



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعاما 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 Académique**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée.

Thème :

Essai d'élaboration d'un fromage affiné local

Soutenu le : 04- 07-2018

Présenté par :

Melle Mesbahi Wiam

Melle Ouadjene Hadjer

Devant le jury:

Mr.Amrouche. Z

Président

MAA (UDB) Khemis-Miliana

Mme. Saadi. F

Promotrice

MCB (UDB) Khemis-Miliana

Mme. Benshaila. S

Examinatrice

MAB (UDB) Khemis-Miliana

Mme. Zaouadi. N

Examinatrice

MAA (UDB) Khemis-Miliana

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Louanges à Dieu, Le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage pour pouvoir accomplir ce travail.

*Nos vifs remerciements et notre profond respect aux membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer et de juger ce travail, Président : **Mr Amrouche** et Examinatrice : **Mme Benshaila** et **Mme Zaouadi**.*

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

*Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire microbiologie d'Université Djilali Bounaama Khemis-Miliana ; en particulier **Aicha, Khadidja** et **Affaf**. Nous associons à ces remerciements le personnel de la laiterie des **ARIB** et ceux du laboratoire microbiologie et physico-chimie pour leur patience et leur précieuse aide, pendant la réalisation de ce travail en particulier **Mr Kadaoui, Sarah** et **Latifa**.*

*Nos remerciement les plus distincts s'adressent à **Mr Hadj Kelifa R**, chef de service contrôle de qualité à la direction de commerce d'Ain-Defla ; ainsi que **Mr Ben Djebour A**, chef de service au laboratoire de contrôle de qualité et répression des fraudes de Chelef.*

Nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A l'être le plus chère à mon cœur, ma mère, à qui je dois tout ce que je suis. Merci maman pour ta foi en moi et tes encouragements.

A mon frère Mohamed, à qui je souhaite beaucoup de réussite dans sa vie future.

A mes cousins adorés Myryem, Bahidja, Zola, Fella et kader, ainsi que leurs enfants Manel, Fehd, Riyadh, Yasmine, Anis, Nesrine et Zahid ; qu'Allah les bénisse.

A toutes mes amies, en particulier : Imen, Radhia, Hayet, Rima, Wiam et Khawla.

*A ma promotrice Mme Saadi.F ; ainsi qu'à tous mes professeurs, en particulier : mon prof. de sciences **Mr Kardjadj.M.***

A tous ceux que j'aime dans ce monde.

Hadjer.

Dédicace

Avec tout l'amour qui se trouve dans mon coeur, Je dédie ce mémoire à :

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

A mes frères et sœurs :Adel ; Okba ; Abelkader ; Fayssal ; Siham et Razika qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité aussi Hadjer et Fatima EL- zahraa

A Ma chère tante Djouher et mon oncle Mohamed, que ce modeste travail, , soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

Ma promotrice Mme Saadi.F et tous mes profs qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

A mes amies ; Hadjer. Bouchra ; Rabiaa ; Samira ; Amel ; Khawla ; Djihad et Rania ;

Et à toutes les personnes (famille, amis), qui ont dû me supporter pendant la préparation de ce travail

Wiam.

Résumé

Le fromage est l'un des laits fermentés les plus consommés dans le monde, il a une place importante dans l'alimentation de presque toutes les sociétés.

La présente étude porte sur la fabrication d'un fromage local type Gouda par l'utilisation de lait de vache comme matière première et des souches de bactéries lactiques de la collection de laboratoire de microbiologie de Khemis-Miliana, afin de constituer trois ferments (F1, F2, F3) servant comme cultures starters. Les résultats préliminaires, physicochimiques (pH, acidité, densité, dosage de la matière grasse et de l'extrait sec total) et microbiologiques (dénombrement de la GAMT et de la flore indogène), du lait pasteurisé indique qu'il est de bonne qualité. L'ensemble des ferments présentent un bon pouvoir acidifiant (avec des valeurs de pH atteignant 4.64, 4.5 et 4.35 pour F1, F2, et F3 respectivement). Bonne propriété fonctionnelle qui peut être exploitée.

L'application de ces ferments dans la fabrication du fromage type Gouda a été réalisée dans de bonnes conditions (matière première, hygiène, travail mécanique...) ce qui a permis d'aboutir à un fromage de qualité microbiologique, organoleptique et nutritionnelle intéressante.

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

Abstract

Cheese is one of the most widely consumed fermented milk in the world and has an important place in the diet of almost all societies.

The present study focuses on the production of local cheese Gouda type using cow's milk as raw material and strains of lactic acid bacteria from the Khemis-Miliana microbiology laboratory collection, to constitute three ferments (F1, F2, F3) serving as starter cultures. The Preliminary physicochemical (pH, acidity, density, dosage of fat and total solids) and microbiological (enumeration of GAMT and indogen flora) results, of the pasteurized milk indicate that it is of good quality. All the ferments have a good acidifying power (with pH values up to 4.64, 4.5 and 4.35 for F1, F2, and F3 respectively). Good functional property that can be exploited.

The application of these ferments in the manufacture of Gouda cheese was done in good conditions (raw material, hygiene, mechanical work ...) which led to a cheese of microbiological quality, organoleptic and nutritional interesting.

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

ملخص

يعتبر الجبن واحدا من أكثر أنواع الحليب المخمرة الواسعة الاستهلاك في العالم كما يحظى بمكانة مهمة في النظام الغذائي في جميع المجتمعات تقريبا.

تتركز دراستنا على تصنيع جبن محلي من نوع الغودا باستخدام حليب البقر كمادة خام وسلالات من بكتيريا اللبنية من مجموعة مختبرات علم الأحياء الدقيقة خميس مليانة، لتشكيل ثلاثة خمائر لبنية (خ1، خ2، خ3). النتائج الأولية، الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية، تشير إلى أن الحليب المبستر ذو نوعية جيدة. و كذا مجموعة الخمائر التي لها درجة حموضة عالية (مع قيم pH تصل إلى 4.64، 4.5 و 4.35 لـ خ1، خ2، و خ3 على التوالي) و خصائص وظيفية جيدة يمكن استغلالها.

