milk a “secondary product” in the Old World Neolithisation process? Its role in the domestication of cattle, sheep and goats. *Anthropozoologica*, *42*(2), 9-40.
- Vigolo, V., Franzoi, M., Penasa, M., & De Marchi, M. (2022). β -Casein variants differently affect bulk milk mineral content, protein composition, and technological traits. *International Dairy Journal*, *124*, 105221.
- Villalobos, J. C., Sigler, A. I. G., Oliete, B., Sánchez, R. A., Jiménez, L., Sánchez, N. N., & Marín, A. L. M. (2015). Relationship of somatic cell count and composition and coagulation properties of ewe's milk. *Mljekarstvo*, *65*(2), 138-143.
- Vioque, M., Gómez, R., Sánchez, E., Mata, C., Tejada, L., & Fernández-Salguero, J. (2000). Chemical and microbiological characteristics of ewes' milk cheese manufactured with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis* as coagulants. *Journal of agricultural and food chemistry*, *48*(2), 451-456.
- Vladimír, D., Miloslava, K., Markéta, M., Jaroslava, H., & Petr, R. (2020). Microbial diversity of Livanjski cheese with the emphasis on lactic acid bacteria based on culture-dependent and sequencing method. *International Journal of Dairy Technology*, *73*(1), 202-214.
- Waldman, K. B., & Kerr, J. M. (2018). Does safety information influence consumers' preferences for controversial food products? *Food Quality and Preference*, *64*, 56-65.
- Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2006). Dairy science and technology second edition. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-147*.
- Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, *88*(4-5), 389-405.
- Wei, T., Simko, V., Levy, M., Xie, Y., Jin, Y., & Zemla, J. (2021). package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix. 2017. *Version 0.84*.
- Willett, W. C. (2007). The role of dietary n-6 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Journal of Cardiovascular Medicine*, *8*, S42-S45.

- Willett, W. C., Stampfer, M. J., Manson, J., Colditz, G. A., Speizer, F. E., Rosner, B. A., Hennekens, C. H., & Sampson, L. A. (1993). Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *The lancet*, *341*(8845), 581-585.
- Wong-Villarreal, A., Corzo-González, H., Hernández-Núñez, E., González-Sánchez, A., & Giacomán-Vallejos, G. (2021). Characterization of lactic acid bacteria with antimicrobial activity isolated from cream cheese from Chiapas, Mexico. *CienciaUAT*, *15*(2), 144-155.
- Wood, J., Richardson, R., Nute, G., Fisher, A., Campo, M., Kasapidou, E., Sheard, P., & Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat science*, *66*(1), 21-32.
- Wullschleger, S., Lacroix, C., Bonfoh, B., Sissoko-Thiam, A., Hugenschmidt, S., Romanens, E., Baumgartner, S., Traoré, I., Yaffee, M., & Jans, C. (2013). Analysis of lactic acid bacteria communities and their seasonal variations in a spontaneously fermented dairy product (Malian fènè) by applying a cultivation/genotype-based binary model. *International Dairy Journal*, *29*(1), 28-35.
- Xue, X. D., Li, W., Xie, M. Q., Wang, D. Z., Li, D. D., Xin, P., Zheng, W. L., & Jiang, G. H. (2023). High sodium diet intake and cardiovascular diseases: An attributable death study in Tianjin, China. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, *25*(1), 30-37.
<https://doi.org/10.1111/jch.14599>
- Yabrir, B., Hakem, A., Mostefaoui, A., Titouche, Y., Bouzidi, A., & Mati, A. (2014). Nutritional value of Algerian breed ewe's milk related to its mineral content. *Pakistan Journal of Nutrition*, *13*(3), 176.
- Yasar, K., & Guzeler, N. (2011). Effects of coagulant type on the physicochemical and organoleptic properties of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, *64*(3), 372-379. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00679.x>
- Yegin, S., & Dekker, P. (2013). Progress in the field of aspartic proteinases in cheese manufacturing: structures, functions, catalytic mechanism, inhibition, and engineering. *Dairy Science & Technology*, *93*, 565-594.
- Yegin, S., Fernandez-Lahore, M., Jose Gama Salgado, A., Guvenc, U., Goksungur, Y., & Tari, C. (2011). Aspartic proteinases from *Mucor* spp. in cheese manufacturing. *Applied microbiology and biotechnology*, *89*, 949-960.
- Zabek, K., Milewski, S., Antoszkiewicz, Z., Sobczak, A., & Micinski, J. (2021). Impact of a production season on the chemical composition and pro-health properties of milk and rennet cheese from sheep. *Journal of Elementology*, *26*(2).
- Zamberlin, Š., Antunac, N., Havranek, J., & Samaržija, D. (2012). Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, *62*(2), 111-125.
- Zhang, Y., Xia, Y., Liu, X., Xiong, Z., Wang, S., Zhang, N., & Ai, L. (2019). High-level expression and substrate-binding region modification of a novel BL312 milk-clotting enzyme to enhance the ratio of milk-clotting activity to proteolytic activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *67*(49), 13684-13693.
- Zheng, X., Shi, X., & Wang, B. (2021). A Review on the General Cheese Processing Technology, Flavor Biochemical Pathways and the Influence of Yeasts in Cheese [Mini Review]. *Frontiers in Microbiology*, *12*.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>
- Zhu, Y., Tsai, M. Y., Sun, Q., Hinkle, S. N., Rawal, S., Mendola, P., Ferrara, A., Albert, P. S., & Zhang, C. (2018). A prospective and longitudinal study of plasma phospholipid saturated fatty acid profile in relation to cardiometabolic biomarkers and the risk of gestational diabetes. *The American journal of clinical nutrition*, *107*(6), 1017-1026.
- Zidoune, M. N. (2014). Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien «Bouhezza».

