



République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجليلي بونعامه خميس مليانة  
Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre  
Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude  
En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en  
**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie  
**Spécialité**: Analyses Biologiques et Biochimiques.  
Thème :

# Contribution à la fabrication d'un fromage local à base de lait de vache

Présenté par :  
Melle Belarbi Houda  
Mme Lachmi Benbokréta Fella

Soutenu le : 20-06-2017

Devant le jury:

<b>Président</b> :	Mr Aoun. O	MCA (UDB) Khemis-Miliana
<b>Promotrice</b> :	Mme Saadi. F	MAA (UDB) Khemis-Miliana
<b>Examinateur</b> :	Mr Rouabah. A	MAA (UDB) Khemis-Miliana
<b>Examinatrice</b> :	Mme Brahim. S	MAA (UDB) Khemis-Miliana

Année Universitaire : 2016/2017

# Remerciement

*Nous tenons avant tout à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire et continuer ce travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude à notre promotrice Mme **Saadi Fadhila** pour son encadrement, sa compréhension et ses orientations judicieuses.*

*Nos vifs remerciements et notre profond respect aux membres de jury aussi bien pour l'honneur qu'ils ont fait en acceptant d'évaluer et de juger ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire microbiologie d'Université Djilali Bounaama Khemis-Miliana ; en particulier **Aicha, Nadjiba et Affaf**. Nous associons à ces remerciements les personnels de la laiterie d'**ARIB** et ceux du laboratoire microbiologie et physico-chimie pour leur patience et leurs précieuses aides, pendant la réalisation de ce travail et surtout **Sarah et Latifa**.*

*Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.*

# DEDICACE

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

*Mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenu  
tout au long de ma vie et mes études. Que dieu les procure une bonne  
santé et une longue vie ;*

*Mon marie pour sa patience, son soutien infini, ses conseils d'or et  
l'aide qu'il m'a offert durant cette période ;*

*Mes chères sœurs Sabah et Rima, mes frères Sid-Ahmed et Abderraouf  
et mes nièces Ghizlane, Malak et neveu Iyad ;*

*Ma belle sœur Djamila, et mes cousines Mazori et Hanane.*

*Je le dédie aussi à :*

*Mon binôme Houda et mes chères amies Meriem, Rebiha et Sarah*

*À tous ceux que j'aime dans ce monde.*

*Fella*

# DEDICACE

*Avec l'aide d'Allah nous avons achevé ce modeste travail  
Au terme de ce travail, nous tenons à exprimé notre gratitude et nos  
remercîments pour toutes les personnes qui ont contribué à sa  
réalisation*

*Je tien tout d'abord à remercier mes très chers parents pour l'aide le  
soutien et surtout les conseils tout au long de ma vie. Qu'Allah les  
protège et les garde pour moi*

*Mes chères sœurs Amina, Fatima zohra et Khadidja et mes frères  
Mustapha et Mohamed ainsi que mes nièces et mes neveux;*

*Mes belles sœurs Bakhta et Zoubida, et ma chère cousine Sara ;*

*Je le dédie aussi à :*

*Mon binôme Fella et mes chères amies Meriem et Rebiha ;*

*À tous ceux que j'aime dans ce monde.*

*Houda*

## Résumé

La présente étude se base sur la fabrication d'un fromage à partir d'un lait de vache par l'utilisation des ferments locaux.

Onze souches des bactéries lactiques appartenant à la collection du laboratoire de microbiologie de Khemis Miliana ont été utilisées pour la fabrication de trois types de ferments lactiques.

Ces ferments servent comme culture de démarrage de fabrication en plus de la présure.

Les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques obtenus ont révélés la propreté et la bonne qualité du lait de vache utilisé. La fabrication du fromage Gouda à été réalisée avec réussite. Les résultats du contrôle de fabrication la confirment, l'évaluation de la qualité de notre fromage révèle : une bonne qualité hygiénique qui répond aux normes fixées par la FAO, (2002), une qualité organoleptique appréciable, jugée par certains membres du jury et une qualité nutritionnelle satisfaisante.

**Mots clés** : ferment lactique, lait de vache, fromage, qualité.

## ملخص

تستند هذه الدراسة على إنتاج الجبن انطلاقاً من حليب البقر باستعمال خمائر محلية.

تم استعمال إحدى عشر سلالة بكتيرية تنتمي لمخبر علم الأحياء الدقيقة جامعة خميس مليانة لإنتاج ثلاثة أنواع من الخمائر اللبنية.

تعتبر هذه الخمائر اللبنية نقطة انطلاق لصناعة الجبن بالإضافة إلى المخثر.

كشفت نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية عن نظافة وجودة حليب البقر المستعمل حيث أن صناعة الجبن من نوع الغودا تمت بنجاح وقد اثبت ذلك نتائج المراقبة خلال مراحل صناعته. كما أثبتت نتائج تقييم الجبن الذي تمت صناعته عن جودته الصحية طبقاً للمعايير المحددة من طرف منظمة الأغذية و الزراعة للأمم المتحدة وكذلك قيمة غذائية و حسية (الطعم و البنية) مقدره و مرضية قيمت من طرف بعض المختصين.

**كلمات البحث :** خمائر لبنية ، حليب البقر ، جبن ، نوعية .

## Summary

The present study is based on the manufacture of cheese from a cow's milk using a local ferments.

Eleven lactic bacterial strains belong to the collection of University Khemis Miliana's microbiology laboratory were used for the production of three different lactic ferments.

These ferments serve as starting culture for the manufactory plus the rennet.

Microbiological and physico- chemical analyses's results reveal the cleanliness and the good quality of cow's milk that we used. The manufacture of Gouda cheese was realized with success. It was proved by production control's results which indicate a good hygienic quality that agree with the FAO standards (2002), an appreciable and satisfactory organoleptic and nutritional quality judged by specialists.

**Key words:** lactic ferment, cow's milk, cheese, quality.

## Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Introduction

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Le lait .....	1
1.1. Définitions .....	2
1.2. Caractéristiques physiques et physico-chimiques du lait .....	2
1.3. Composition du lait de vache .....	3
1.3.1. Eau .....	3
1.3.2. Lipides .....	3
1.3.3. Glucides .....	4
1.3.4. Matières azotées totales (MAT) .....	4
➤ Caséines .....	5
➤ Protéines solubles ou protéines du lactosérum .....	5

## Sommaire

---

➤ Transformations chimiques des protéines .....	6
➤ Effet de l'acidification et de l'acidité .....	6
➤ Effet de la présure .....	6
➤ Effet de sels .....	7
1.3.5. Minéraux .....	7
1.3.6. Oligo-éléments .....	7
1.3.7. Vitamines .....	8
➤ Vitamines hydrosolubles .....	8
➤ Vitamines liposolubles .....	8
1.3.8. Enzymes .....	9
1.4. Microbiologie du lait .....	9
1.4.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance .....	10
➤ Flore indigène ou originelle .....	10
➤ Flore contaminant .....	10
1.5. La population bovine locale .....	10
1.5.1. Le bovin laitier de race importée (BLM) .....	10
1.5.2. Le Bovin Laitier Amélioré (BLA) .....	11
1.5.3. Le Bovin Laitier Local (BLL) .....	11
2. Bactéries lactiques .....	12
2.1. Généralités .....	12
2.2. Définition .....	12

## Sommaire

---

2.3. Principales voies fermentaires .....	12
2.4. Principaux genres .....	13
2.4.1. Lactocoques .....	13
2.4.2. Lactobacilles .....	14
2.5. Rôle des BL .....	14
2.6. Ferments lactiques .....	14
2.6. 1. Définition .....	14
2.6.2. Types de ferments lactiques .....	15
3. Fromage .....	16
3.1. Généralités .....	16
3.2. Différents types de fromages .....	16
3.3. Technologie de la fabrication fromagère .....	17
3.3.1. Coagulation .....	17
3.3.2. Egouttage .....	20
3.3.3. Salage .....	21
3.3.4. Affinage .....	21

### **Chapitre II : Matériels et méthodes**

I. Matériels .....	24
Partie 1 : Préparation du levain lactique .....	24
1. Purification des souches .....	24
2. Préparation du levain lactique .....	25

## Sommaire

---

3. Réactifs Chimiques utilisés .....	25
4. Appareillage .....	26
5. Milieux d'isolement et de purifications .....	26
5.1. Milieux de purification .....	27
5.2. Milieux de caractérisation technologique .....	27
II. Méthodes .....	27
Partie 2 : Echantillonnage .....	27
1. Technique de prélèvement .....	27
2. Analyses physico-chimiques .....	28
2.1. Détermination de l'extrait sec totale .....	28
2.2. Détermination de la matière grasse .....	28
2.3. Détermination de l'acidité titrable .....	29
2.4. Détermination du pH .....	29
2.5. Détermination de la densité .....	29
3. Analyses microbiologiques .....	30
3.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux .....	30
3.2. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide) .....	30
3.3. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
3.4. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfite réducteurs .....	31
Partie3 : Préparation du fromage de type « GOUDA » .....	32
1. Technologie de fabrication du gouda .....	32

2. Evaluation de la qualité du fromage fabriqué .....	36
2.1. Détermination de la qualité microbiologique .....	36
2.1.1. Recherche et dénombrement des levures et moisissures .....	36
2.1.2. Recherche de la flore indologène .....	36
2.2. Détermination de la qualité nutritionnelle .....	36
2.2.1. Détermination de l'extrait sec du fromage .....	36
2.2.2. Dosage de la matière grasse .....	37
2.2.3. Ph et acidité titrable .....	37
2.2.4. Dosage de chlorure .....	37
2.2.5. Détermination des cendres .....	38
3. Etablissement d'une fiche de dégustation .....	38

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

1. Repiquage des souches .....	39
2. Préparation du levain lactique .....	39
3. Pouvoir acidifiant des ferments lactiques .....	40
4. Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait de vache utilisé .....	41
4.1. Analyses physico-chimiques .....	41
4.2. Analyses microbiologiques .....	44
5. Préparation du fromage de type « GOUDA » .....	44
5.1. Evaluation de la qualité du fromage fabriqué .....	45
5.1.1. Détermination de la qualité nutritionnelle .....	45

5.1.2. Détermination de la qualité microbiologique ..... 49

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des abréviations

**BL** : Bactéries lactiques

**EST** : Extrait Sec Totale.

**FAO**: Food and Agriculture Organization.

**GAMT**:Germes aérobie mésophiles totaux

**MG** : matière grasse

**MRS** :Man Rogosa Sharpe

**MST** :MatièreSècheTotale.

**NF** :NormeAfnor

**OGA**:Oxytetracycline-glucose-Yeast Extract Agar

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PCA** :Plate Count Agar

**PH** : Potentiel d'Hydrogène.

**sp** : Espèce non précisée.

**T** : Température.

**VF** : Viande de Foie.

**VRBL** : Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.

### Unités de mesures

**°C** : Degré Celsius.

**°D** : Degré dornic.

**mm, nm** : millimètre, nanomètre.

**g, mg** : Gramme, milligramme.

**h, min, s** : heure, minute, seconde.

**L, ml**: Litre, millilitre.

**M, mM**: Molaire, millimolaire.

**N** : Normalité.

**U** : Unité.

**UI** : Unité Internationale.

**V** : Volume.

<b>Liste de tableaux</b>
--------------------------

<b>Tableau 1 :</b> Caractéristiques physico-chimique du lait de vache.....	<b>2</b>
<b>Tableau 2 :</b> Composition moyenne du lait de différentes espèces animales.....	<b>3</b>
<b>Tableau 3 :</b> Quantité des lipides du lait de vache.....	<b>4</b>
<b>Tableau 4 :</b> Composition du lait en minéraux.....	<b>7</b>
<b>Tableau 5 :</b> Teneur moyenne par litre en vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait	<b>9</b>
<b>Tableau 6:</b> Impact de la température sur la coagulation du lait par présure.....	<b>19</b>
<b>Tableau 7:</b> Résultats des analyses physico-chimiques du lait de vache cru.....	<b>40</b>
<b>Tableau 8 :</b> Résultats des analyses microbiologiques du lait de vache utilisé.....	<b>43</b>
<b>Tableau 9 :</b> Taux de Chlorure et des éléments minéraux (cendres) des trois fromages.....	<b>47</b>

<h2>Liste de figures</h2>
---------------------------

<b>Figure 1:</b> Fermentation du glucose chez les bactéries lactiques homo- et hétérofermentaires....	<b>12</b>
<b>Figure 2:</b> Phases de la coagulation enzymatique du lait.....	<b>17</b>
<b>Figure 3 :</b> Principaux mécanismes biochimiques de l’affinage.....	<b>21</b>
<b>Figure 4 :</b> Etapes de fabrication du fromage.....	<b>33</b>
<b>Figure 5:</b> Technologie de fabrication du gouda.....	<b>34</b>
<b>Figure 6:</b> Aspect microscopique des souches après coloration de Gram.....	<b>38</b>
<b>Figure 7 :</b> les levains lactiques après 24h.....	<b>38</b>
<b>Figure 8 :</b> Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 1 au bout de 24 heures.....	<b>39</b>
<b>Figure 9 :</b> Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 2 au bout de 24 heures.....	<b>39</b>
<b>Figure 10 :</b> Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 3 au bout de 24 heures.....	<b>40</b>
<b>Figure 11:</b> Mesure de densité et T du lait de vache cru.....	<b>40</b>
<b>Figure 12:</b> Mesure du pH du lait de vache cru.....	<b>41</b>
<b>Figure 13:</b> Mesure de l’acidité du lait de vache cru.....	<b>41</b>
<b>Figure 14:</b> Mesure de la matière grasse du lait de vache cru.....	<b>42</b>

<b>Figure 15:</b> Mesure de l'extrait sec du lait de vache cru.....	<b>42</b>
<b>Figure 16:</b> Fromage fabriqué de type Gouda.....	<b>43</b>
<b>Figure 17 :</b> Evolution du pH et d'acidité du fromage 1.....	<b>44</b>
<b>Figure 18:</b> Evolution du pH et d'acidité du fromage 2.....	<b>44</b>
<b>Figure 19 :</b> Evolution du pH et d'acidité du fromage 3.....	<b>45</b>
<b>Figure 20 :</b> Contrôle de la matière sèche des 3 types du fromage.....	<b>45</b>
<b>Figure 21:</b> Aspect du fromage avant et après dessiccation.....	<b>46</b>
<b>Figure 22:</b> Contrôle de la matière grasse des 3 types du fromage.....	<b>46</b>
<b>Figure 23:</b> Virage de la couleur des solutions du Fromage 1, 2, 3 après titrage.....	<b>48</b>
<b>Figure 24 :</b> Résultat de la recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>48</b>
<b>Figure 25:</b> Aspect des levures après ensemencement sur milieu OGA.....	<b>49</b>

**ANNEXE I :** Composition de milieux de culture

**ANNEXE II :** Evaluation du pouvoir acidifiant des différents ferments et des paramètres physico-chimiques des 3 types de fromage

**ANNEXE III :** Fiche de dégustation

# Introduction

## **Introduction**

Le lait est un aliment complet, ce qui signifie qu'il sera également un bon milieu pour les microorganismes, c'est ce qui fait qu'il ne se conserve pas. L'un des moyens découvert par l'homme pour augmenter sa conservation est de le faire transformer de façon plus ou moins contrôlée par certains microorganismes de façon à éviter toute autre altération.