إن تطبيق هذه الخمائر الثلاثة في صناعة جبن الغودا قد تمت في ظروف جيدة (المواد الخام، والنظافة، والعمل الميكانيكي...) مما سمح بالوصل إلى جبن ذو جودة ميكروبيولوجية، حسية و غذائية مثيرة للاهتمام.

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

Liste des abréviations

- **Noms de genres bactériens**

B. : *Bacillus*.
Bf. : *Bifidobacterium*.
En. : *Enterococcus*.
Lb. : *Lactobacillus*.
Lc. : *Lactococcus*.
Ln. : *Leuconostoc*.
P. : *Pediococcus*.
S. : *Staphylococcus*.
St. : *Streptococcus*.
sp. : Espèce non précisée.
ssp. : Sous espèce.

- **Unités de mesure**

°C : Degré Celsius.
°D : Degré dornic.
g, mg : Gramme, milligramme.
h, min, s : heure, minute, seconde.
N : Normalité.
l, ml, µl : Litre, millilitre, microlitre.
M, mM : Molaire, millimolaire.
cm, mm, nm : Centimètre, millimètre, nanomètre.
T : Température.
UFC : unité formant colonies.
tr/min : tour par minute.
V/V : Volume par Volume.
g/l : gramme par litre.
% : pourcentage.
U : Unité.
UI : Unité Internationale.
Kcal : kilocalor

- **Autres abréviations**

CO₂ : Dioxyde de carbone.
DO : densité optique.
EST : Extrait Sec Totale.
ESD : Extrait Sec Dégraissé.
FAO : Food and Agriculture Organisation.
G/S : Gras sur Sec.
H₂O₂ : Eau oxygénée.
LDC : Lysine Décarboxylase.
MRS : Man Rogosa Sharpe.
MSD : Matière Sèche Dégraissée.
MST : Matière Sèche Totale.
NaOH : hydroxyde de sodium.
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PH : Potentiel d'Hydrogene.
VF : Viande de Foie.
VRBL : Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.
Ig : immunoglobuline.
SCN : thiocyanate.
OSCN : hypothiocyanate.
EPS : exopolysaccharides.
® : Rejistred.
CaCl₂ : Chlorure de calcium.
KNO₃ : Nitrate de potassium.
PCA : milieu comt agar.
AFNOR : Association française de normalisation.
AOAC : Association of Official Analytical Chemists International.
ISO : Organisation internationale de normalisation.
GCI : Green chemistry instute
H₂SO₄ : l'acide sulfurique.
% NT : pourcentage d'azote total.
CPG : chromatographie phase gazeuse.
F1 : ferment 1.
F2 : ferment 2.
F3 : ferment 3.

Liste de tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimique du lait de vache.....	3
Tableau 2 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales.....	4
Tableau 3 : Quantité des lipides du lait de vache.....	5
Tableau 4 : Composition du lait en minéraux.....	8
Tableau 5 : Teneur moyenne par litre en vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait.....	9
Tableau 06 : Composition moyenne du fromage.....	12
Tableau 07 : Classification des différents types de fromages et micro-organismes utilisés dans leur fabrication.....	23
Tableau 08 : Rôle des ferments lactiques en fromagerie.....	26
Tableau 09 : Quelques caractéristiques physico-chimiques des trois fromages fabriqués.....	50

Liste des figures

Figure 01 : Appareillage utilisé pour les analyses physico-chimiques.....	30
Figure 02 : Diagramme de fabrication du fromage *Gouda*.....	34
Figure 03 : Les principales étapes de fabrication du fromage.....	35
Figure 04 : Aspect microscopique des souches après coloration de Gram.....	41
Figure 05 : Aspect macroscopique des trois ferments.....	43
Figure 06 : Diminution du pH des trois ferments.....	44
Figure 07 : Production d'acide lactique par les trois ferments.....	44
Figure 08 : Différents types de fromage fabriqué.....	45
Figure 09 : Évolution du pH des quatre fromages au cours de l'affinage.....	47
Figure 10 : L'évolution de l'acidité des quatre fromages au cours de l'affinage.....	48
Figure 11 : Évolution de la matière sèche des quatre fromages fabriqués.....	49
Figure 12 : Évolution de la matière grasse des quatre fromages fabriqués.....	50

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Le lait	3
1.1. Définitions	3
1.2. Caractéristiques physiques et physico-chimiques du lait.....	3
1.3. Composition du lait de vache	4
1.3.1. Eau	4
1.3.2. Lipides.....	4
1.3.3. Glucides.....	5
1.3.4. Matières azotées totales (MAT).....	5
1.3.5. Minéraux.....	6
1.3.6. Oligo-éléments	6
1.3.7. Vitamines	7
1.3.8. Enzymes	8
1.4. Microbiologie du lait	9
1.4.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance.....	9
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).....	10
1.5.3. Le Bovin Laitier Local (BLL).....	10
2. Fromage	11
1. Définition	11
2.2. Composition moyenne du fromage.....	11
2.3. Différents types de fromages.....	11
2.3.1. Fromage à pâte fraîche.....	11
2.3.2. Fromage à pâte pressée.....	13
2.3.2.1. Fromages à pâte pressé non cuite	13
2.3.2.2. Fromages à pâte pressé cuite	13
2.3.3. Fromage à pâte molle.....	13
2.3.3.1. Fromage de pâte molle à croûte fleurie.....	13
2.3.3.2. Fromage de pâte molle à croûte lavée	14
2.4. Principales phases de fabrication du fromage	14
2.4.1. Dégazage.....	14
2.4.2. Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge.....	15
2.4.3. Standardisation.....	15
2.4.4. Homogénéisation.....	15
2.4.5. Pasteurisation.....	15
2.4.6. Maturation du lait.....	15
2.4.7. Emprésurage.....	16