- Zikiou, A., Esteves, A. C., Esteves, E., Rosa, N., Gomes, S., Martins, A. P. L., Zidoune, M. N., & Barros, M. (2020). Algerian cardoon flowers express a large spectrum of coagulant enzymes with potential applications in cheesemaking. *International Dairy Journal*, *105*, 104689.
- Zitoun, O. A., Benatallah, L., Ghennam, E., & Zidoune, M. N. (2011). Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, *9*(2 part 1), 96-100.
- Zitoun, O. A., Pediliggieri, C., Benatallah, L., Lortal, S., Licitra, G., Zidoune, M. N., & Carpino, S. (2012). Bouhezza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goatskin bags. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, *10*(2), 289-295.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Tableau 9: Matrice de corrélations entre les différentes paires de caractères mesurées dans le FPV ; coefficients de corrélation (au-dessous de la diagonale) et probabilité (au-dessus de la diagonale).

	pH	AC	MS	MG	PR	CE	AE	FTAM	BL	SCP	CT	CF	LM
pH	1,0000	p=0,000	p=0,066	p=0,241	p=0,199	p=0,101	p=0,002	p=0,010	p=0,004	p=0,011	p=0,137	p=0,144	p=0,025
AC	- 0,9525	1,0000	p=0,035	p=0,175	p=0,139	p=0,064	p=0,000	p=0,002	p=0,000	p=0,000	p=0,058	p=0,068	p=0,017
MS	- 0,6359	0,7018	1,0000	p=0,000	p=0,513	p=0,000	p=0,035	p=0,009	p=0,043	p=0,040	p=0,102	p=0,108	p=0,265
MG	- 0,4360	0,4957	0,9519	1,0000	p=0,547	p=0,000	p=0,184	p=0,076	p=0,201	p=0,188	p=0,207	p=0,224	p=0,669
PR	- 0,4728	0,5333	0,2519	0,2328	1,0000	p=0,559	p=0,270	p=0,472	p=0,317	p=0,256	p=0,033	p=0,052	p=0,940
CE	- 0,5811	0,6391	0,9935	0,9641	0,2259	1,0000	p=0,063	p=0,020	p=0,086	p=0,075	p=0,103	p=0,116	p=0,343
AE	0,8742	- 0,9529	- 0,7031	- 0,4863	- 0,4125	- 0,6414	1,0000	p=0,000	p=0,000	p=0,000	p=0,058	p=0,054	p=0,004
FTAM	- 0,7972	0,8786	0,8037	0,6177	0,2763	0,7482	- 0,9584	1,0000	p=0,001	p=0,001	p=0,083	p=0,054	p=0,015
BL	- 0,8511	0,9392	0,6823	0,4708	0,3773	0,6030	- 0,9275	0,9106	1,0000	p=0,000	p=0,117	p=0,107	p=0,025
SCP	0,7937	- 0,9253	- 0,6888	- 0,4832	- 0,4238	- 0,6203	0,9247	- 0,8853	- 0,9718	1,0000	p=0,053	p=0,073	p=0,028
CT	0,5353	- 0,6510	- 0,5793	- 0,4652	- 0,7088	- 0,5782	0,6511	- 0,6069	- 0,5597	0,6602	1,0000	p=0,000	p=0,458
CF	0,5280	- 0,6308	- 0,5717	- 0,4500	- 0,6619	- 0,5617	0,6573	- 0,6580	- 0,5733	0,6236	0,9596	1,0000	p=0,484
LM	0,7310	- 0,7626	- 0,4164	- 0,1664	- 0,0295	- 0,3589	0,8521	- 0,7702	- 0,7312	0,7222	0,2845	0,2690	1,0000

Annexes

Annexe 2

Tableau 10: Matrice de corrélations entre les différentes paires de caractères mesurées dans le FPV ; coefficients de corrélation (au-dessous de la diagonale) et probabilité (au-dessus de la diagonale).