L'un des dérivés de ces transformations est le fromage, de l'ancien français « fromage » (du latin *formaticus*, c'est-à-dire fait dans une forme (**Vignola, 2002**)).

Selon **Drider et Prevost (2009)**, les propriétés fonctionnelles d'intérêt pour la fabrication des fromages, deux groupes se distinguent chez les bactéries lactiques, le premier regroupe les activités liées à l'acidification, à la protéolyse et à la lipolyse. Le second groupe correspond à des propriétés permettant soit de donner de la valeur ajoutée ou de la typicité aux produits laitiers concernés, Ce sont essentiellement les propriétés métaboliques secondaires, les propriétés probiotiques, les propriétés inhibitrices ou bactériostatiques contre les pathogènes alimentaires et enfin les propriétés de coopération ou d'activation entre micro-organismes.

Notre présente étude vise à connaître et sélectionner les souches bactériennes utilisées pour la production des ferments (levains) lactiques impliqués dans la fabrication du fromage. Ces levains sont capables de se multiplier dans le lait.

Le type du fromage choisi dans ce travail est le Gouda ; c'est un fromage affiné à pâte ferme/semi-dure conformément à la norme générale pour le fromage (**CODEX STAN 283-1978**). La procédure d'affinage destinée à développer les caractéristiques du goût et de texture dure normalement 3 semaines minimum à une température comprise entre 10 et 17°C .

En gros, le lait et ses dérivés sont toujours exposés au risque d'altération par différents microorganismes utiles ou pathogènes. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail et donne l'objectif de faire un contrôle microbiologique et physico-chimiques du lait cru de vache utilisé et du fromage fabriqué. C'est dans ce contexte que s'impose notre problématique : est-ce qu'à partir des ferments locaux, on peut produire un fromage qui présente des propriétés similaires à celles de l'industrie et des normes ?

# Chapitre I

## Synthèse bibliographique

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

### **1. Lait**

#### **1.1. Définitions**

Le lait est le produit de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. Telle est la définition adoptée par le 1<sup>er</sup> congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève en 1908 (**Veisseyre, 1975**).

Le lait est le produit de sécrétions des glandes mammaires des mammifères comme la vache et la brebis, destinés à l'alimentation de jeune animal naissant (**Alais, 1975**).

Selon la réglementation Algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis en traitement thermique (**J.O, 1993**).

#### **1.2. Caractéristiques physiques et physico-chimiques du lait**

Les propriétés physico-chimiques du lait sont résumées dans le tableau 1

**Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimique du lait de vache (**Alais, 1984**)**

<b>Constantes</b>	<b>Valeurs extrêmes</b>
<b>Densité du lait à 20°C</b>	1,028- 1,033
<b>pH à 20°C</b>	6,6- 6,8
<b>Acidité titrable</b>	15-17
<b>Point de congélation (°C)</b>	-0,520-0,550
<b>Viscosité du lait entier à 25 °C</b>	1,6- 2,1
<b>Point d'ébullition (°C)</b>	100,17- 100,1
<b>Odeur et Saveur</b>	Salé- Sucré
<b>Couleur</b>	blanc-jaunâtre

### 1.3. Composition du lait de vache

Le tableau 2 résume la composition moyenne du lait

**Tableau2:**Composition moyenne du lait de différentes espèces animales ( **Vignola,2002**)

<b>Animaux</b>	<b>Eau (%)</b>	<b>Matière grasse (%)</b>	<b>Protéines (%)</b>	<b>Glucides (%)</b>	<b>Minéraux (%)</b>
<b>Vache</b>	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
<b>Chèvre</b>	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
<b>Brebis</b>	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
<b>Chamelle</b>	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
<b>Jument</b>	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5
<b>Femme</b>	87.1	4.5	3.6	7.1	0.2

#### 1.3.1. Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. Elle représente environ 80% du lait (**Goursaud et Boudier,1985**).

Son caractère lui permet de former une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (**Bouvier,1993**).

#### 1.3.2. Lipides

Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras. La teneur en matières grasses du lait est appelée taux butyreux (TB). Pour le lait de vache, le taux butyreux se situe en moyenne, entre 35 à 45 g/l(**Kuzdzal, 1987**).

La matière grasse ne contient pas les lipides polaires ou complexes (phospholipides, etc.), mais contient par contre des composés liposolubles qui ne sont pas des lipides au sens strict et que l'on nomme «substance lipoïde». Il s'agit essentiellement d' « hydrocarbures » (dont le carotène), d'alcools (dont le cholestérol et la vitamine E) et de vitamines liposolubles (A, D, K) (**Cayot et Lorient, 1998**)

Les lipides (fraction saponifiable) constituent donc l'essentiel de la matière grasse (>98%).

La composition lipidique du lait comprend deux grands groupes (**tableau 3**): (**Cayot et Lorient, 1998**)

- les lipides simples (les glycérides)
- les lipides complexes (les phospholipides)

**Tableau 3:** Quantité des lipides du lait de vache (Cayot et Lorient, 1998)

Acides gras	Quantité (%)
Acide gras saturé	67-68
Acides gras mono- insaturés	24-25
Acides gras polyinsaturés	4-5
Rapport acide gras saturés/ acide gras insaturés	>2

### 1.3.3. Glucides

Le lactose, disaccharide composé de glucose et de galactose, est le seul glucide libre du lait présent en quantités importantes, sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/L.

Le lactose joue un rôle nutritionnel particulier et intervient également comme élément de fermentescibilité. Il peut être hydrolysé par les acides forts, mais surtout par la lactase (Vignola, 2002).

### 1.3.4. Matières azotées totales (MAT)

La dénomination « matières azotées totales » regroupe les protéines (Taux Protéique), ainsi que l'azote non protéique (dont l'urée). Le TP est une caractéristique importante du lait. Comme le taux butyreux, le TP conditionne la valeur marchande du lait, plus le TP sera élevé par rapport à une référence et plus le lait sera payé cher au producteur (paiement du point de TP). En effet plus le taux protéique (TP) est élevé et plus le rendement de transformation fromagère sera bon. La teneur totale avoisine 34 à 35 g/L (Lankveld, 1995).

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (Lankveld, 1995).

Les protéines du lait représentent 95% des matières azotées totales. Les 5% restants sont constitués (Eigel et al, 1987).

- d'acides aminés libres et de petits peptides

- d'azote non protéique, essentiellement de l'urée (0,3 à 0,4 g/L) mais aussi de la créatinine, de l'acide urique,...

Les protéines sont constituées soit d'acides aminés seulement ( $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines  $\alpha$  et  $\beta$ ) avec parfois encore une partie glucidique (caséine k). Une vingtaine d'acides aminés interviennent dans la composition de ces protéines, leur séquence conférant à chaque protéine des propriétés propres. C'est sur la base de la précipitation à pH 4,6 (à 20°C) ou sous l'action de la présure qu'on sépare deux constituants : la ou plutôt les caséines ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et k) et les protéines solubles ou protéines du lactosérum (**Cayot et Lorient, 1998**).

Les protéines du lait forment un ensemble assez complexe constitué de (**Whitney et al, 1976**) :

- 80% de caséines,
- 20% de protéines solubles

Ces protéines ont des origines différentes :

- 90% des protéines du lait sont synthétisées par la mamelle (et sont spécifiques du lait), les caséines sont entièrement synthétisées par la mamelle, les lactoglobulines sont des protéines sanguines modifiées par la mamelle.

- 10% des protéines du lait (sérum albumines, immunoglobulines) proviennent directement du sang.

#### ✓ **Caséines**

Les caséines sont des polypeptides phosphorés associés à des constituants minéraux, en particulier le calcium, mais aussi le phosphore, le magnésium et le citrate, de manière à former des micelles de phosphocaseinate de calcium. En présence de calcium, elles forment des unités qui agrègent plusieurs milliers de molécules, constituant les micelles de caséine dispersés dans la phase hydrique du lait (diamètre variant de 100 à 250  $\mu\text{m}$ ). Cette configuration spatiale permet aux enzymes hydrolytiques (carboxypeptidases) une digestion plus aisée (**Lenoir, 1987**).

#### ✓ **Protéines solubles ou protéines du lactosérum.**

Le lactosérum, autrefois appelé « petit lait », est un co-produit de l'industrie fromagère et de la préparation des caséinates. Il est constitué de la phase aqueuse du lait contenant l'ensemble des éléments solubles du lait. Cette phase hydrique contient donc des petites molécules telles que le lactose, des vitamines hydrosolubles, des nucléotides, des acides aminés libres, des sels

minéraux. Le lactosérum peut être obtenu par deux procédés permettant la séparation des caséines : la coagulation acide ou le processus enzymatique agissant grâce à la présure ou à la chymosine (**Lankveld, 1995**).

#### ✓ Transformations chimiques des protéines

La structure complète des protéines qu'elles soient présente dans le sérum ou en suspension sous forme de micelles, peut être modifiée selon le traitement utilisé en transformation alimentaire. Ces traitements affectent les différentes liaisons chimiques qui maintiennent cette structure en place, ainsi, ils provoquent des changements plus ou moins importants et il en résulte des modifications de leur propriété de solution ou de suspension colloïdale (**Cheftel et al. 1985**).

#### ✓ Effet de l'acidification et de l'acidité

a- L'acidification du lait touche particulièrement les caséines. Une légère acidification modifie suffisamment leur structure micellaire (**Lankveld, 1995**).

Lorsque l'acidification atteint un pH de 4,65, les micelles perdent complètement leur structure par dissolution totale du calcium micellaire. Dès lors, les caséines sont dénaturées et perdent leur propriété de suspension colloïdale. Les protéines subissent alors un étirement, peuvent s'enchevêtrer et forme un gel (**Lankveld, 1995**).

b- Dès sa sortie du pis de la vache, le lait démontre une certaine acidité. Cette acidité est due principalement à la présence des protéines, surtout les caséines et la lactalbumine, de substances minérales tels que les phosphates et le CO<sub>2</sub>, et d'acides organiques, le plus souvent l'acide citrique. On l'appelle l'acidité apparente ou acidité naturelle du lait. Elle varie entre 0,13 et 0,17% d'équivalent d'acide lactique (**Vignola, 2002**).

#### ✓ Effet de la présure

L'addition de la présure au lait provoque sa coagulation par hydrolyse de la K caséine située en périphérie de la micelle ; la présure est un mélange d'enzymes protéolytiques, principalement la chymosine et une quantité variable de pepsine (**Pien, 1975**).

Cette coagulation commence par l'agrégation de petites micelles, puis se complète par l'agrégation des plus grosses micelles et formera le gel de para caséine. L'addition de sels de

calcium permettra de former des ponts phosphate de calcium entre les paracaséines et un gel beaucoup plus ferme de type présure (**Lenoir, 1985**).

#### ✓ Effet de sels

L'équilibre ionique est très important dans la stabilité de la suspension colloïdale des caséines et dans la stabilité de la solution colloïdale des protéines du sérum. Puisque les micelles de caséines sont chargées négativement au pH du lait (6,6 – 6,8), l'ajout d'ions positifs bivalents comme  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  peut provoquer la formation de ponts phosphate de calcium entre les micelles et favoriser leur agrégation. Par contre, l'adduction de sels contenant des phosphates  $\text{Po}_4\text{-3}$  ou des citrates lors de traitements thermiques puisque ces ions négatifs ont la possibilité de séquestrer le  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Mg}^{++}$ , ce qui limite l'association des différentes protéines (**Cheftel et al, 1985**).

#### 1.3.5. Minéraux

Les minéraux (ou matières salines) sont présents dans le lait à hauteur de 7g/litre environ (**tableau 4**).

On retrouve ces matières salines soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions.

**Tableau 4** :Composition du lait en minéraux (**Juillard ; Richard, 1996**)

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Minéraux	Teneur (mg/kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0,50
Phosphore (P)	896	Cuivre (Cu)	0,10
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3,80
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0,28

#### 1.3.6. Oligo-éléments

Leurs teneurs en oligo-éléments dans le lait varient fortement mais, au-delà de certaines limites, elles sont l'indice d'une contamination du lait et présentent un caractère toxique pour la santé et/ou nuisible en technologie laitière. Les teneurs en oligo-éléments du lait sont seulement

indicatives, dans la mesure où elles subissent l'influence de divers facteurs (alimentation, stade de lactation, etc.) et dépendent aussi des méthodes utilisées (**Adrian,1987**).

### **1.3.7. Vitamines**

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On les retrouve en très petite quantité dans les aliments (**Adrian,1987**).

On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité, les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles

#### ➤ **Vitamines hydrosolubles**

vitamines du groupe B, vit C, vit H, acide folique, niacine et niacinamide, acide pantothénique

Ces vitamines se trouvent dans le colostrum à des taux transitoirement (environ 14 jours) deux fois plus élevés que dans le lait mature avant d'atteindre des taux stables. (**Adrian,1987**).

#### ➤ **Vitamines liposolubles**

Les taux de vitamines A, D, E et K du lait dépendent de nombreux facteurs. Leur teneur est maximale pendant la saison de pâturage. Comme ces vitamines sont dissoutes dans la matière grasse, elles passent lors de l'écémage dans la crème et le beurre, elles sont peu présentes dans les produits à base de lait écrémé.

**Tableau 5** : Teneur moyenne par litre en vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait (Luquet, 1986)

Groupes de vitamines	Types de vitamines	Teneur moyenne/l
Vitamines liposolubles	· Vitamine A	500 - 1000 UI
	· Vitamine D	15 - 20 UI
	· Vitamine E	1-2 mg
	· Vitamine K	0.02 - 0.2 mg
Vitamines hydrosolubles	· Vitamine B1	0,01 - 0.1 mg
	· Vitamine B2	0.8 - 3 mg
	· Vitamine PP	1 - 2 mg
	· Vitamine B6	2 - 1 mg
	· Acide pantothénique	2 - 5 mg
	· Vitamine B12	1- 8 µg
	· Vitamine C	10-20 µg

### 1.3.8. Enzymes

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydase) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (Kitchen et al, 1970).

## 1.4. Microbiologie du lait

L'étude de la microbiologie permet de caractériser et ainsi de mieux contrôler les quatre principaux groupes de microorganismes ou microbes présents dans l'environnement alimentaire et laitier [virus, bactéries, levures et moisissures]. Il ya des microorganismes partout dans l'environnement dans l'air, dans l'eau, dans le sol sur les animaux et les plantes et chez l'humain(Leclerc,1969).

### 1.4.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes: la flore indigène ou originelle et la flore contaminants. La flore contaminant est subdivisée en deux sous-classes: la flore d'altération et la flore pathogène (Plommet,1987).

➤ **Flore indigène ou originelle:**

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs.

Le lait qui sort du pis de la vache est pratiquement stérile. Les genres dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophiles (**Plommet, 1987**).

➤ **Flore contaminant**

La flore contaminant est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (**Andelot, 1983**).

### **1.5. La population bovine locale**

La population bovine locale constituée par des bovins de type local qui sont conservés par des croisements internes, ou par une catégorie de bovins ayant fait l'objet de croisements avec des races importées.