2.4.8. D'écaillage et délactosage.....	17
2.4.9. Egouttage du coagulum	17
2.4.10. Prépressage et le découpage.....	17
2.4.11. Moulage.....	18
2.4.12. Pressage.....	18
2.4.13. Salage.....	18
2.4.14. Affinage.....	18
3. Microflore du fromage	19
3.1. Bactéries lactiques.....	19
3.1.2. Rôles des bactéries lactiques	20
3.1.2.1. Rôles technologiques.....	20
3.1.2.2. Activité acidifiante.....	20
3.1.2.3. Activité protéolytique et lipolytique.....	20
3.1.2.4. Production d'aromes.....	20
3.1.2.5. Aptitude texturante.....	21
3.1.2.6. Bactéries lactiques et conservation des aliments.....	21
3.2. Champignons microscopiques.....	21
3.2.1. Levures.....	21
3.2.2. Moisissures.....	21
3.3. Ferments lactiques.....	24
3.3.1. Définition.....	24
3.3.2. Types de ferments lactiques.....	24
3.3.2.1. Selon la composition.....	24
3.3.2.2. Selon la température de croissance.....	24
3.3.3. Cultures mixtes des bactéries lactiques.....	25
3.3.4. Rôles des ferments lactiques.....	25

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Matériel	27
1.1. Produits biologiques.....	27
1.1.1. Source du Lait de vache.....	27
1.1.2. Ferments.....	27
1.1.3. Présure.....	28
1.2. Milieux de culture.....	28
1.3. Produits chimiques et Réactifs	28
2. Méthodes	28
2.1. Repiquage et revivification des souches.....	28
2.2. Vérification de l'état des souches.....	29
2.2.1. Aspect des colonies.....	29
2.3. Méthodes d'analyses du lait.....	29
2.3.1. Analyses physico-chimiques.....	29
2.3.1.1. Détermination de la densité.....	29
2.3.1.2. Détermination de l'acidité titrable.....	29
2.3.1.3. Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique).....	29
2.3.1.4. Mesure de la teneur en matière sèche totale.....	30
2.3.2. Analyses microbiologiques.....	31
2.3.2.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux à 30°C.....	31
2.3.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	31
2.3.2.3. Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus.....	31
2.3.2.4. Recherche et dénombrement des Clostridium- sulfite réducteurs.....	32

2.4. Procédé de fabrication du fromage type Gouda.....	33
2.4.1. Préparation du levain	33
2.4.2. Pouvoir acidifiant des levains.....	33
2.4.3. Étapes de la fabrication du fromage de type « Gouda ».....	34
2. 5. Méthodes d'analyse du fromage.....	36
2. 5.1. Analyses physico- chimique du fromage.....	36
2. 5.1.1. pH et acidité titrable	36
2.5.1.2. Matière sèche	36
2.5.1.3. Cendres	36
2.5.1.4. Dosage du chlorure.....	37
2.5.1.5. Matière grasse.....	38
2. 5.1.6. Dosage du taux de la matière azotée.....	38
2.5.2. Contrôle microbiologique.....	39
2.5.2.1. Préparation des dilutions décimales.....	39
2. 5.2.2. Dénombrement des levures et moisissures.....	40
2.5.2.3. Recherche de Salmonella.....	40
2.5.3. Analyses sensorielles	40

Chapitre III : Résultats et Discussion.

1. Vérification de l'état des souches.....	41
2. Analyses du lait de vache.....	41
2.1. Analyses physico-chimiques.....	41
2.1.1. pH, acidité et densité.....	41
2.1.2. Matière sèche et matière grasse.....	42
2.2. Analyses microbiologiques.....	42
3. Fabrication du fromage.....	42
3.1. Interactions des bactéries lactiques dans des ferments mésophiles.....	42
3.2. Pouvoir acidifiant des trois ferments.....	43
3.3. Produits fini.....	45
3.4. Contrôle des fromages préparé.....	46
3.4.1. Qualité nutritionnel.....	46
3.4.1.1. pH et acidité.....	46
3.4.1.2. Matière sèche.....	48
3.4.1.3. Matière grasse.....	49
3.4.1.4. Composition en protéines, cendres et chlorures des fromages.....	50
3.4.2. Qualité hygiénique (microbiologique).....	52
3.4.3. Qualité organoleptique.....	54
Conclusion.....	58
Références bibliographiques.....	60

Annexes

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).

La fabrication fromagère dépend essentiellement du lait mais aussi des ferments nécessaires à sa transformation (Mahaut, Jeantet, et Brûle, 2000).

Les ferments lactiques naturels et commerciaux interviennent dans l'élaboration de tous les produits laitiers fermentés (crème maturée, laits fermentés, yaourts, fromages frais et affinés) (Federighi, 2005; Desmazeaud et Vassal, 1979).

Les ferments lactiques étaient constitués d'un mélange inconnu, non maîtrisé et variable, de plusieurs souches ou espèces de bactéries. Actuellement, la production de ferments lactiques s'est développée au sein d'usines spécialisées, à partir de souches bactériennes isolées et sélectionnées (Béal et *al.*, 2008).

Les technologies laitières représentent toutefois le principal secteur d'application des bactéries lactiques. Dans la fabrication fromagère, elles jouent un rôle primordial dans les premières étapes de la transformation du lait, mais elles interviennent aussi, directement et indirectement, dans la phase d'affinage et dans la qualité sanitaire des produits. Leur action est liée principalement à deux aspects de leur métabolisme : la production d'acide lactique et l'activité protéolytique (Desmazeaud et Vassal, 1979).

Notre pays, comme la plupart des pays du tiers monde, ne satisfait pas ses besoins en ferments lactiques ; l'industrie laitière a toujours recours à leur importation. Cependant, l'accroissement de la demande rend cette solution trop onéreuse pour un pays en plein développement. La valorisation des souches locales par leur utilisation comme levain industriel, pouvant remplacer ceux utilisés actuellement, est d'un grand intérêt.

La présente étude s'inscrit dans ce cadre. Elle vise à :

- connaître les différentes étapes Fabrication d'un fromage à base de lait de vache et des cultures starters de bactéries lactiques locales différentes ;
- évaluer la qualité du fromage fabriqué à savoir :
 - Qualité nutritionnelle.
 - Qualité hygiénique.
 - Qualité organoleptique.