	pH	AC	MS	MG	PR	CE	AE	FTAM	BL	SCP	CT	CF	LM
pH	1,0000	p=0,000	p=0,228	p=0,634	p=0,251	p=0,125	p=0,000	p=0,000	p=0,004	p=0,000	p=0,001	p=0,004	p=0,001
AC	-0,955	1,0000	p=0,220	p=0,503	p=0,090	p=0,086	p=0,000	p=0,000	p=0,001	p=0,000	p=0,000	p=0,000	p=0,000
MS	-0,447	0,453	1,0000	p=0,000	p=0,475	p=0,000	p=0,302	p=0,275	p=0,839	p=0,067	p=0,506	p=0,112	p=0,136
MG	-0,185	0,258	0,917	1,0000	p=0,379	p=0,001	p=0,586	p=0,608	p=0,859	p=0,280	p=0,877	p=0,309	p=0,280
PR	-0,428	0,596	0,274	0,335	1,0000	p=0,264	p=0,070	p=0,135	p=0,097	p=0,119	p=0,120	p=0,049	p=0,067
CE	-0,551	0,602	0,922	0,898	0,417	1,0000	p=0,122	p=0,141	p=0,427	p=0,031	p=0,280	p=0,075	p=0,047
AE	0,939	-0,970	-0,388	-0,211	-0,629	-0,554	1,0000	p=0,000	p=0,001	p=0,000	p=0,001	p=0,004	p=0,001
FTAM	-0,959	0,970	0,408	0,199	0,538	0,531	-0,981	1,0000	p=0,002	p=0,000	p=0,001	p=0,002	p=0,000
BL	-0,850	0,915	0,079	-0,069	0,587	0,304	-0,892	0,879	1,0000	p=0,015	p=0,000	p=0,009	p=0,003
SCP	0,956	-0,951	-0,634	-0,405	-0,557	-0,713	0,931	-0,926	-0,770	1,0000	p=0,004	p=0,001	p=0,001
CT	0,892	-0,956	-0,256	-0,061	-0,556	-0,405	0,892	-0,908	-0,962	0,847	1,0000	p=0,001	p=0,001
CF	0,852	-0,931	-0,566	-0,383	-0,668	-0,621	0,852	-0,870	-0,802	0,911	0,914	1,0000	p=0,000
LM	0,898	-0,959	-0,537	-0,405	-0,633	-0,674	0,913	-0,929	-0,856	0,913	0,916	0,941	1,0000

Annexe 3

Tableau 11: Variation des principaux éléments et Oligo-éléments du fromage *Jben* fabriqué à partir de deux agents de coagulation du lait (agneau et végétal).

ANOVA

		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	P
Calcium	Intergruppes	12100,000	1	12100,000	8,990	,096
	Intragruppes	2692,000	2	1346,000		
	Total	14792,000	3			
Phosphore	Intergruppes	2209,000	1	2209,000	3,966	,185
	Intragruppes	1114,000	2	557,000		
	Total	3323,000	3			
Sodium	Intergruppes	5700,250	1	5700,250	4,470	,169
	Intragruppes	2550,500	2	1275,250		
	Total	8250,750	3			
Potassium	Intergruppes	576,000	1	576,000	,885	,446
	Intragruppes	1301,000	2	650,500		
	Total	1877,000	3			
Magnésium	Intergruppes	342,250	1	342,250	3,710	,194
	Intragruppes	184,500	2	92,250		
	Total	526,750	3			
Zinc	Intergruppes	,002	1	,002	1,818	,310
	Intragruppes	,002	2	,001		
	Total	,004	3			
Cuivre	Intergruppes	,000	1	,000	,074	,811
	Intragruppes	,006	2	,003		
	Total	,006	3			
Manganèse	Intergruppes	,001	1	,001	9,000	,095
	Intragruppes	,000	2	,000		
	Total	,001	3			
Fer	Intergruppes	,007	1	,007	,478	,561
	Intragruppes	,028	2	,014		
	Total	,035	3			

Annexes

Annexe 4

Tableau 12: ANOVA testant la variation des valeurs des principaux groupes microbiens des fromages traditionnels frais (FPA et FPV).

		ANOVA				
		Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	P
FTA	Intergruppes	4,401	1	4,401	8,483	,010
	Intragruppes	8,300	16	,519		
	Total	12,701	17			
M	Intergruppes	,527	1	,527	,266	,613
	Intragruppes	31,678	16	1,980		
	Total	32,205	17			
CT	Intergruppes	,811	1	,811	,730	,405
	Intragruppes	17,768	16	1,111		
	Total	18,579	17			
CF	Intergruppes	,408	1	,408	,147	,707
	Intragruppes	44,529	16	2,783		
	Total	44,937	17			
SCP	Intergruppes	,000	1	,000	.	.
	Intragruppes	,000	16	,000		
	Total	,000	17			
SAL	Intergruppes	,166	1	,166	,156	,698
	Intragruppes	17,061	16	1,066		
	Total	17,227	17			
LM	Intergruppes	5,067	1	5,067	11,558	,004
	Intragruppes	7,014	16	,438		
	Total	12,081	17			
BL	Intergruppes					
	Intragruppes					
	Total					