Cette population qui est attribuée à une seule « race » mère : la Brune de l'Atlas avec ses variétés, types ou sous races, selon l'appellation que lui attribue chacun, (Cheurfa, Guelmoise, Sétifienne, Chélifienne, Kabyle) (**Sanson, 2001**)

Le cheptel bovin algérien se divise en trois groupes ou types distincts, à savoir :

#### **1.5.1. Le bovin laitier de race importée (BLM)**

Caractérisé par un haut potentiel génétique et productif, conduit en intensif dans les exploitations ayant des surfaces fourragères suffisantes, dans les zones de plaines, dans les périmètres irrigués. « Il comprend essentiellement les races Montbéliard, Frisonne Pie Noire, Pie Rouge de l'Est, Tarentaise et Holstein »

### **1.5.2. Le Bovin Laitier Amélioré (BLA)**

Ce type est issu des différents croisements (non contrôlés en général) entre les races locales et les races introduites. Le BLA est localisé dans les zones montagneuses et forestières.

### **1.5.3. Le Bovin Laitier Local (BLL)**

Ce type est caractérisé par son orientation viande à défaut de sa faible production laitière. Il se trouve surtout dans les élevages familiaux où sa production en lait est laissée aux veaux qui seront destinés à la vente. (**Kherzat B, 2006**).

## 2. Bactéries lactiques

### 2.1. Généralités

Avant le vingtième siècle, le terme BL (Lactic acid bacteria) a été utilisé pour signifier les organismes du lait acidifié (Milk-souring organisms). Significativement, la première culture pure de ces bactéries était celle de *Bacterium lactis* (probablement *Lactococcus lactis*), obtenu par **Lister, (1873)**. Des progrès importants dans la classification de ces bactéries ont été apparus quand les similarités entre les bactéries du lait acidifié et les autres bactéries productrices d'acide lactique étaient reconnues (**Axelsson, 2004**).

Les BL sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires (lait, viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale de la bouche, l'intestin et le vagin des mammifères (**Salminen, 2004 et Carina Audisio et al, 2010**).

### 2.2. Définition

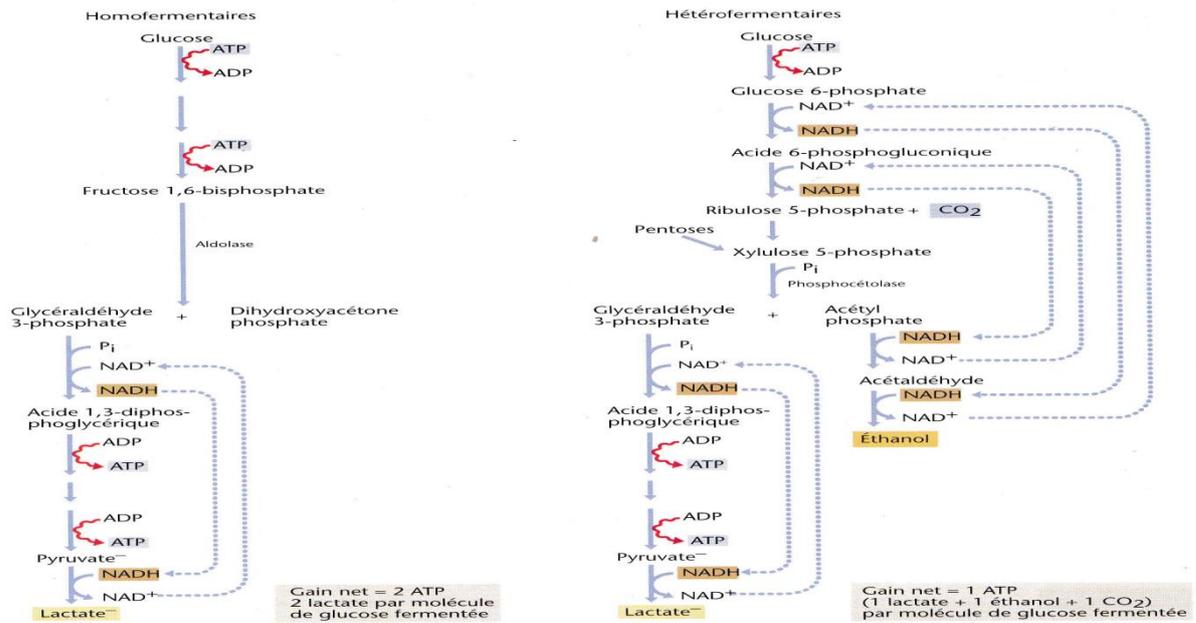
Les bactéries lactiques sont: Gram+, en général immobiles, asporulées, catalase–(certaines bactéries possèdent des pseudo-catalases), nitrate(-), se présentent sous forme sphérique, allongée ou en bâtonnet (**Deroissart et Luquet, 1994**).

Elles se développent généralement dans des conditions anaérobies, voire anaérobies facultatives, et jouent un rôle majeur dans l'acidification du lait et du caillé. Ce sont également des agents de l'affinage des fromages, par leurs aptitudes protéolytiques et lipolytiques (développement du goût, des arômes et de la texture)(**Guiraud et Rosec, 2004**).

### 2.3. Principales voies fermentaires

Une importante différence entre les sous groupes des bactéries lactiques réside dans les profils fermentaires des produits issus de la fermentation des sucres (figure 1). (**Madigan et Martinko, 2007**)

- Le groupe des bactéries lactiques homofermentaires produit uniquement de l'acide lactique ;
- Un autre groupe hétérofermentaire, produit d'autres substances telles que, principalement, de l'éthanol, de l'acétate, et du gaz carbonique, ainsi que du lactate.



**Figure 1:** Fermentation du glucose chez les bactéries lactiques homo- et hétérofermentaires (Madigan et Martinko, 2007)

## 2.4. Principaux genres

L'utilisation des bactéries lactiques dans la fabrication des fromages est considérée comme le moyen de plus fréquemment utilisé pour la conservation de la denrée périssable que représente le lait (Dridier et Prevost, 2009).

### 2.4.1. Lactocoques

Les lactocoques sont des bactéries lactiques très majoritairement mésophiles ( $T^{\circ}$  optimale de croissance autour de 30°C) et présente une bonne résistance aux basses  $T$  (croissance inférieure à 20°C) et une faible résistance aux fortes  $T$  et aux sels (Dridier et Prevost, 2009).

Les lactocoques se présentent sous forme de coque (habituellement de 1  $\mu\text{m}$  de diamètre) qu'on trouve isolément, en paire ou en chaînes de longueur variable (Desmazeaud, 1996).

Ce sont des organismes homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique, anaérobies facultatifs à micro aérophiiles (Dellaglio, 1994). Ils se distinguent par la présence, dans leur enveloppe, d'antigène du groupe N, par leur caractère faiblement  $\alpha$ -hémolytique et non  $\beta$ -hémolytique (Deroissart, 1986).

## 2.4.2. Lactobacilles

Il s'agit de bacilles souvent allongés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles, micro-aérophiles ou anaérobies. Ils ont un métabolisme fermentaire produisant de l'acide lactique. Certaines espèces sont homolactique, d'autres hétérolactiques produisant des acides volatils, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> à côté de l'acide lactique (**Guiraud, 1998**).

Les lactobacilles possèdent des exigences nutritionnelles (sources de carbones, d'azote, vitamines...) très variables selon l'espèce considérée et un très large spectre de T optimale de croissance. Ils résistent généralement très bien à l'acidité (pH optimale de croissance entre 5.5 et 6.2) et à la T dont le maximum peut atteindre 53-55 °C (**DrideretPrevost, 2009**).

## 2.5. Rôle des BL

- Production d'acide lactique ;
- Production d'aromes ;
- Production d'agents d'épaississants ;
- Activité protéolytique : développement des saveurs et texture ;
- Activité lipolytique : la saveur du fromage.

En technologique : production agroalimentaire

- Fabrication du fromage ;
- Fabrication de produits carnés ;
- Fermentation des végétaux ;
- L'industrie de panification.

En diététique et thérapeutique : une souche de lactobacille, capable de vivre dans le tractus intestinal comme composant d'une alimentation utile à la santé humaine (**Desmazeaud, 1996**).

## 2.6. Ferments lactiques

### 2.6.1. Définition

Ce sont des cultures pures en proportions définies de différentes bactéries lactiques qui en se multipliant dans le lait et dans les fromages assurent deux fonctions essentielles (**Ait Abdelouahab, 2001**) :

- Abaisser le pH en transformant le lactose en acide lactique (ou en acide lactique, acide acétique et éthanol. Cette acidification est un facteur de la coagulation du lait ;
- Contribuer aux caractères organoleptiques des fromages en libérant des systèmes enzymatiques qui participent aux principaux phénomènes de l'affinage des caillés (protéolyse en particulier).

### 2.6.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur température de croissance (Carminati et al, 2010).

#### ➤ Ferments mésophiles

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis*ssp. *lactis*, *Lc. lactis*ssp. *cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. lactis*ssp. *lactis*biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*ssp. *cremoris*). Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre. (Chamba, 2008 ; Carminati et al, 2010).

#### ➤ Ferments thermophiles

Ils comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Carminati et al, 2010).

### 3. Fromage

#### 3.1. Généralités

Non seulement le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes bio-transformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage (Goudédranche *et al*, 2008).

Selon le Codex Alimentarius (CODEX STAN 283-1978) « Norme générale pour le fromage », le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle, semi-dure, dure ou extra-dure dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait. Il est obtenu par coagulation complète ou partielle de matières d'origine exclusivement laitière (protéines du lait, du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème de lactosérum ou du babeurre), seules ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. Le fromage affiné doit être maintenu pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage et permettant sa consommation.

#### 3.2. Différents types de fromages

En fonction de diverses opérations, on distingue plusieurs types de fromages (Guiraud, 2003) :

➤ **Fromages frais ou à pâte fraîche**

Ce sont des fromages à égouttage obtenus par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique (cependant il y a souvent une légère action de la présure) et ne sont pas affinés. Leur humidité est élevée (70 à 75%). Ils sont obtenus avec des laits pasteurisés (sauf dérogation) et sont conservés au froid (exemple : petit-suisse, fromage Demi-sel, etc.)

➤ **Fromages à pâte molle**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, mais dont la pâte n'est ni cuite ni pressée : l'égouttage est lent et réalisé

par un simple découpage et éventuellement un brassage. Leur humidité est moyenne (50 à 55%). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue :

- Les fromages à pâte molle « moussée », généralement à croûte moisie (camembert, brie, carré de l'Est, etc.) ;
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée (Munster, Livarot, Pont-l'Évêque, etc.) ;
- Les fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes) (Roquefort et autres « bleus », etc.)

#### ➤ **Fromages à pâte pressée**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, et qui sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression. Leur humidité est moyenne (45 à 50% pour les pâtes non cuites) ou faible (35 à 40% pour les pâtes cuites ou très brassées). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue :

- Les fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) (cantal, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (St Paulin, Reblochon, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie (St Nectaire, Tomme de Savoie, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (Edam, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée cuite avec ouverture (Emmenthal, Comté etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort, etc.) ;
- Les fromages à pâte pressée très dure (très brassés) (Cheddar, etc.) .

#### ➤ **Fromages fondus**

Il s'agit de préparations issues de la fonte de fromages généralement à pâte pressée.

### **3.3/ Technologie de la fabrication fromagère**

#### **3.3.1/ Coagulation**

La transformation de la caséine joue un grand rôle dans l'élaboration des produits fermentés. Dans tous les cas, il y a coagulation de la caséine (« caillage »).

Cette coagulation est suivie d'une dégradation, plus au moins poussée. Elle peut être obtenue de plusieurs façons (Guiraud, 2003):

### ➤ Action d'une flore lactique

C'est le cas des laits fermentés. Le lactose du lait est transformé en acide lactique : la coagulation se produit à pH 4.6. Le coagulum est pulvérulent, s'émiette facilement mais s'égoutte très difficilement. Cette action peut être spontanée ou induite par un levain lactique.

Selon le cas un fromage est fabriqué avec du lait cru ou thermisé (traitement thermique limité) ou avec du lait pasteurisé. Dans le cas du lait pasteurisé, le levain est nécessaire, dans les autres cas, s'il y a utilisation d'un levain, celui-ci sera confronté à la flore autochtone .

### ➤ Action de la présure

La présure est une enzyme de la caillette (partie stomacale) du veau obtenue par macération. Cette présure est rajoutée artificiellement à des taux variables ; elle agit au PH du lait et donne un coagulum formé de phospho-caséinate. Ce coagulum est souple élastique, imperméable, rétractile : l'expulsion de sérum s'effectue rapidement. La présure peut être remplacée par des enzymes microbiens. Les fromages « frais » non fermentés sont fabriqués par la seule action de la présure .

### ➤ Action combinée de la présure et de la flore lactique

Selon l'action relative des deux procédés, on obtient un caillé ayant des caractéristiques différentes et qui perd plus au moins facilement son eau et ses sels minéraux. C'est le cas de la plupart des fromages fermentés.

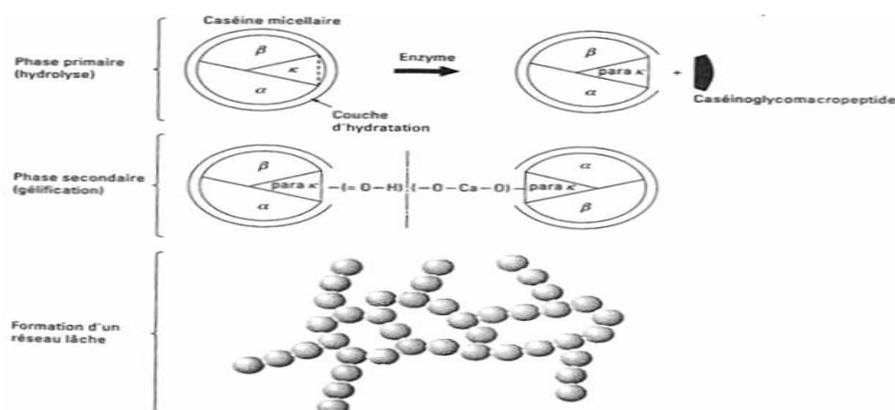


Figure2: Phases de la coagulation enzymatique du lait (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

- ❖ La coagulation enzymatique comporte trois phases(**Figure 2**):

- ✓ **L'hydrolyse enzymatique de la caséine k**

Elle concerne l'hydrolyse de la caséine k, au niveau de la liaison peptidique phénylalanine (105) et méthionine (106), qui conduit à la formation de para-caséine k (1-105), et de CMP (106-169). La libération du CMP se traduit par une réduction du potentiel de surface des micelles et en conséquence, une diminution des répulsions électrostatiques qui à l'état initial contribue à la stabilité du système colloïdal (**Eck et Gillis, 1997**):

- ✓ **L'agrégation des micelles déstabilisées**

Qui, à pH 6,6, commence lorsque 80 à 90% de la caséine k est hydrolysée(**Jeantet et al, 2007**).

- ✓ **La phase de réticulation**

Conduisant à la formation du gel(**Jeantet et al, 2007**).