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 1er 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 à un 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)

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

1.3. Composition du lait

Le tableau 2 résume la composition moyenne du lait

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

Animaux	Eau (%)	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Jument	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5
Femme	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 lipéide». 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 les lipides simples les glycérides et les lipides complexes les phospholipides (tableau 3) (Cayot et Lorient, 1998)

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

Acides gras	Quantité (%)
Acides gras saturés	67 – 68
Acides gras mono-insaturés	24 – 25
Acides gras poly-insaturés	4 – 5
Rapport acides gras saturés / acides 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 d'acides aminés libres et de petits peptides et d'azote non protéique, essentiellement de l'urée (0,3 à 0,4 g/L) mais aussi de la créatinine, de l'acide urique,... (Eigel et al., 1987)

Les protéines sont constituées soit d'acides aminés seulement (β -lactoglobuline, α -lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines α et β) 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 : là ou plutôt les caséines (α , β , γ 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.

1.3.4.1. 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 μm). Cette configuration spatiale permet aux enzymes hydrolytiques (carboxypeptidases) une digestion plus aisée (Lenoir, 1987).

1.3.4.2. 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).

1.3.4.4. 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

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).

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 CO₂, 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 caséine K 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 Ca^{2+} ou 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 Ca^{++} et 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

La teneur 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

➤ **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) (tableau 5).

➤ **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 (Adrian, 1987).

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 - Vitamine D - Vitamine E - Vitamine K	500 – 1000 UI 15 – 20 UI 1 – 2 mg 0.02 – 0.2 mg
Vitamines hydrosolubles	- Vitamine B1 - Vitamine B2 - Vitamine PP - Vitamine B6 - Acide pantothénique - Vitamine B12 - Vitamine C	0.01 - 0.1 mg 0.8 – 3 mg 1- 2 mg 2 – 1 mg 2 – 5 mg 1 – 8 µg 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 contaminante

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).

2. Fromage

2.1. Définition

Selon le Codex Alimentaire, (2013) le fromage est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dont le ratio lactosérum/caseine n'est pas supérieur à celui du lait.

Le but de l'industrie fromagère est de transformer le lait en un produit d'utilisation prolongée et de goût différent grâce à diverses actions microbiennes et enzymatiques (Leroy et De Vuyst, 2004; Hui, 1992).

A l'échelle mondiale, il existe environ 1000 variétés de fromages différents (Irlinger et Mounier, 2009). Les fromages sont des formes de conservation et de stockage ancestrales de la matière utile du lait dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont très appréciées (Jeantet et *al.*, 2008).

2.2. Composition moyenne du fromage

Le fromage est un aliment de base, riche en graisses, protéines, calcium et phosphore, à longue conservation en comparaison de la durée de conservation du lait à partir duquel il est fabriqué (tableau 6).

2.3. Différents types de fromages

Il existe plus de 350 types de fromages en France à pâte dure ou molle, pressée cuite ou crue, à croûte fleurie ou lavée... On peut regrouper les fromages en 03 catégories :

2.3.1. Fromage à pâte fraîche

La pâte fraîche est la base de tout fromage, et existe au début de tout processus de fabrication, avant toute fermentation et tout affinage. La pâte fraîche est faite à partir de lait et pour certains de petit-lait (lactosérum) tiré du lait entier ou écrémé comme le fromage à la crème. D'autres peuvent être enrichis de crème. Le caillage du lait est obtenu par l'ajout de culture bactérienne et de présure au lait, puis s'amorce un processus d'égouttage léger qui permet d'obtenir une pâte d'une consistance plus ferme tout en lui conservant un taux d'humidité très élevé, de 60 à 80% et une teneur en matière grasse réduite de 0.5 à 30 % (Majdi, 2009). La pâte fraîche est d'un blanc éclatant, d'une texture molle, granuleuse

ou lisse, crémeuse et veloutée selon le fromage. Elle se mélange bien à d'autres ingrédients et aromes comme les fines herbes, l'ail, des épices ou des fruits.

Tableau 6 : Composition moyenne du fromage (Abdoune, 2003).

Composés	Fromage
Eau	<p>Éliminée en partie par la fabrication et sa teneur varie de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 35% (pâte cuite dure) - 50% (pâte molle) - 80% (fromage frais)
Glucides	<ul style="list-style-type: none"> - Pratiquement éliminé avec l'eau par la fabrication
Lipides	<p>Se retrouvent dans la majorité des fromages sauf les fromages maigres :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 23% fromages à pâte molle - 30% fromages à pâte dure
Protéines	<p>La caséine coagulant avec la présure, est l'élément essentiel de tous les fromages (même maigres) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 18% fromages à pâte molle - 19% fromages blancs au lait écrémé - 24% fromages à pâte ferme
Minéraux	<p>Grande richesse en calcium et en phosphore, surtout dans les fromages à pâte ferme rapport Ca/P= 1,26 en moyenne, donc aliment recalifiant ;</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plus au moins riche en chlorure de sodium selon leur fabrication (adjonction du sel, pâte lavée à l'eau salée, etc...)
Vitamines	<p>Fromages fermentés à pâte molle, notamment les fromages bleus, sont de bonnes sources de vitamine B, du fait des synthèses réalisées par les moisissures.</p> <ul style="list-style-type: none"> - se retrouvent dans le fromage selon la teneur en matière grasse.

2.3.2. Fromage à pâte pressée

2.3.2.1. Fromages à pâte pressée non cuite

Les fromages à pâte pressé non-cuite ou demi-ferme qui subissent une période d'affinage assez longue atmosphère fraîche et très humide, les fromages à pâte demi-ferme (cheddar, cantal....) ont une consistance dense et une pâte de couleur jaune pâle. Ces fromages ne doivent être ni desséchés, ni trop faible, la pâte près de croûte ne doit pas être plus foncée. Ils contiennent entre 40 et 60 % d'humidité (Anonyme, 1999).