- ❖ Les Facteurs influençant l'activité coagulante sont :

- **Concentration en enzyme**

Le temps de coagulation est inversement proportionnel à la concentration en enzyme, ce qui peut se formaliser selon l'équation suivante (**Mahaut et al, 2003**).

$$t_c = K/E + t_a$$

Avec :  $t_c$  : temps de coagulation (s)

$K$  : inverse de la constante de vitesse

$E$  : concentration en enzyme

$t_a$  : temps écoulé entre la fin de la réaction enzymatique et le point de coagulation (s).

➤ **Température**

**Tableau 6:** Impact de la température sur la coagulation du lait par la présure (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

Température	Impact
<10°C	Il n'y a pas de coagulation mais l'enzyme agit quand même
10-20°C	La coagulation est lente
30-42°C	Il y a une augmentation progressive de la vitesse de coagulation
42-55°C	La vitesse de coagulation diminue
55°C et +	Il y a absence de coagulation.

➤ **pH**

L'abaissement du pH du lait entraîne un temps de coagulation plus court. Cela résulte d'une part d'un effet sur l'activité de l'enzyme, dont le pH optimal d'action sur la caséine est de 5,5, d'autre part de la diminution de la stabilité des micelles, liée à la neutralisation des charges et de la libération d'ions calcium à partir des complexes dissous et colloïdaux (**Mahaut et al., 2003**).

➤ **Teneur en CaCl<sub>2</sub>**

L'addition de CaCl<sub>2</sub> entraîne une augmentation du calcium ionisé et du calcium colloïdal ayant pour conséquence une augmentation de la taille des micelles (plus la dimension de la micelle est grande, plus le temps de coagulation est court.) (**Lenoir, 1985 ; Mahaut et al, 2003**).

### 3.3.2. Egouttage

L'égouttage est l'étape de séparation du caillé (la phase solide) et du lactosérum ou petit lait (la phase liquide) composée d'eau et de matières solubles telles que le lactose (75%), des minéraux (essentiellement du calcium), des vitamines et des protéines (10%). Durant cette phase, ce sont 80% de l'eau contenue dans le caillé qui est éliminée (**Pointurier et al, 2003**).

Cette étape est importante puisque la nature du fromage fabriqué dépend de la méthode d'égouttage pratiquée. Il faut notamment savoir que la capacité à s'égoutter d'un caillé est

directement en relation avec sa coagulation et que l'égouttage commence dès la coagulation du lait. (Pointurier *et al*, 2003).

La séparation du lactosérum s'accompagne d'une ségrégation des différents composants originels du lait: la plus grande partie de l'eau et du lactose ainsi qu'une fraction de la matière grasse et des protéines sont éliminées par le sérum; la plus grande partie des protéines et de la matière grasse est retenue par le coagulum, dont l'extrait sec croît progressivement à mesure de l'élimination du sérum (Weber, 1997).

### 3.3.3. Salage

Le sel assure une meilleure conservation, contribue à la formation d'une plus belle croûte, améliore le goût et donne de la consistance au laitage

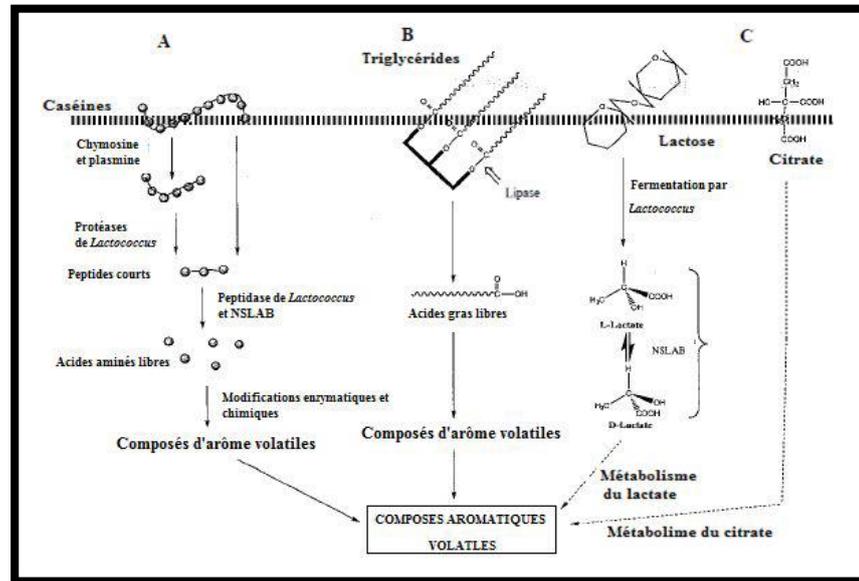
Trois méthodes de salage sont couramment utilisées (Vignola, 2002):

1. Technique à sec : la plus simple consiste, après le démoulage, à saupoudrer ou à frotter régulièrement chacune des surfaces du fromage avec du sel (évite de mouiller la surface et permet de l'assécher et de la faire croûter, mais elle entraîne une baisse de rendement et de fluctuations dans la teneur finale en sel). On l'utilise pour des fromages de type suisse, comme le comté ou le gruyère, et pour des fromages fermiers de chèvre ;
2. Méthode en saumure : on plonge les fromages dans un bac ou une piscine de saumure, pendant un temps qui varie de 15 minutes à 2 jours suivant la taille des meules, la concentration en sel et la température de la saumure ;
3. Une autre méthode de salage consiste à saler les grains de fromage avant la mise en moule. C'est la technique du cantal, du cheddar et d'autres fromages apparentés. Puisqu'on mélange intimement le sel aux grains de fromage, la répartition du sel dans l'ensemble des meules et le contrôle des microorganismes sont plus rapides.

### 3.3.4. Affinage

L'affinage peut être subdivisé en processus primaires et processus secondaires de dégradation. Le processus primaire comporte : la fermentation du lactose résiduel, de l'acide lactique et de l'acide citrique, ainsi que la dégradation des protéines et des lipides. Suite à ces événements primaires, d'autres événements biochimiques secondaires prennent place et sont

très importants pour le développement des composés aromatiques. Le processus secondaire concerne donc la dégradation des acides aminés et des acides gras (Mc Sweeney, 2004).



**Figure 3:** Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage

Protéolyse(A), lipolyse (B), métabolisme de lactose, de lactate et de citrate (C) (traduit de Mc Sweeney et Sousa, 2000).

#### ➤ Fermentation du lactose

Le **lactose** est hydrolysé sous l'action de nombreux micro-organismes. La molécule, après pénétration dans la cellule du microorganisme est transformée en glucose et galactose puis dégradée par de nombreuses voies métaboliques. Le métabolite majeur obtenu est l'acide lactique. (Goudéranche et al, 2008).

L'acide lactique subit d'autres fermentations produisant l'acide propionique, l'acide acétique, l'acide butyrique et le CO<sub>2</sub>. Ces produits peuvent être transformés en composants de saveur comme les aldéhydes et les cétones (Mc Sweeney, 2004).

#### ➤ Lipolyse

L'activité lipolytique se traduit essentiellement à travers les activités enzymatiques de type lipases et estérases endocellulaires, qui sont relarguées dans la matrice fromagère lors de l'autolyse des bactéries, au cours du procès de fabrication. Les estérases hydrolysent les esters d'alcools, de phénol et d'acides gras, tandis que les lipases hydrolysent essentiellement les TG (Dridier et Prevost, 2009).

La limitation des activités lipases/estérases au sein de la matrice fromagère résulte du fait qu'au moment de la libération des enzymes lyolitiques bactériennes, ni le pH (entre 7 et 9), ni la température (entre 40 et 50 °C) ne sont optimales pour leur fonctionnement (**Dridier et Prevost,2009**).

Il en résulte finalement que les bactéries lactiques ne contribuent que faiblement à la lipolyse dans les fromages, mais jouent essentiellement un rôle coopératif avec d'une part, la lipase naturelle du lait (lipoprotéine lipase) et d'autre part, avec les autres micro-organismes de la matrice (**Dridier et Prevost,2009**).

### ➤ Protéolyse

D'une manière générale, les bactéries lactiques et en particulier les lactocoques et les lactobacilles, possèdent un système protéolytique complexe qui permet la dégradation des protéines extracellulaires et assure leurs importants besoins en acides aminés(**Dridier et Prevost, 2009**).

Ce sont donc des bactéries qui sont particulièrement bien adaptées aux environnements riches en protéines et pauvres en acides aminés libres, dont le lait fait parti. En terme de technologie fromagère, il faut cependant distinguer deux types d'activités protéolytiques ; d'une part la protéolyse primaire correspondant aux activités des protéases (ou protéinase), localisées au niveau de la paroi cellulaire des bactéries (endoprotéase de surface) et qui permet l'hydrolyse précoce des caséines du lait (activité caseolytique) et les polypeptides, et d'autre part, la protéolyse fine correspondant aux activités peptidasiques permettant l'hydrolyse des peptides en acides aminés libres(**Dridier et Prevost, 2009**).

La protéolyse primaire n'est pas uniquement due aux micro-organismes présents lors de la fabrication, mais également aux enzymes contenues naturellement dans le lait (plasmine) ou apportées volontairement par la présure (chymosine) (**Dridier et Prevost, 2009**).

# Chapitre II

## Matériels et méthodes

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

### **I. Matériels**

#### **Partie 1 : Préparation du levain lactique**

##### **1. Revivification des souches**

- La revivification consiste à effectuer des repiquages successifs sur bouillon spécifique (selon la souche) jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes.

La méthode est la suivante :

- Préparer les 11 tubes à essai contenant les 11 souches
- Prélever de chaque tube 1ml et les mettre dans 9ml de bouillon MRS et les incuber à 37°C pendant 24h
- Répéter l'opération à plusieurs reprises sur bouillon puis sur 9ml du lait écrémé (10%)
  
- La confirmation de la viabilité des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode de stries.
- Prélever à l'aide de l'anse et ensemer sur gélose M17 et MRS puis incuber à 30°C pendant 24h
  
- La viabilité des souches est contrôlée par microscopie après coloration de Gram qui permet de diviser les bactéries en deux grands groupes Gram + et Gram -

La méthodologie est la suivante :

- Quelques gouttes de solution aqueuse de violet de gentiane sont répandues sur le frottis puis l'excès de violet est jeté après une minute d'action.
- Le frottis est ensuite recouvert de lugol de Gram ; cette liqueur prend une teinte mordorée ; on la jette au bout de quelques secondes et on répète l'opération 1 ou 2 fois jusqu'à ce que la pellicule mordorée n'apparaisse plus.
- La lame est ensuite décolorée à l'alcool absolu goutte à goutte en l'inclinant au-dessus du l'évier, jusqu'à ce que l'alcool ajouté n'ait plus d'action décolorante.
- Après lavage à l'eau de robinet, le frottis est recoloré à la fuschine de Ziehl au 1/10 e pendant une minute, puis lavé à l'eau, séché au buvard et examiné à l'immersion. Les Gram + apparaissent en bleu noir et les Gram – en rouge.

### Les souches utilisées

Onze souches des bactéries lactiques appartenant à la collection du laboratoire de microbiologie d'Université de Khemis Miliana ont été utilisées, isolées par Mme Saadi F. (Maître assistant classe A, Université de Djilali Bounaama Khemis-Miliana) en 2012 / 2013 ;

1. *Lactococcus subsp.lactis*
2. *Lactobacillus casei*
3. *Leuconostoc pseudomesenterides*
4. *Lactobacillus casei*
5. *Lactobacillus casei*
6. *Lactobacillus casei*
7. *Lactobacillus paracasei*
8. *Lactobacillus plantarum*
9. *Lactobacillus plantarum*
10. *Lactobacillus plantarum*
11. *Lactococcus subsp.lactis*

### 2. Préparation du levain lactique

Le levain est préparé dans un flacon contenant 100ml de lait écrémé stérile (0%), ensemencé avec des cultures jeunes de souches pures à un taux de 2% (à des volumes égaux), ensuite incubé à 30°C pendant 16 heures

On prépare 3 types de levains chacun contenant des cultures jeunes de différentes souches ;

- Le 1<sup>er</sup> levain : 1 .11 .3 .7 .5 .6 .2 .4 (contient des cultures mésophiles)
- Le 2<sup>eme</sup> levain : 1 .11 .3 .8 .9 .10 (contient des cultures thermophiles)
- Le 3<sup>eme</sup> levain : 1 .2 .3 .4 .5 .6 .7 .8 .9 .10.11 (contient des cultures mixtes)

L'étude des interactions entre les souches mésophiles et thermophiles a été étudié par Mme Saadi F. (Maître assistant classe A, Université de Djilali Bounaama Khemis-Miliana) en 2012 / 2013 et traduit par l'absence d'antagonisme. Et seulement les souches ayant une symbiose entre elles ont été choisies pour la fabrication de nos ferments.

### 3. Réactifs Chimiques utilisés

- Alcool amylique
- Alcool sulfurique
- Fuschine de Ziehl
- Lugol
- NaCl
- NaOH
- Phénol-phtaléine
- Peroxyde d'hydrogène à 30% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- Soude dornic
- Solution 0,2M (mol/L) de nitrate d'argent
- Solution 0,5M de chromates de potassium (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>)
- Violet de Gentiane

### 4. Appareillage

- Agitateur électrique (Bunsen)
- Autoclave (Shiavx Electronic)
- Bain Marie (Memmert)
- Balance de précision (Kern)
- Butyromètre (Van Gulik)
- Centrifugeuse électrique (Hettich)
- Compteur de colonies (Funk Gerber)
- Dessiccateur électrique (Precisa)
- Etuves (Memmert)
- Four à moufle (nabertherm)
- Micropipettes (Microlit)
- Microscope optique (Motic)
- pH mètre (Hanna)
- Réfrigérateur (Condor)

### 5. Milieux de culture utilisés

#### 5.1. Milieu de purification

- **Milieu MRS** (gélose et bouillon)

Le milieu MRS (**De Man Rogosa et Charp, référence : AEB 140652**), est le plus connu pour la recherche et l'isolement des lactobacilles (composition en annexes).

## 5.2. Milieux de caractérisation technologique

- Bouillon eau péptonée
- Bouillon Giolitti Canttoni
- Gélose OGA
- Milieu PCA
- Milieu Sabouraud
- Milieu VRBL
- Milieu VF
- Milieu Roth
- Milieu M17 gélose

## II. Méthodes

### Partie 2 : Echantillonnage

#### 1. Technique de prélèvement du lait

Le lait de vache utilisé a été récolté à 8h du matin dans la région d'Ain-Defla au mois de Mars

Le prélèvement a été effectué aseptiquement à partir du robinet disposé à la partie inférieure de la citerne de la collecte iso thermique, dans un flacon stérile bouché

#### 2. Analyses physico-chimiques du lait

##### 2.1 Détermination de l'extrait sec totale (NF V04-367)

- Placer la coupelle dans le dessiccateur.
- Peser  $1\text{g} \pm 0.1$  du produit dans une coupelle jusqu'à l'obtention d'un poids constante pour faire la lecture.
- La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du dessiccateur.

##### Expression des résultats

$$\text{EST} = V' \times 10 \text{ (g/l)}$$

Où :

V' : valeur donné par le dessiccateur.