2.3.2.2. Fromages à pâte pressée cuite

Les fromages à pâte pressé cuite ou pâte dure, sont des fromages pour les quels, après pressage, le caillé est chauffé à 65°C. Puis laisse à l'affinage. Le terme cuite se dit d'un fromage dont le caillé subit un chauffage au moment de son tranchage, lorsqu'il est thermisé, le lait est chauffé à environ 65°C, ce qui ne détruit qu'une partie de la flore, lorsqu'il est pasteurisé, le lait est chauffé de 72 à 85°C pendant 20 secondes maximum, puis refroidi immédiatement à 4°C. Cette procédure détruit la flore naturellement présente dans le lait, et nécessite donc un réensemencement en flore standardisée, ce qui peut avoir pour les industriels l'avantage d'obtenir un gout et une texture réguliers (Majdi, 2009).

2.3.3. Fromage à pâte molle

Les fromages à pâtes molles ont une texture généralement crémeuse et onctueuse avec une légère élasticité dans la pâte. Les pâtes molles contiennent entre 50% et 60% d'humidité. Ce type de fromage se divise en deux catégories : les pâtes molles à croûte fleurie et naturelle et les pâtes molles à croûte lavé. Ils sont fabriqués à partir de lait pasteurisé ou de lait cru de chèvre, de vache ou de brebis (Anonyme, 1999).

2.3.3.1. Fromage de pâte molle à croûte fleurie

Il se caractérise par une croûte blanche à dorée recouverte d'un duvet de moisissures blanc et feutré appelé fleur qui se développe pendant l'affinage ce qui leur donne le nom (croûte fleurie). Ces aspect duveteux de la croûte est dû à la présence du champignon *Penicillium candidum* qui peut être pulvérisé à la surface des fromages en début d'affinage (Pradal, 2012).

2.3.3.2. Fromage de pâte molle à croûte lavée

Le principe de fabrication d'une pâte molle à croûte lavée est semblable à celui des pâtes molles à croûte fleurie, sauf que le caillé est coupé plus ou moins finement avant d'être mis en moule. Ce rompage facilite l'écoulement du petit lait : la pâte sera plus serrée, plus compacte mais néanmoins moelleuse, coulante ou plus ferme, selon le degré de séchage.

Durant l'affinage, qui s'étend sur deux à quatre mois, le fromage est retourné régulièrement puis brossé ou lavé à l'aide d'une saumure additionnée de bière, d'hydromel, de vin ou d'eau-de-vie, ce qui contribue à l'élaboration de ses diverses caractéristiques. Il révèle des saveurs marquées ou prononcées, parfois fortes (Anonyme, 1999).

2.4. Principales phases de fabrication du fromage

Le fromage est le produit frais ou affiné, obtenu par la coagulation de la caséine et de la séparation du lactosérum du lait. La caséine se coagule normalement sous l'effet des levains lactiques. Après la coagulation, le fromage subit un certain nombre de procédés visant à séparer le lactosérum du caillé, l'ensemble de ces procédés permettent l'égouttage du fromage, ce qui est suivi d'une période de vieillissement de durée variable. L'affinement du fromage permet à sa saveur caractéristique de se développer par l'activité microbienne et enzymatique (Abakar, 2012).

Les différences de technologies portent plus particulièrement sur le travail du caillé avant moulage (découpage, brassage, chauffage) ainsi que sur le type de croûte souhaitée (avec ou sans levures et moisissures en surface). Ce sont les conditions d'affinage (température, humidité de la salle d'affinage, soins des fromages) qui sont en partie à l'origine d'un croustade différent des fromages (Tormo, 2010).

2.4.1. Dégazage

Permet de débarrasser le lait des mauvaises odeurs, permet aussi de réduire la destruction des vitamines c'est-à-dire en diminuant fortement la teneur en oxygène ambiant (Majdi, 2009).

2.4.2. Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge

Cette technique utilise les procédés à membrane, qui permettent de séparer les éléments en suspension ou en solution dans un liquide, il permet de retenir les impuretés du lait. L'opération centrifuge est plus efficace, elle retient notamment les leucocytes (FAO, 1995).

2.4.3. Standardisation

Selon les espèces, le type d'alimentation et les saisons, la composition du lait est variable. La standardisation consiste à donner au lait la composition correspondante à celle du fromage à élaborer, elle est réalisée par un ajustement de la teneur en matière grasse et parfois du taux de protéines (Abdoune, 2003).

2.4.4. Homogénéisation

Ce traitement physique par pression fait éclater les globules de matière grasse en fines particules homogènes. L'objectif est d'éviter que la matière grasse ne remonte à la surface, ne gêne l'écoulement du lait ou ne se dépose sur l'emballage lors du traitement thermique de conservation. L'homogénéisation est inutile pour les laits concentrés sucrés, facultative pour le lait pasteurisé, mais indispensable pour les autres types de lait (Abdoune, 2003).

2.4.5. Pasteurisation

C'est un traitement thermique du lait il permet l'élimination des germes pathogènes du lait se fait à une température de 72°C pendant 15 secondes pour ne pas altérer les propriétés organoleptiques du lait (Majdi, 2009).

2.4.6. Maturation du lait

Elle a pour but d'améliorer le lait en tant que milieu de culture pour les bactéries lactiques et d'amener le lait à son pH optimum d'emprésurage. Secondairement, elle contribue à reconstituer les équilibres physico-chimiques du lait ayant peut être perturbés par des traitements antérieurs (réfrigération principalement). Il existe diverses méthodes de maturation dont le choix est en fonction de la qualité du lait reçu, de l'organisation du travail et de la nature du fromage (FAO, 1995). La maturation du fromage s'effectue en deux temps (Majdi, 2009):

- **Une maturation I** : C'est une maturation de période plus au moins longue dure à peu près 15 heures et se fait à une température de 10 à 12°C, cette maturation se fait en présence de ferments mésophiles.

- **Une maturation II** : C'est une maturation de période plus courte, elle va de 30 minute à 2 heures 30 et se fait à une température de 32 à 35°C, cette maturation se fait en présence de ferments thermiques.