## 2.2 Détermination de la matière grasse (NF, 1980)

La teneur en matière grasse du lait est déterminée par la méthode acido-butyrométrique. Après dissolution des protéines du lait par l'acide sulfurique, la matière grasse est séparée par centrifugation (en présence de l'alcool amylique). La lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre.

- Introduire 10ml d'acide sulfurique ;
- Ajouter 10ml de lait à l'aide d'une pipette sans mouiller le col et en évitant un mélange prématuré entre le lait et l'acide ;
- Verser à la surface du lait 1ml d'alcool iso amylique, boucher ensuite avec soin le butyromètre, agiter avec précaution ;
- Centrifuge 5min, au sortir de la centrifugeuse, modifier s'il y a lieu le réglage du
- Bouchon pour que la phase lipidique se situe dans l'échelle graduée.

## 2.3 Détermination de l'acidité titrable (NF V04-206 (01/1969))

La méthode de dosage de l'acidité titrable permet de quantifier la teneur totale d'acide lactique présent dans le lait. Le titrage est réalisé par une solution de NaOH N/9 (soude dornic) en présence d'un indicateur coloré (phéno-l-phtaléine) ;

- Remplir la burette de la solution de NaOH (N/9), régler le niveau du liquide à Zéro ;
- A l'aide de la pipette de 10ml, prélever 10ml de lait et transférer dans un bécher de 100ml ;
- Ajouter 3 à 4 gouttes de solution de phénolphtaléine et titrer jusqu'à l'apparition d'une couleur rose persiste 30 Seconde ;
- Noter le volume de solution titrant utilisé en dixièmes de millilitres.

## 2.4 Détermination du pH (NF V 04-316)

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné. On le mesure habituellement à l'aide d'un pH-mètre (Vignola et al, 2002).

- Etalonner le pH mètre à l'aide des solutions tampon à pH=  $7 \pm 0,1$ .
- Régler la température de l'appareil à 20°C.
- Introduire l'électrode dans le récipient contenant l'échantillon à 20°C.
- Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture.

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du pH mètre.

### **2.5 Détermination de la densité du lait**

Plonger le thermo lactodensimètre dans une éprouvette remplie du lait à analyser de manière que le lait déborde légèrement

La lecture de la densité et de la température se fait directement.

## **3. Analyses microbiologiques**

### **3.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux (NF V 08-051)**

Appelés aussi "Flore totale" ou nombre très approximatif des germes qui se trouvent dans les produits alimentaires.

Cette flore est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité du produit. Son dénombrement est réalisé à partir des dilutions décimales 10<sup>-1</sup> 10<sup>-2</sup> et 10<sup>-3</sup> porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri compléter ensuite avec 12 à 15 ml de gélose PCA fondue et incubé durant 72 heures à 30°C.

### **3.2. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide) (NF V 08-051)**

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux (*E.coli*), est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale

A partir des dilutions décimales 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-1</sup>, dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée. Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car :

- La première série de boîtes sera incubée à 37 °C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.
- La deuxième série de boîtes sera incubée à 44 °C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.
- Compléter ensuite avec environ 15 ml de gélose au Désoxycholate a 1‰ (ou avec gélose VRBL) fondue puis refroidie à 45 °C ± 1.

- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose a l'inoculum.
- Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse, puis couler à nouveau environ 5 ml de la même gélose ; cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations.
- Les boîtes de pétri seront donc incubées couvercle en bas pendant 24 à 48 h

### **3.3.Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* (NF V 08-057)**

L'étude des staphylococcus aureus permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Guiraud, 1998).

#### **▪ Préparation du milieu d'enrichissement**

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu Giolitti Cantoni pour y ajouter 15 ml de la solution de Tellurite de potassium. Mélanger soigneusement.

#### **▪ Enrichissement**

-A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile. Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

-L'incubation se fait a 37 °C pendant 24 a 48 h

### **3.4.Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito réducteurs* (NF V 08- 019)**

#### **▪ Préparation du milieu**

Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de gélose viande foie (VF), le refroidir dans un bain d'eau a 45 °C puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfate de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement.

Le milieu est ainsi prêt a l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve a 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

- **Enrichissement**

Les tubes contenant les dilutions 10<sup>-1</sup> et 10<sup>-2</sup> seront soumis :

- ✓ D'abord a un chauffage a 80 °C pendant 8 a 10 min, Puis a un refroidissement immédiat sous courant d'eau, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées.
- ✓ porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre, puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prêt à l'emploi.

Ces tubes seront ainsi incubés à 46 °C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 h.

**Partie3 : Préparation du fromage de type « GOUDA »****1- Technologie de fabrication du gouda**

- ✓ Pasteurisation du lait au bain Marie (15mn /75°C) ;
- ✓ Refroidissement du lait ;
- ✓ Le lait est maintenu à 30°C et mis dans 3différents récipients pour êtreensemencés par les 3 types de levain ;
  - ✓ Ensemencement du lait: addition du levain (ferments lactiques) ;
  - ✓ Emprésurage : addition de :
    - 3% d'une solution de présure (à 520 mg / l) pour 10 l de lait.
    - 0,33 gr/l de CaCl<sub>2</sub>
    - 0,16 gr de KNO<sub>3</sub> ;
  - ✓ Maturation du lait pendant 1h à 37°C ;
- ✓ Décaillage en grains de 8mm ;
- ✓ Séparation du lait caillé et du petit lait : La matière humide est évacuée du lait caillé en coupant ce dernier en petits blocs avec l'ajout de l'eau chaude à chaque fois qu'on débarrasse du lactosérum ;
- ✓ Brassage pendant 20-30 m ;



- ✓ Soutirage et prépressage pendant 30 min



- ✓ Moulage : le caillé est mis dans des moules, en fonction de la forme souhaitée, mais surtout pour poursuivre le séchage.



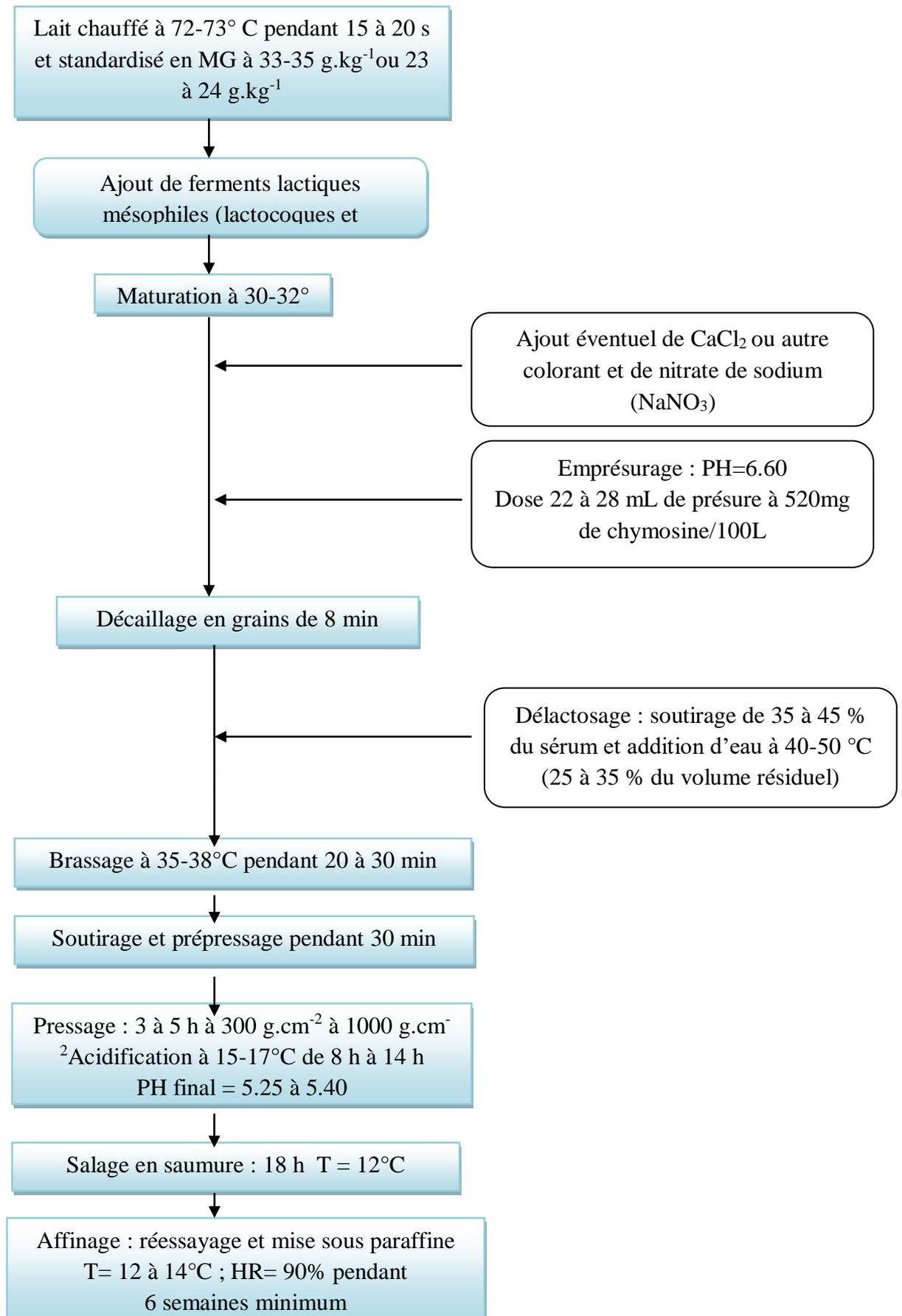
- ✓ Egouttage et la mise sous pression : pour éliminer ce qui reste d'humidité ;

- ✓ salage : s'effectue en le mettant dans de la saumure, c'est-à-dire un bain de sel, la durée prend entre 24 et 48h, suivie d'un égouttage (24 h à 18°C).



- ✓ Affinage : pendant 7 semaines minimum à 14 – 16°C

**Figure 4 :** Etapes de fabrication du fromage



**Figure 5:** Technologie de fabrication du gouda (Goudéranche et al, 2008)

## **2. Evaluation de la qualité du fromage fabriqué**

On effectue différents prélèvements à partir de différents types de fromage selon le ferment et à différentes périodes de maturation ;

- Au début de maturation,
- Après 4 semaines,
- Après 7 semaines.

### **2.1.Détermination de la qualité microbiologique**

Les échantillons sont râpés manuellement à l'aide d'une râpe. Ce broyage est couplé à une dilution jusqu'à  $10^{-5}$

Les mêmes analyses microbiologiques effectuées pour le lait en y ajoutant :

#### **2.1.1. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (NF V 08-059)**

A partir des dilutions décimales retenues ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ), transférer aseptiquement 4 gouttes de chaque dilution aux boîtes de pétri contenant le milieu OGA préalablement fondu et solidifié.

Etaler sur toute la surface du milieu à l'aide d'un râteau stérile.

L'incubation de ces boîtes se fait à 20 °C couvercle en bas pendant 5 jours en surveillant quotidiennement les boîtes pour éviter l'envahissement des moisissures sur le milieu.

#### **2.1.2. Recherche de la flore indologène**

Cette flore est responsable de dégradations et de modifications du goût et de l'odeur. Le dénombrement est réalisé à partir des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sur le milieu eau peptonée. Après 48 heures d'incubation à 37°C, la production d'indole est recherchée par le réactif de Kovacs.

## **2.2. Détermination de la qualité nutritionnelle**

### **2.2.1. Détermination de l'extrait sec du fromage (Norme AFNOR NF V 04-82)**

La teneur en extrait sec a été déterminée en quatre exemplaires à l'aide d'une étuve isotherme

Les résultats sont exprimés en gramme d'extrait sec pour 100 g de fromage (% extrait sec)

### 2.2.2. Dosage de la matière grasse (norme AFNOR, 1980)

Le taux de la matière grasse est déterminé par la méthode butyrométrique de Van-Gulik.

Les protéines du fromage sont dissoutes par l'acide sulfurique (d: 1,52). On procède à un chauffage dans un bain d'eau (65°C / 5mn) puis on agite durant 10s. L'opération est répétée jusqu'à dissolution totale des protéines.

La matière grasse, résistante à l'action de l'acide sulfurique, est séparée par centrifugation à chaud, la séparation étant favorisée par l'addition d'alcool amylique. La matière grasse, moins dense, se rassemble en une couche claire et transparente.

La lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre. La teneur en matière grasse est exprimée en g pour 100 g du fromage.

### 2.2.3. pH et acidité titrable

L'industrie laitière exprime l'acidité globale provoquée par fermentation du lactose en degrés Dornic. Ceux-ci correspondent à la quantité de soude Dornic utilisée pour neutraliser 0,1 g d'acide lactique par kg de produit laitier.

L'acidité titrable est une méthode officielle de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 947.05), qui mesure la quantité totale d'acide lactique présente dans un échantillon.

Un échantillon de 1g de fromage solubilisé dans 10 ml d'eau distillée bouillante et refroidie a été introduit dans un bécher puis mélangé.

- Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre.
- Pour l'acidité l'échantillon est titré avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,1 N) au point de virage de la phénolphthaléine.

La lecture se fait directement sur la burette (le volume nécessaire pour le virage de la couleur) et le pH mètre

### 2.2.4. Dosage de chlorure

(<http://www.civil.usherbrooke.ca/cours/gci190/laboratoire%201.PDF>)

La détermination de la teneur en chlorures est réalisée par titrage par une solution de nitrate d'argent ( $\text{AgNO}_3$ ) dans une solution d'acide nitrique en présence de solution de chromate de potassium (0,5M) comme un indicateur de couleur

Le titrage est réalisé par ajout progressif (goutte à goutte) de la solution de nitrate d'argent contenue dans la burette graduée à la solution maintenue en agitation dans le bécher. Le précipité blanc formé est un indicateur de la formation du chlorure

d'argent(AgCl). La fin du dosage est indiquée par la couleur rouge brique du précipité de chromate d'argent ( $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ ). Notez le volume de nitrate d'argent ajouté.

Calcul : La teneur en chlorure est donnée par la formule :

$$\text{Teneur en chlorure} = 0,585 \times V / E$$

Où:

V : représente le nombre de ml de solution de chromate potassium utilisée pour le titrage

E : le volume de la prise d'essai en ml

Les résultats sont exprimés en mg de chlorure de sodium par litre de solution

### 2.2.5. Détermination des cendres

- **Traitement des échantillons**

Un broyage est nécessaire pour obtenir une homogénéité compatible avec les manipulations ultérieures.

- **Minéralisation (destruction de la matière organique)**

Après avoir déterminé le poids sec (4gr) de l'échantillon, celui-ci est placé dans un creuset de platine taré et introduit dans un four à moufle froid que l'on porte à environ 250°C pendant quelques heures. L'atmosphère du four est confinée avec un apport d'air extérieur restreint pour éviter une combustion vive au sein de la masse de l'échantillon. La température est montée à 450°C puis à 550°C pendant 3 à 4 heures jusqu'à obtention d'un résidu blanc et non fondu.