2.4.7. Emprésurage

Correspond au moment où l'on ajoute la présure en vue de provoquer sa coagulation : Cette dernière se traduit par une floculation des micelles de caséines qui s'unissent pour former un gel accompagné d'un liquide appelé lactosérum on peut distinguer deux types de coagulation :

➤ **La Coagulation présure**

Diverses enzymes protéolytiques ont la propriété de coaguler le lait, elles sont soit d'origine animale soit d'origine végétale (ficine, broméline), soit d'origine microbienne (enzymes de certaines moisissures ou bactéries). Les enzymes utilisées en fromagerie sont la présure, la pepsine et celle d'origine fongique (FAO, 1995).

La présure est utilisée surtout pour faciliter l'égouttage du fromage on utilise de faibles doses de présure avec une dilution de 1/10000 c'est-à-dire (1,5 à 5 mg par 100 l de lait) et cela à basse température de l'ordre de 15 à 20°C. Le caillé se forme pendant 30-60 mn la fin de la coagulation est une phase très courte qu'il faut déterminer d'autant plus vite que la fabrication à un caractère présure, le temps de prise est le temps au cours duquel le lait perd sa fluidité et gagne sa viscosité (Majdi, 2009).

➤ **Coagulation par acidification lactique**

Sous l'action des bactéries lactiques le lait s'acidifie progressivement, l'acidification du lait peut conduire suivant les conditions, soit de caséine, soit à la formation d'un gel (FAO, 1995). Le lait ne coagule que si le pH atteint des valeurs inférieures à 4.6 (Fredot, 2006).

2.4.8. D'écaillage et délactosage

Cette étape consiste à découper le caillé en grain de petites tailles sous forme de grains de maïs, l'outil utilisé lors de cette étape est le tranche-caillé. Ensuite le délactosage qui consiste à remplacer une partie du sérum par de l'eau pour abaisser la richesse du caillé en lactose pour éviter une sur acidification (réduire l'acidité par l'ajout de l'eau) (Majdi, 2009).

2.4.9. Egouttage du coagulum

Cette étape dure entre 24 et 36 heures, elle est appelée encore (ressuyage). Elle permet d'éliminer le petit-lait encore présent et de fixer la teneur en eau du fromage.

Cette opération se déroule à une température de 18 à 20°C, une température trop basse nuit à un bon égouttage, et trop élevée fournit un fromage trop sec (Fournier, 2007). L'égouttage est le résultat de deux phénomènes physiques différents (FAO, 1995) :

- Un phénomène actif, la synérèse, qui est dû à la contraction du gel ; il est particulièrement important dans les coagulums présure.
- Un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum occlus ; cette exsudation spontanée du sérum, liée à la perméabilité du coagulum, est une des caractéristiques des gels lactique.

2.4.10. Pré-pressage et le découpage

Transvasement dans la table de pré-pressage à ce moment le fromager juge alors que l'égouttage est suffisant pour commencer le moulage du fromage.

Le mélange grain de caillé et petit lait est soutiré directement de la cuve à la table de pré-pressage où il subit un premier pressage. Dans le même temps, le lactosérum est envoyé dans un tank de stockage à 5°C. Le pré-pressage se fait à une intensité de 1 bar pendant une durée de temps qui varie entre 30 et 45 min. Après un court pressage, le (gâteau de caillé) formé est découpé en cubes dont le format dépend de la taille des moules du fromage (Majdi, 2009).

2.4.11. Moulage

Les fromages sont pressés dans des étoiles cerclées de bois ou d'un autre matériau ou encore pris dans des moules perforées, ce qui permet d'obtenir leur forme définitive (Fredot, 2006).

2.4.12. Pressage

Le pressage se fait à l'aide d'une presse automatique ; le pressage du fromage se fait en deux temps (Majdi, 2009):

- **Le premier pressage** : se fait à une force de 1,5 bar pendant 45 minutes.
- **Le deuxième pressage** : se fait à 2,5 bar pendant 2h 30 minutes. Il consiste à éliminer fortement le lactosérum et donner au fromage sa forme définitive en utilisant des moules en plastique alimentaire.

2.4.13. Salage

On peut saler le fromage soit par pulvérisation en surface de sel fin (à pâte molle) soit par immersion dans un bain de saumure (=eau +sel) (Fredot, 2006). Le sel joue un triple rôle :

- Il complète l'égouttage et contribuera ainsi à la formation de la croûte.
- Il règle l'activité de l'eau et ainsi favorise ou freine le développement des microorganismes tout en régulant les activités enzymatique.
- Il révèle la saveur propre du fromage en influençant le goût et en renforçant les arômes

2.4.14. Affinage

C'est la phase ultime de la fabrication des fromages caillés qui lui permet d'acquérir sa saveur caractéristique, elle se fait dans des conditions particulières de température de l'ordre de 13°C, d'humidité comprise entre 80-90%, et d'aération et cela pendant 30 jours.

Enfin les boules obtenues sont trempées dans une cire alimentaire de couleur jaune puis stockées (Majdi, 2009). L'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir (Abdoune, 2003) :

- la dégradation des protéines.
- l'hydrolyse de la matière grasse.
- la fermentation du lactose.

3. Microflore du fromage

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits (Hermier, Lenoir et Weber, 1992) (tableau 7).

3.1. Bactéries lactiques

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autres, par leur activité acidifiante. Les lactobacilles utilisés pour leur activité acidifiante sont *thermophiles* et appartiennent au groupe I : *Lactobacillus. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus. delbrueckii ssp. lactis* et *Lactobacillus. helveticus*. Se développant assez difficilement au pH initial du lait, les lactobacilles thermophiles ne sont jamais utilisés seuls en fromagerie (Hassan et Frank, 2001; Chamba, 2008).

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO₂ ...etc.) (Leveau et Bouix, 1993; Pilet et Federigh, 2005).