La teneur cendre est obtenue à partir de la formule suivante :

$$\text{La teneur en cendre} = \text{le poids du fromage au début} - \text{le poids du fromage après la sortie du four}$$

### 3. Etablissement d'une fiche de dégustation

La fiche de dégustation est élaborée selon les propriétés sensorielles du fromage. Elle permet aux dégustateurs de donner des valeurs aux différentes grandeurs sensorielles étudiées.

# Chapitre III

# Résultats et discussions

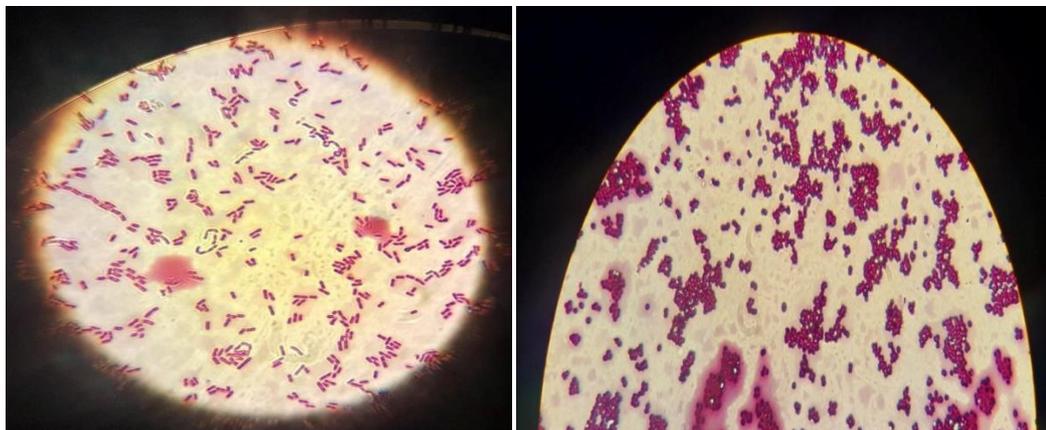
## Chapitre III : Résultats et discussions

### 1. Repiquage des souches

Après Repiquage des souches sur bouillon MRS et lait écrémé, les souches sont mises en évidence par la coloration de Gram donc les 11 souches utilisées sont :

- Des Gram +
- Des coques et des bacilles

Les résultats sont illustrés par la figure suivante :



Gram + de forme Bacilles

Gram + de forme Cocci

**Figure 6:** Aspect microscopique des souches après coloration de Gram

### 2. Préparation du levain lactique

Après l'ensemencement des 3 levains lactiques par les différentes souches on aura la coagulation de ces levains résulte de l'action des bactéries en formant l'acide lactique

Les résultats sont illustrés par la figure suivante :



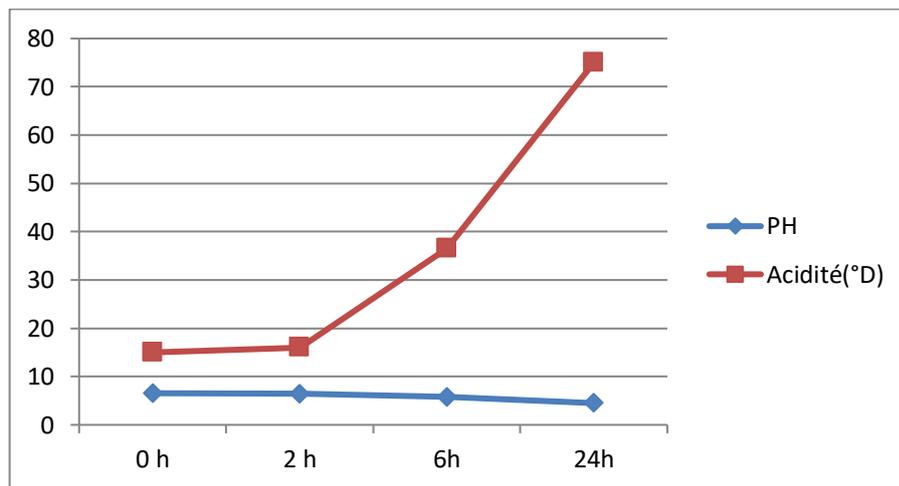
**Figure 7:** Aspect macroscopique des levains lactiques après 16h d'incubation

### 3. Pouvoir acidifiant des ferments lactiques

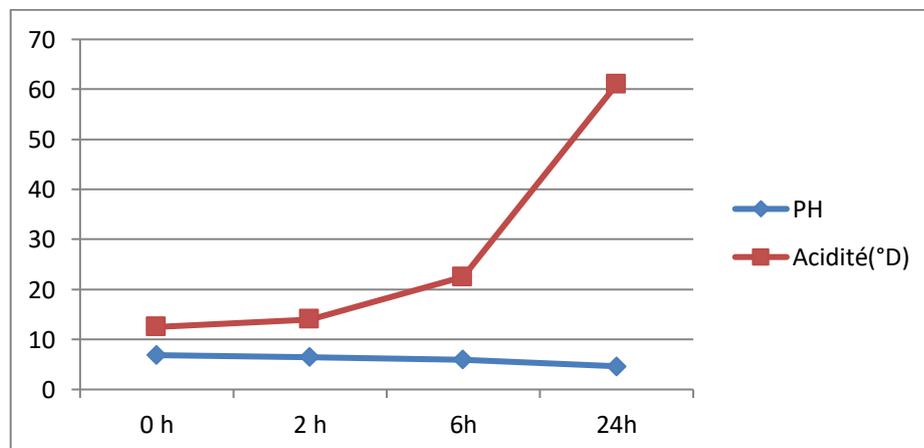
Les résultats révèlent que les trois ferments ont une activité acidifiante considérable qui se traduit par la production d'acide lactique au cours de l'incubation dont les valeurs atteignent 75 °D, 61°D et 80°D après une incubation de 24h par les trois ferments codés F1,F2 et F3 respectivement.

De même, il apparaît que la production d'acide est accompagnée par une chute de pH dont les valeurs enregistrées après la même phase d'incubation sont de l'ordre de pH = 4.5 ; pH= 4.64 et pH = 4.45 pour les ferments F1, F2 et F3 respectivement(figures 10,11,12)

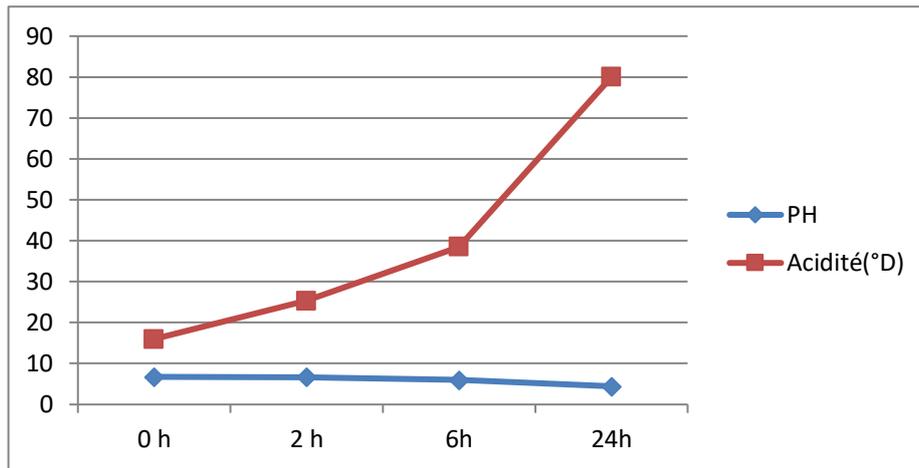
Selon **Roukas et Kotzekidou (1998)**, l'abaissement du pH avec les cultures mixtes est généralement plus rapide et plus prononcé, ce qui explique pourquoi le ferment 3 a un pouvoir acidifiant plus élevé que les deux autres ferments



**Figure 8:** Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 1 au bout de 24 heures



**Figure 9:** Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 2 au bout de 24 heures



**Figure 10:** Evaluation du pouvoir acidifiant du ferment 3 au bout de 24 heures

#### 4. Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait de vache utilisé

##### 4.1. Analyses physico-chimiques

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques du lait de vache utilisé pour la fabrication du fromage sont exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau 7:** Résultats des analyses physico-chimiques du lait de vache cru

Paramètre	T° (C)	Densité	pH	Acidité	Matière grasse (g/l)	Extrait sec (%)
Résultats	20	28	6.70	18	37	14.05

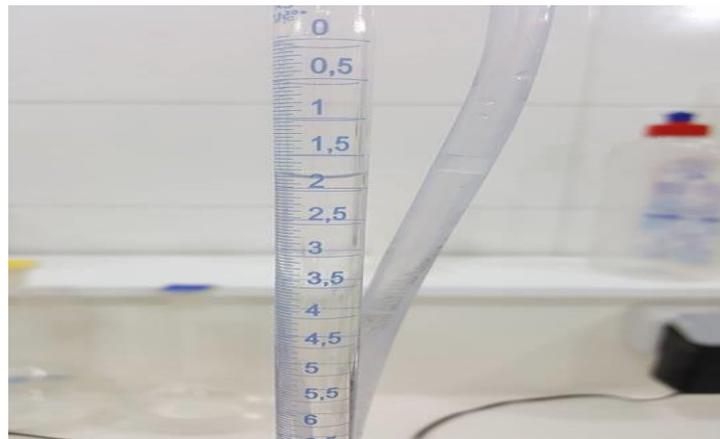


**Figure 11:** Mesure de densité et T du lait de vache cru



**Figure12** : Mesure du pH du lait de vache cru

Selon **Alais (1984)**, la densité du lait de vache doit être entre 1.028 et 1.033 à une T de 20°C, ainsi que le pH qui varie de 6.6 à 6.8 ce qui rendre notre lait conforme.



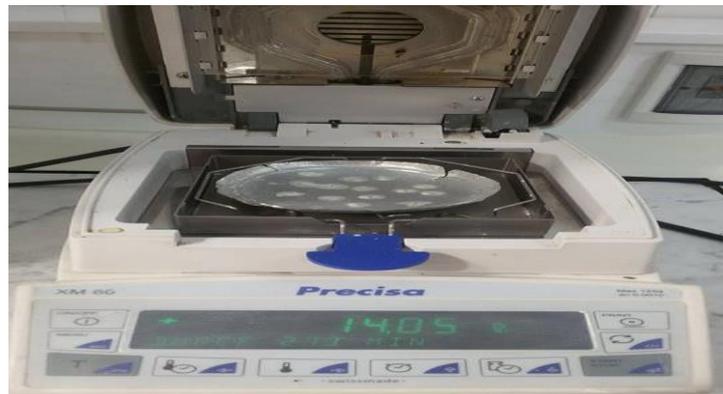
**Figure 13:** Mesure de l'acidité du lait de vache cru

Ce résultat est en concordance avec celui donné par le **FAO (1990)** : une acidité qui varie de 14 à 18°D.



**Figure 14:** Mesure de la matière grasse du lait de vache cru

Les teneurs moyennes en matières grasses du lait sont comprises entre 28, 5 et 32,5g/l **Afnor, (2002)**. Mais peuvent atteindre les 40g/l selon (**Vignola 2002**), donc ce lait est conforme aux normes.



**Figure 15:** Mesure de l'extrait sec du lait de vache cru

La teneur moyenne en matière sèche enregistrée est de 14.5 % pour le lait de vache utilisé.

## 4.2. Analyses microbiologiques

Les résultats obtenus ont été comparés aux normes nationales (**J.O.R.A. n° 35 du 27 Ma 1998**).

**Tableau 8:** Résultats des analyses microbiologiques du lait de vache utilisé

<b>Germes</b>	<b>Résultats</b>	<b>Normes</b>
<i>GAMT</i>	10	<b>10<sup>5</sup></b>
<i>Coliformes fécaux</i>	Absence	<b>10<sup>3</sup></b>
<i>Staphylocoques</i>	Absence	<b>absence</b>
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Absence	<b>50 germes/ml</b>
<i>Antibiotiques</i>	Absence	<b>absence</b>

Selon **J.O.R.A (n° 35 1998)**, le lait qu'on a utilisé pour la fabrication de notre fromage est stérile et ne contient pas des germes contaminants malgré la présence des germes totaux mais ces derniers ne dépassent pas la norme fixée à 10<sup>5</sup>.

## 5. Préparation du fromage de type « GOUDA »

Trois types de fromages ont été fabriqués à base de trois types de ferments lactiques



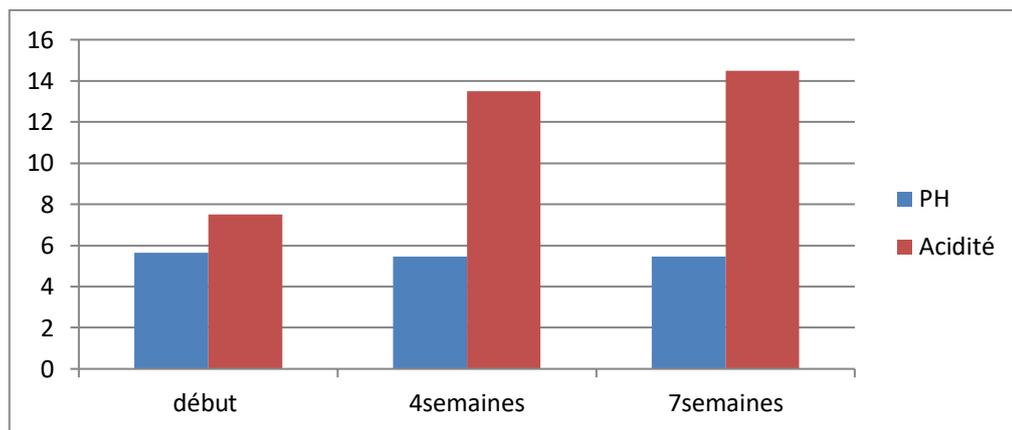
**Figure 16 :** Fromage fabriqué de type Gouda

## 5.1. Evaluation de la qualité du fromage fabriqué

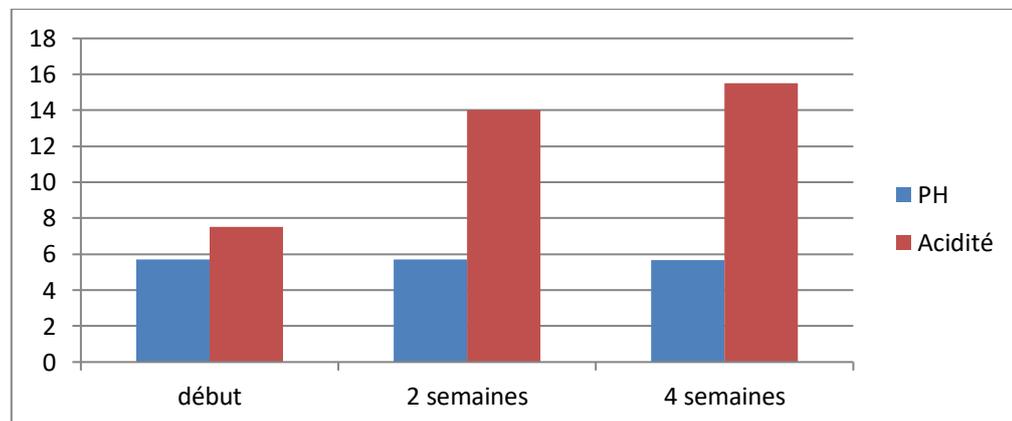
### 5.1.1. Détermination de la qualité nutritionnelle