3.1.2. Rôles des bactéries lactiques

3.1.2.1. Rôles technologiques

La pluparts des produits obtenues par fermentation résultent de procédés traditionnels, dont l'objectif initial est la conservation ou la valorisation des matières premières. La participation de la flore lactique aux caractéristiques organoleptiques, technologiques, nutritionnelles et sanitaires de ces produits s'exerce par différentes propriétés métaboliques (Farrah et Rouabah, 2006).

3.1.2.2. Activité acidifiante

La transformation du lactose (ou d'un autre sucre assimilable) en acide lactique conduit à l'acidification du produit. Cette acidification accroît sa durée de vie, en limitant sa contamination par les microorganismes d'altération ou pathogènes, et lui confère des caractéristiques organoleptiques particulières (Frank et Hassan, 1998; Mäyrä-Mäkien et Bigret, 2004).

3.1.2.3. Activité protéolytique et lipolytique

Un grand nombre de composés issus de la protéolyse, des activités lipolytiques et esterasiques participent à la formation d'arôme lors de l'affinage des fromages (Harper, Armoraet Chenj, 1980).

Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor et al., 2007; Monnet et al., 2008; Roudj et Belkheir, 2009).

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les *lactobacilles* (Béal et al., 2008).

3.1.2.4. Production d'aromes

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol,

l'acétate, le formiate, ...etc) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996; Smit, Smit, et Engels, 2005).

3.1.2.5. Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (Leroy et De Vuyst, 2004; Ho et *al.*, 2007).

3.1.2.6. Bactéries lactiques et conservation des aliments

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bio-conservation des aliments (Labaoui et *al.*, 2005).

Les acides organiques : comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

Les bactériocines : les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricine (Ogunbanwo, Sanni, et Onilude, 2003; Dortu et Thonart, 2009).

3.2. Champignons microscopiques

3.2.1. Levures

Parmi les nombreuses espèces de levures peuplant le lait, seules certaines espèces peuvent se maintenir dans le caillé. Elles produisent des composés d'arôme (Bouix et Leveau, 1980).

3.2.2. Moisissures

Elles jouent un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages. Citons *penicillium caseicolum* dans le fromage de Brie, *Penicillium camembertii* et *Geotrichum* dans le Camembert, *Penicillium roquefortii* dans les fromages à pâte persillée type roquefort.

Ces moisissures ont une activité lipolytique et protéolytique intense. La caséine, les graisses du caillé sont métabolisées en un grand nombre de composés concurrent largement au développement des qualités organoleptiques du fromage. La plupart consomment l'acide lactique, ce qui désacidifie le fromage et contribue à lui donner sa texture définitive (Bouix et Leveau, 1980).

Tableau 7: Classification des différents types de fromages et microorganismes utilisés dans leur fabrication

Type de fromage	Description	Microorganismes utilisés	Références
Fromage à pâte fraîche	Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidifiants)	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. lactiscremoris</i> , <i>Lc. lactisdiacetylactis</i> .	(Chamba et Irlinger, 2004)
Fromage à pâte ferme	Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mai contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue : - Les fromages à pâte ferme non cuite (Edam, Saint-Paulin, etc) - Les fromages à pâte ferme cuite (Gruyère, Comté, etc)	<i>Lc. Lactis</i> , <i>St. thermophilus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>moisissures diverses</i> .	(Parente et Cogan, 2004) (Yildiz, 2010)
Fromage à pâte molle	Fromages ayant subi un affinage relativement prolongé (protéolyse et lipolyse intense par la flore de surface) après une fermentation lactique (ex : Camembert).	<i>Lclactis</i> , <i>Lclactiscremoris</i> , <i>St.thermophilus</i> , <i>Brevibacteriumlinens</i> , <i>Geotrichumcandidum</i> , <i>P.camemberti</i> , <i>levures</i>	(Branger, 2012) (Yildiz, 2010)
Fromage à pâte persillée	Fromages affinés à moisissures interne (ex.Roquefort). Il y'a développement interne de <i>P.roqueforti</i> grâce à l'action de leuconostoc et de levures qui produisent une ouverture et une petite quantité d'éthanol.	<i>Lclactis</i> , <i>Lclactiscremoris</i> , <i>St. thermophilus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>P.roqueforti</i> , <i>levures</i>	(Settani et Moschetti, 2010)
Fromages fondus	Constitués d'un mélange de fromages, de beurre, de crème et de lait pasteurisé (95°C) ou stérilisé (125°C). Appelés aussi fromages remaniés, ils sont de nombreux types dont certains sont obtenus après récupération des fragments de fromage à pâte ferme tel que le Gruyère et qui présentent certains défauts. En réalité, il s'agit plus d'une dissolution suivie d'une dispersion de protéines dans l'eau que d'une fonte qui correspond au sens physico-chimique du terme à la désintégration d'une structure solide cristalline par l'apport d'énergie thermique ou l'exercice d'une pression.	Pas d'ajout de ferments Lactiques	(Boutonnier, 2010)

3.3. Ferments lactiques

3.3.1. Définition

Les levains ou ferments lactiques sont définis comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, le kéfir et les fromages (Leroy et De Vuyst, 2004; Mäyrä-Mäki et Bigret, 2004).

3.3.2. Types de ferments lactiques

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

3.3.2.1. Selon la composition

Selon la fédération internationale de laiterie, (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories :

- **Ferments purs** : constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne.
- **Ferments mixtes** : ils sont formés d'un mélange de souches en nombre et en proportions indéfinis, ces souches appartiennent aux différents types lysotypiques et ont donc, en général, une bonne activité acidifiante.
- **Ferments mixtes sélectionnés** : Contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.

3.3.2.2. Selon la température de croissance

- **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* sp. *cremoris*) et des espèces aromatisants (*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 tels que l'Emmental et le Gruyère (Mäyrä-Mäkien et Bigret, 2004; Carminati *et al.*, 2010).

3.3.3. Cultures mixtes des bactéries lactiques

Dans la pratique industrielle, les bactéries lactiques sont très souvent associées, soit entre elles, soit avec d'autres microorganismes (bactéries non lactiques, levures ou moisissures) formant des cultures mixtes ou différents types d'interactions peuvent se produire. L'ensemble de ces interactions gouverne la structure des communautés microbiennes et leurs activités. On les classe en deux catégories : les interactions positives qui se caractérisent par la stimulation d'un ou de plusieurs micro-organismes et les interactions négatives qui correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Cholet, 2006; Monnet *et al.*, 2008).