#### ➤ pH et acidité

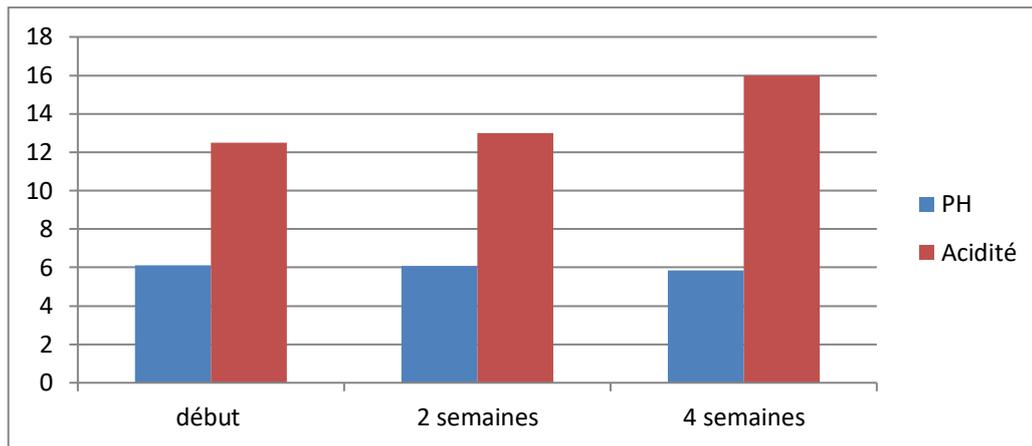
L'évolution du pH et de l'acidité des trois fromages fabriqués au cours du stockage est représentée par les figures 20, 21 et 22



**Figure 17:** Evolution du pH et d'acidité du fromage 1



**Figure 18:** Evolution du pH et d'acidité du fromage 2



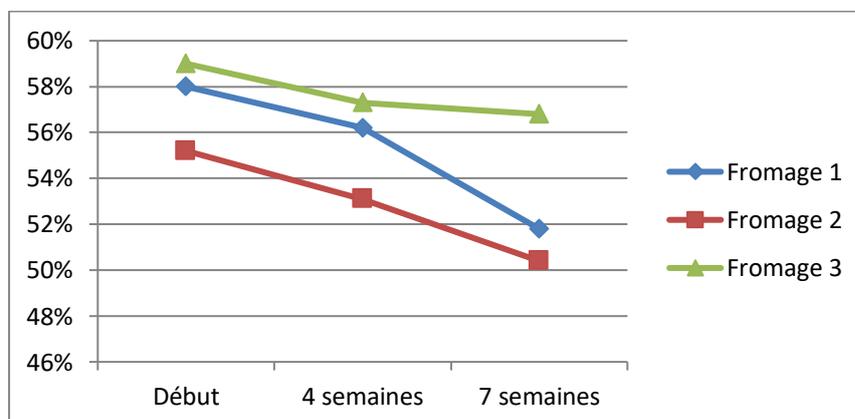
**Figure 19:** Evolution du pH et d'acidité du fromage 3

Selon **Drider et Prevost (2002)**; la croissance des bactéries lactiques dans le lait entraîne une production importante d'acide lactique par la consommation du lactose, le sucre majoritaire conduisant à l'abaissement du pH. Pour cela on note :

- Une diminution modéré du pH des 3 types de fromage au cours de maturation jusqu'à pH=5.45 pour le ferment 1, pH=5.67 pour le ferment 2 et 5.84 pour le ferment 3)
- Un taux d'acide lactique qui augmente progressivement au bout de 7 semaines de maturation (14.5°D produit par le fromage 1, 15.5°D par le fromage 2 et 16°D par le fromage 3).

### ➤ Matière sèche

La matière sèche du fromage est constituée, hormis la graisse, de protéines, des minéraux et de vitamines 0



**Figure 20:** Contrôle de la matière sèche des 3 types du fromage

Les résultats obtenus sont illustrés par la **figure 23**. Il apparaît que la matière sèche des trois fromages présente une diminution progressive pendant la durée de maturation :

Au début, les valeurs de la matière sèche étaient élevées, 58% pour le fromage à base du ferment F1, 55,2% pour le fromage préparé à partir du ferment F2 et 59% pour le fromage à base du ferment F3, ensuite ces valeurs chutent au bout de 7 semaines jusqu'à 51,8 %, 50,4% et 56,8% pour les trois fromages F1, F2 et F3 respectivement..

Les valeurs obtenues après calcul montrent que notre fromage est conforme aux normes générales du fromage de type Gouda.

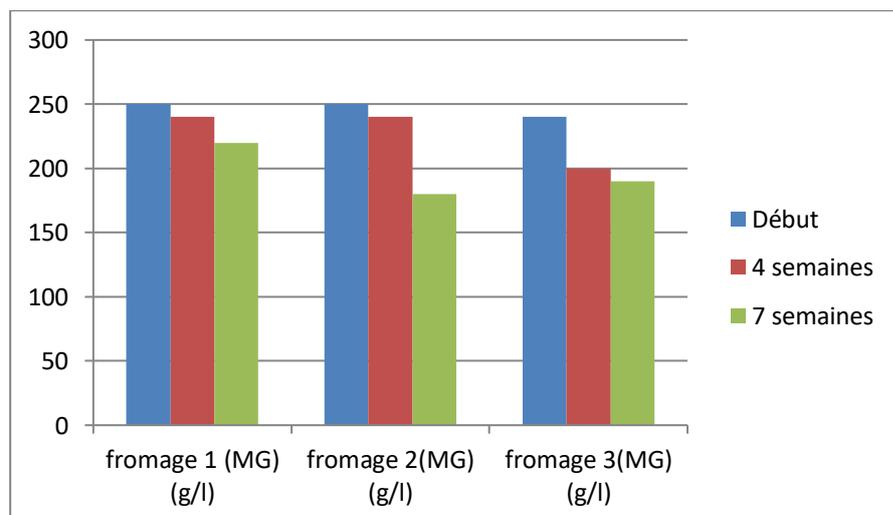


Fromage avant dessiccation

Fromage après dessiccation

**Figure 21:** Aspect du fromage avant et après dessiccation

➤ **Matière grasse :**



**Figure 22:** Contrôle de la matière grasse des 3 types du fromage

Au bout de 7 semaines de maturation, la valeur de matière grasse diminue de 250g/l à 220g/l pour le fromage 1, de 250g/l à 200g/l pour le fromage 2 et 220g/l à 190g/l pour le fromage 3.

Les résultats obtenus sont illustrés par la **figure 25**. Il apparaît que la matière grasse des trois fromages ne présente pas une diminution significative pendant la durée de conservation. Pour cela **Drideret Prevost (2009)** ont déduit que les bactéries lactiques ne contribuent que faiblement à la lipolyse dans les fromages, mais jouent essentiellement un rôle coopératif avec d'une part, la lipase naturelle du lait (lipoprotéine lipase) et d'autres part, avec les autres micro-organismes de la matrice.

➤ **Chlorure et éléments minéraux (cendres)**

Résultat pour 100gr	Chlorure	Matières minérales
<b>Fromage 1</b>	1280 mg	2,4 0gr
<b>Fromage 2</b>	1620 mg	3,76 gr
<b>Fromage 3</b>	810 mg	2,63 gr

**Tableau 9:** Taux de Chlorure et des éléments minéraux (cendres) des trois fromages

Les résultats obtenus de différents types de fromage fabriqués semblent intéressants et permettent de conclure que par comparaison au fromage de type Gouda, donnés par la bibliographie. Ces résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par **Jaubert,(1997); Heuchel et al,(2000); Mahaut et al,(2000) et Vignola et al, (2002)**.

Les fromages les plus gras contiennent relativement moins d'éléments minéraux calcium et de phosphore. Le lait présuré donne un fromage plus riche en calcium que le lait acidifié. (**Mahaut et al, 2000**).

La forte teneur en chlorures peut être expliquée par l'addition de sel. En effet, **Buchin et Noël (2002)** indiquent que la teneur en chlorures peut varier fortement d'un produit fromager à l'autre (de 0,4g à 4,6g/100g). Cette variabilité s'explique par l'inconstance d'une addition de sel. Dans certains pays (Iran, Turquie), le sel ajouté représente jusqu'à 10% du poids du produit fini.



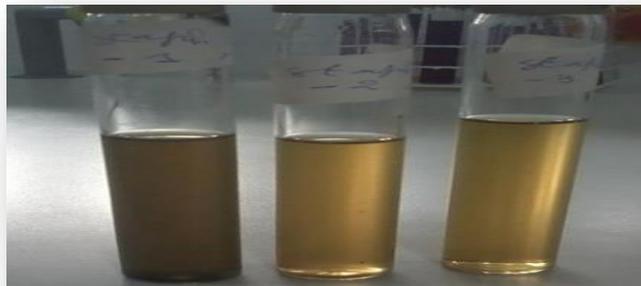
**Figure 23:** Virage de la couleur des solutions du Fromage 1, 2, 3 après titrage

### 5.1.2. Détermination de la qualité microbiologique

Les indicateurs de la qualité et des bonnes pratiques de fabrication des aliments pour **Cardinal (2003)**, sont les microorganismes et/ou leurs produits métaboliques, dont la présence dans des aliments peut être utilisée pour évaluer la qualité d'un produit. Pour cela les analyses microbiologiques font l'objectif de vérifier et contrôler la qualité d'un aliment.

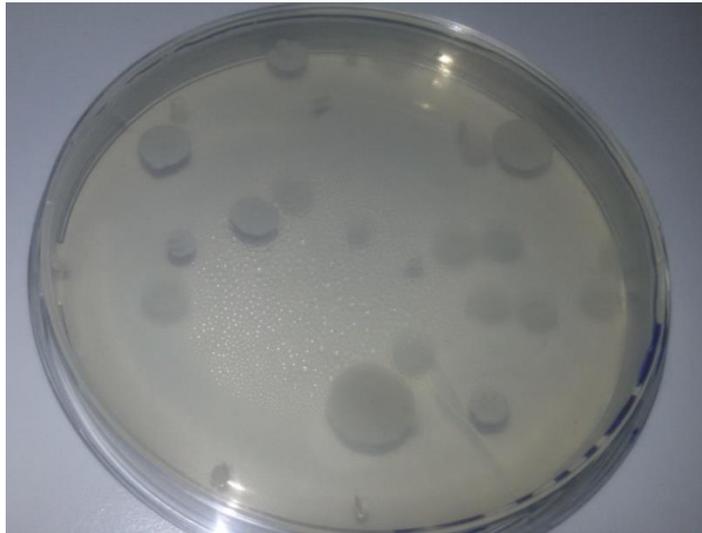
L'analyse microbiologique des différents types de fromage montre :

- La présence en très faible nombre de Staphylocoques (qui doit être  $<10^3$  selon la norme **J.O.R.A 1998**), de coliformes totaux et de flore indologène (qui doivent être  $< 2/g$  et  $<5/g$  respectivement, selon les normes de **la directive des communautés européennes 92/46**).



**Figure 24 :** Résultat de recherche de *Staphylococcus aureus*

- Selon **Alais et Linden(1997)** ; Les levures se trouvent aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des fromages. Elles sont en générales hâtives, car elles supportent bien les milieux acides (pH inférieur à 5) et salés. Les moisissures se trouvent le plus souvent en surface, pour cette raison on a remarqué la présence de levures et moisissures dans les 3 types de fromage. Et malgré qu'ils ne sont pas pathogènes mais leur présence n'est pas souhaitable dans le fromage et aussi de type gouda.



**Figure 25:** Aspect des levures après ensemencement sur milieu OGA

# Conclusion

## Conclusion

Les bactéries lactiques ont été utilisées par l'homme depuis le néolithique pour fabriquer des aliments fermentés. D'où notre objectif de purifier ces souches et les appliquer en technologie de fromage.

Au début de cette étude nous nous sommes intéressées à la recette du fromage Gouda. Afin de connaître le rôle des ferments dans celle-ci, nous avons observé ce qu'il se passe si on utilise trois types de ferments lactiques par diversifier les types de souches.

Onze souches de bactéries lactiques ont été purifiées qui sont : *Lactococcus subsp.lactis*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc pseudomesenterides*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus subsp.lactis*, pour être utilisées comme levain dans la fabrication fromagère.

Dans un premier temps, on a pu observer que les ferments lactiques possèdent un pouvoir acidifiant permettant au lait de s'acidifier, cela a été démontré par l'accroissement de l'acidité des ferments qui augmente de 15 à 75°D pour le ferment 1, de 12,5 à 61°D pour le ferment 2 et de 16 à 80°D pour le ferment 3 accompagné avec un abaissement du PH ce qui permet d'empêcher le développement d'autres bactéries telles que *Clostridium.sp* et *Staphylococcus.sp*. C'est important car le fromage est fabriqué pour être consommé, donc il faut éviter qu'il contienne des bactéries potentiellement pathogènes.

La fabrication du fromage repose sur l'action de bactéries en formant l'acide lactique, et de présure sur les composants du lait qui passe de l'état liquide à une masse compacte, plus ou moins solide.

Par ailleurs, on sait, et on a pu constater dans l'expérience du caillage, que tout acide est apte à faire coaguler le lait. Cela explique pourquoi lors de la production de certains fromages, et surtout les yaourts on utilise uniquement les ferments lactiques. Ainsi, le solide obtenu dans l'expérience 'sans ferment' n'est pas ce qu'on appelle du "fromage" et n'aura pas bon goût.

L'exécution aux analyses microbiologiques du fromage fabriqué a révélé sa propriété hygiénique malgré la présence de quelques germes totaux tels que les Staphylocoques et les coliformes, et aux analyses physico-chimiques pour indiquer sa qualité organoleptique et nutritionnelle par le dosage des chlorure qui s'est exprimé par la quantité de sel de 1.280g ,

1.620g et 0.810g pour 100 g de fromage 1, fromage 2 et fromage 3 respectivement accompagné par calcul de la matière sèche pour expliquer pourquoi le fromage aura un goût peu salé après sa maturation, et aussi pour indiquer sa richesse en éléments minéraux.

A la fin, les résultats d'évaluation de qualité du fromage peuvent être intéressants du point de vue technologique et économique.

# Références bibliographiques

## Liste de références

---

1. **Adrian, (1987)** valeurs alimentaires du lait. La maison rustique. Paris 85-95.
2. **Alais C et Linden G, (1997)**. Biochimie alimentaire. *4e Ed., Masson*. Paris. 185-187.
3. **Alais C, (1984)**. Science du lait : principes des techniques laitières. *4e Ed., SEPAIP*. Paris. 814.
4. **Alais, (1975)** Science du lait principal des techniques laitières
5. **Andelot P, (1983)**: Le controle laitier, facteur d'amélioration technique. Rev lait franç 416 : 15-16
6. **Arsan A., Vermiel G ; Dartois A.M., du Fraysseix M.** Alimentation de l'enfant de la naissance à 3 ans, 5ème édition. Paris : Editions Doin, 2011, 222p.
7. **Aesan Amine, Vermiel Guy, Dartois Anne-Marie.** Alimentation de l'enfant de la naissance à 3 ans. Rueil-Malmaison : Editions Doin, 2003. 198 p.
8. **Axelsson L. (2004)**. Lactic acid bacteria: classification and physiology. *In Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. König H. et Fröhlich J. (2009) Springer ed, Allemagne, p 3-29.
9. **Bourbouze A, Chouchen A, Eddebbah A, Pluvinage J, Yakhlef H, 1989.** Analyse comparée de l'effet des politiques laitières sur les structures de production et de collecte dans les pays du Maghreb. Options Méditerranéennes Ser seminaires ; 24758.
10. **Bouvier C, (1993)**.le lait, la nature et les hommes. Explora Presse Pocket , Paris
11. **Buchin S. et Noley Y., (2002)**. Connaissance et choix des produits laitiers : exemple des fromages. *Nafas Pratique*, 10 : 56-59.
12. **Cardinal P, (2003)**. Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, comité provincial sur l'uniformisation et l'interprétation des critères microbiologiques des aliments. *Eddition Québec*. 44-46.
13. **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., (2010)**. Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *In: Biotechnology*

## Liste de références

---

- of lactic acid bacteria : Novel Applications (Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.); Pp 177.
14. **Carole L.Vignola, (2002).** Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc., Canada, 599p.
  15. **Carole L.Vignola, (2002).** Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc., Canada, 599p.
  16. **Cayot P, Lorien D, (1998).** Structures et tech fonctions des proteines du lait. Tech et Doc. Lavoisier, Paris.
  17. **Chamba F.J., (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 787-813.
  18. **Chamba F.J., (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 787-813.
  19. **Cheftel J.C, et al, (1984) :** introduction à la biochimie et à la technologie des aliments à la biochimie. Volume II. Edition lavosier
  20. **CODEX STAN 266-1966**
  21. **Courtet Leymarios Florence.** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation. 2010. 122 p. JOUAN P. Lactoprotéines et lactopeptides, propriétés biologiques. Paris : INRA, 2002. 127 p.
  22. **Debry G (2001).** Lait, nutrition et santé technique et documentation, lavoisier,Paris
  23. **Dellaglio F, (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Ed. Loric
  24. **Deroissart H.B, (1986).** Les bactéries lactiques: lait et produits laitiers vaches, Brebis, Chèvres. Ed. Arria, 3: 343-408.
  25. **Desmazeaud M, (1996).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: utilisation et innocuité. Cahier agricultures, 5: 331-343.

## Liste de références

---

26. **Diffloth (1924)** ; Benyoucef 1986 Fascicule 1. 1985: Fascicule 2 .1979-1985 ; Documents algériens 1951.
27. **Drider Djamel et Prévost Hervé, (2009)** Bacteries lactiques : Physiologie, Métabolisme, Genomique et Applications industrielles, Ed ECONOMICA ,Pp 321-330
28. **Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M. et Prevost, H. (2006)**. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70: 564-582.
29. **Eck André et Jean Claude Gillis, (1997)**. Les Enzymes D'origine Animale : Le Fromage De La Science A L'assurance Qualité, 3ème Edition, Lavoisier Tec& Doc. Paris.
30. **Eigel WN, Buther JF, Ernstrom CA et al, (1984)**, Nomenclature of proteins of cow's milk fifth revision.
31. **FAO, Food and Agriculture Organization, département de l'agriculture**. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. [En ligne] <http://www.fao.org/docrep/t4280f/t4280f04.htm>, consulté le 2 novembre 2013
32. **Guiraud J.P, (1998)**. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris
33. **Guiraud J.P. (2003)**. Microbiologie alimentaire, édition DUNOD, Tec et Doc Lavoisier, Paris, 652 p.
34. **Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004)**. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.
35. **Henri Goudéranche, Bénédicte Camier-Caudron, Jean-Yves Gassi, Pierre Schuck., (2008)**. Procédés De Transformation Fromagère- Partie 1, Pp 305 ; partie 3,Pp 307
36. **J. O, (1993)** La méthode HACCP : contexte et principe d'utilisation - C.T-info n°1
37. **Jaubert G., (1997)**. Flavour of goat farm bulk milk. *Cah Opt Mediter*, 25: 89-93.
38. **Heuchel V., Preckshot G.W. et Bajp AI R.K., (2000)**. Caractérisation et origine des défauts de flaveur dans les fromages de chèvre. Ed. ITPLC. PP 143-155.

## Liste de références

---

39. **Jeantet Romain, Thomas Croguennec, Pierre Brule, (2007).** Science Des Aliments : Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits. 2 : 12, 15 Tec & Doc Lavoisier. Londres-Paris-New York.
40. **JeantetR.,CroguennecT,SchuckP.,BruleG.,2007.**Science des aliments :biochimie, microbiologie, procédés, produits. Paris, Lavoisier, 456p.
41. **Kherzat, B. 2006.**
42. **Kitchen B.J, Taylor G.C, White I.C 1970:** Milkenzyme. Their distribution and activity, Dairy Rec.
43. **Kuzdzal S, (1987).** La matiere grasse – Le lait matière première de l’industrie laitière. INRA
44. **Lankveld JMG, (1995) :** Protein standaridized milk products, composition and properties – IDF Brussels 70-85
45. **Leclerc, (1969).** Microbiologie, Doin. Paris
46. **Lenoir J, (1985).** Les caséines du lait. *Rev lait franç*, 440 : 17-23.
47. **Lenoir, (1987) :** les caseines du lait RLF 440 : 17-23
48. **Luquet, FM, (1985).** Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. 3volumes. Paris, technique et documentation, Lavoisier.
49. **Madigan Michael et Martinko John, (2007)** Brock Biologie des micro-organismes 11<sup>e</sup> édition. Université Carbondale de l’Illinois du sud. Traduction française dirigée par Daniel Prieur, Professeur de microbiologie à l’université de Bretagne occidentale. Pp 380-381.
50. **Mahaut M., Jeantet R. et Brule G, (2000).** Initiation à la technologie fromagère. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. 194 p.
51. **Mahaut M., Jeantet R. et Brulé G, (2003).** Initiation à la technologie fromagère. Paris, Lavoisier, Technique Et Documentation, Lavoisier, France ; Pp 24-102.

## Liste de références

---

52. **Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In* : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc.* New York. 73, 102
53. **Mc Sweeney P.L. H, (2004);** Biochemistry of cheese ripening. Vol 57, No 2/3 , *Int. J. of Dairy Technol* , 127-144.
54. **Mc Sweeney P.L.H. and Sousa M.J, (2000)** Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: A review. *Le Lait*, 80, 293–324.
55. **Naouale Ait Abdelouahab ;** microbiologie alimentaire, Office des publications universitaires : 04-2001 ; Pp 101-102
56. **Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO),** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Collection FAO: Alimentation et nutrition, 1998, n° 28, ISBN 92-5-20534-6
57. **Pien J, (1975) :** physicochimie du lait. *Tech lait*, 841 : 13 – 149 844 : 21-23
58. **Plommet M, (1987).** La traite et les infections de la mamelle *Aun nutre Alim.* 20, 43 57
59. **Pointurier Hubert, (2003).**La gestion matières dans l'industrie laitière. Edition Technique et Documentation, Lavoisier ; Londres-Paris- New York. PP 292-293.
60. **Roukas T. et Kotzekidou P, (1998).** Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enz. Microbiol. Technol.* 22: 199-204.
61. **Sanson A 1888a ; Sanson, A 1888 b ;**Geoffray St Hilaire H.1919 .Sadeler M 1931 ; . Rege J.E.O et coll. ; .Muzzolini A 1983 ;MA (1999-2001),Von Den Driesh .A (1992) ; Nedjraoui, D : (2001)
62. **Site de Lactel [en ligne], (2008),** <http://www.lactel.fr/> (consulté le 17/06/09)
63. **St-Gelais D. et Patrick Tirard-Collet, (2002).** *In* : Science Et Technologie Du Lait, Transformation Du Lait, Canada, Pp 349.
64. Tout sur le fromage de Gouda. **PDF**

## Liste de références

---

65. **Veisseyre, (1975)** Technologie du lait 3eme édition, la maison rustique Paris
66. **Vierling E.(2008)**. Aliments et boissons filières et produits. 3éme édition Biosciences et techniques.Paris.pp :15-16.
67. **Vignola C.L., Michel J.C., Paquin P., Moineau M., Pouliot M. et Simpson R., (2002)**. Science et technologie du lait : transformation du lait. Techniques et documentation Lavoisier. 600
68. **Vignola, Carole L (2002)** sciences et technologie du lait transformation du lait. Ecole polytechniques de Montréal 2002
69. **Weber F., (1997)**. L'égouttage du coagulum. *Applied Biochemistry and Biotechnology*,33 (2): 22-26.
70. **Whitney R, Brunner J, Ebner K et al, (1976)**. Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fowth revision. J. dairy Sci



**Annexes**

<b>ANNEXE I : Composition de milieux de culture</b>
---

**Tableau 1 :** composition d'Agar PCA

<b>❖ Plate Count Agar (PCA) :</b>	
Bio tryptase .....	5 g
Extrait de levure.....	2.5 g
Glucose .....	1 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
Autoclave 15min a 115°C	

**Tableau 2 :** composition du bouillon Giolitti Canttoni

<b>❖ Bouillon Giolitti Canttoni :</b>	
Peptone de caséine .....	10 g
Extrait de viande.....	05 g
Extrais de levure.....	05 g
Chlorure de lithium.....	05 g
Mannitol.....	20 g
Chlorure de sodium.....	05 g
Glycine .....	12 g
Pyruvate de sodium .....	05 g
Eau distillée.....	1000ml
Ajout de Tellurite de potassium.....	0.025g
pH final 7.4	

**Tableau 3 :** Composition du milieu VRBL

<b>❖ Milieu VRBL :</b>	
Peptone de viande.....	10 g
Bile de bœuf desséchée.....	20 g
Lactose.....	10 g
Vert brillant.....	23ml
Eau distillée.....	1000ml
pH 7.4	
Dissoudre de 40g dans un litre d'eau distillée.	
Autoclave 15 minutes à 121 °C	
Conserver dans un endroit frais et en absence d'humidité	

**Tableau 4 :** composition de la gélose OGA

<b>❖ Gélose OGA (Oxytetracycline-glucose-Yeast Extract Agar)</b>	
Extrait de levure .....	5 g
Glucose .....	20 g
Agar .....	12 g
Oxytetracycline .....	0,1 g
Eau distillée .....	1000 ml
PH final 7 +/- 0,2	

**Tableau 5 :** composition de la gélose VF

<b>❖ Gélose Viande - Foie</b>	
Peptone viande-foie .....	30 g
Glucose .....	2 g
Amidon soluble .....	2 g
Sulfite de sodium .....	2,5 g
Citrate ferrique ammoniacal .....	0,5 g
Agar .....	11 g
Eau distillée .....	1000 ml

**Tableau 6 :** composition du bouillon eau peptonée

<b>❖ Bouillon eau peptonée exempte d'indole</b>	
Peptone .....	10,00 g
Chlorure de sodium.....	05,00 g
pH 7.2	
Eau distillée.....	1000 ml
Autoclave 15 minutes à 120°C.	

**Tableau 7 :** composition du milieu MRS bouillon

<b>❖ MRS bouillon PH 6, 8 (Man Rogosa Sharpe)</b>	
Peptone de caséine.....	10,00 g
Extrait de viande.....	08,00 g
Extrait de levure.....	04,00 g
D (+) Glucose.....	20,00 g
Di-potassium hydrogénophosphate.....	00,20 g
Tween 80.....	1,00 ml
Di-Ammonium hydrogencitrate.....	02,00 g
Sodium acétate.....	05,00 g
Sulfate de magnésium (MnSO4).....	00,20 g
Manganèse sulfate.....	00,04 g
Eau distillée.....	1000ml

**Tableau 8 :** composition de la gélose MRS

❖ MRS gélose PH 6,8 (Man Rogosa Sharpe)	
Extrait de levure .....	05,00 g
Extrait de viande .....	10,00 g
Peptone .....	10,00 g
Acétate de sodium.....	05,00 g
Citrate d'ammonium.....	02,00 g
Glucose.....	20,00 g
Phosphate di-potassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ).....	0,25 g
Sulfate de magnésium (MnSO <sub>4</sub> ).....	0,05 g
Tween 80.....	1,00 ml
Agar-agar.....	18,00 g
Eau distillée.....	1000ml

**Tableau 9 :** composition de la gélose M17

❖ Milieu M17 gélose	
Tryptone.....	02,50 g
Peptone pepsique de viande.....	02,50 g
Peptone papainique de soja.....	05,00 g
B –Glycérophosphate de sodium.....	19,00 g
Lactose.....	05,00 g
Extrait de viande.....	02,50 g
Extrait de levure.....	05,00 g
Magnésium sulfate.....	00,25 g
Acide ascorbique.....	00,50 g
Agar .....	15,00 g
Eau distillée.....	1000 ml

**ANNEXE II : Evaluation du pouvoir acidifiant des différents ferments et des paramètres physico-chimiques des 3 types de fromage**

**Tableau 10:** Pouvoir acidifiant du ferment 1

Heures	F1	
	PH	Acidité (°D)
0 h	6,55	15
2 h	6,41	16
6h	5,78	36,5
24h	4,5	75

**Tableau 11:** Pouvoir acidifiant du ferment 2

Heures	F2	
	PH	Acidité (°D)
0 h	6,86	12,5
2 h	6,5	14
6h	5,98	22,5
24h	4,64	61

**Tableau 12:** Pouvoir acidifiant du ferment 3

heures	F3	
	PH	Acidité (°D)
0 h	6,75	16
2 h	6,7	25,3
6h	5,98	38,5
24h	4,45	80

ANNEXE II : Evaluation du pouvoir acidifiant des différents ferments et des paramètres physico-chimique des 3 types de fromage

---

**Tableau 13:** Evolution du pH et de l'acidité du fromage 1

Temps	Fromage 1	
	PH	Acidité
début	5,65	7,5
4semaines	5,47	13,5
7semaines	5,45	14,5

**Tableau 14:** Evolution du pH et de l'acidité du fromage2

Temps	Fromage 2	
	PH	Acidité
début	5,71	7,5
2 semaines	5,69	14
4 semaines	5,67	15,5

**Tableau 15:** Evolution du pH et de l'acidité du fromage 3

Temps	Fromage 3	
	PH	Acidité
début	6,13	12,5
2 semaines	6,09	13
4 semaines	5,84	16

**Tableau 16:** Contrôle de la matière grasse des 3 types de fromages

Temps	fromage 1 (MG) (g/l)	fromage 2(MG) (g/l)	fromage 3(MG) (g/l)
Début	250	250	240
4 semaines	240	240	200
7 semaines	220	180	190

ANNEXE II : Evaluation du pouvoir acidifiant des différents ferments et des paramètres physico-chimique des 3 types de fromage

---

**Tableau17** : Contrôle de la matière sèche des 3 types du fromage

Temps	Fromage 1	Fromage 2	Fromage 3
Début	58%	55,20%	59%
4 semaines	56,20%	53,10%	57,30%
7 semaines	52%	53,10%	56,80%

**ANNEXE III : Fiche de dégustation**