3.3.4. Rôles des ferments lactiques

Les ferments utilisés pour la fabrication de fromage comprennent principalement les genres des bactéries lactiques *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Entérocooccus* lors de la production, la croissance des bactéries du ferment, flore primaire, est principalement responsable de l'acidification du lait en métabolisant le lactose en acide lactique (Abdoune, 2003)(tableau 8).

Tableau 8: Rôle des ferments lactiques en fromagerie (Branger, Richer, et Roustel, 2007)

Propriétés des ferments lactiques	Effets sur le produit
Transformer les sucres en acide lactique	<p><u>Abaissement du pH :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - conservation des produits - limitation du développement de bactéries nuisibles. - modification de la micelle de caséine <p><u>Solubilisation des minéraux liés à la caséine :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - action sur l'égouttage des caillés (teneur en eau) - action sur la texture des fromages <p><u>Diminution de la concentration en lactose :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - production de lactate (action sur la saveur des fromages)
Transformer les sucres en CO₂	<p><u>Libération de CO₂</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ouverture utile en pâtes molles et pâtes persillées - ouverture nuisibles en pâtes pressées
Transformer les citrates	<p><u>Formation de diacétyl</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - recherché en fromages à pâte fraîche et molles
Transformer la caséine	<p><u>Protéolyse pendant la maturation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - activation de la croissance (peptides, acides aminés) <p><u>Protéolyse pendant l'affinage</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - modification de la texture, couleur, saveur
Produire des polysaccharides	<p><u>Épaississement du milieu pour les pâtes fraîches</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - augmentation de la viscosité par libération de polysaccharide pendant la fermentation lactique

Etude Expérimentale

Chapitre II :
Matériel et
Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

L'ensemble de ce travail a été effectué au niveau des laboratoires de microbiologie et de biochimie de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre à l'Université de Khemis-Miliana, ainsi qu'au niveau de la laiterie des Aribis durant la période Février-Juin de l'année 2018.

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Etudier la qualité (physicochimique et microbiologique) du lait de vache qui a servi à la fabrication du fromage ;
- Mettre en place les étapes de fabrication du fromage à pâte pressée non cuite de type *Gouda* ;
- Effectuer les analyses de notre produit fini (fromage) pour assurer sa Qualité nutritionnelle, hygiénique, et organoleptique ;

1. Matériel

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, on s'est servi de:

1.1. Produits biologiques

1.1.1. Source du Lait

Le lait de vache a été fourni par la laiterie des Aribis. Il est recueilli, juste après la pasteurisation (98°C/15s), dans les conditions d'hygiène appropriées.

1.1.2. Ferments

- **Bactéries lactiques** : 8 souches déjà isolées et identifiées et qui proviennent de la collection du laboratoire de microbiologie de l'Université de Khemis Miliana. Trois souches de *Lactococcus sp*, une souche de *Leuconostoc sp*, trois souches de *Lactobacillus sp*, et une souche de *Streptococcus thermophilus*.

1.1.3. Présure

Elle est fournie par la laiterie des ARIBS (référence : CHY-MAX® Powder Plus NB ,force : 1400 IMCU/g, Danemark).

1.2. Milieux de culture

Plusieurs milieux de cultures ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux suivants :

Le milieu Man-Rogosa et Sharp (MRS) bouillon et gélose, le milieu Plate Count Agar (PCA), Le milieu gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), le milieu gélose de Sabouraud, le milieu Hecktoen, Le milieu Giolitti Cantoni bouillon, le milieu viande foie(VF).

1.3. Produits chimiques et Réactifs

Violet de Gentiane, Phénolphtaléine à 1%, Soude N/9, alcool, lugol, fuchsine, Alcool isoamylique, Acide sulfurique, Chlorure de calcium (CaCl₂), Nitrate de Sodium NaNO₃, Tellurite de potassium, Sulfate de fer, huile a immersion.

2. Méthodes

2.1. Repiquage et revivification des souches

Les souches utilisées sont sous forme congelées en cultures pures. Elles sont activées et maintenues par repiquage selon la méthode de Larpent, (1998) de la façon suivante :

– Prendre une goutte d'inoculum dans 5 ml de milieu de croissance, le plus souvent M17 bouillon pour les *Lactocoques* et MRS pour les lactobacilles (Man Rogosa Sharp, 1960)

– Incubation à 30°C pendant 48 à 72h

2.2. Vérification de l'état et de l'Aspect souches

Elle est réalisée par observation macroscopique et microscopique accompagnée d'une coloration de Gram.

- a) **Aspect macroscopique:** L'examen des colonies séparées obtenues sur la gélose MRS peut être effectué à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire.
- b) **Aspect microscopique (état frais et coloration de Gram) :** Cette étude s'effectue par examen microscopique. Elle permet d'observer la vitalité, morphologie des cellules et leur mode de regroupement.

2.3. Méthodes d'analyses du lait

2.3.1. Analyses physico-chimiques

2.3.1.1. Détermination de la densité

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau (Pointurier, 2003). Elle est déterminée à 20°C par lactodensimètre (figure 1, a).

2.3.1.2. Détermination de l'acidité titrable et du pH

L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait (AFNOR, 1986). La mesure du pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le lait (figure 1, b).

Principe: Titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphaléine comme indicateur (figure 1, c).

2.3.1.3. Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique

moyenne à 20°C (27°C dans les pays tropicaux) donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait (AFNOR, 1986).

Principe : Après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse du lait par centrifugation, dans un butyromètre. La séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique. Obtention de la teneur en matière grasse (en grammes pour 100 g ou 100 ml de lait) par lecture directe sur l'échelle du butyromètre (figure 1, d).

2.3.1.4. Mesure de la teneur en matière sèche totale

On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme (AFNOR, 1986).

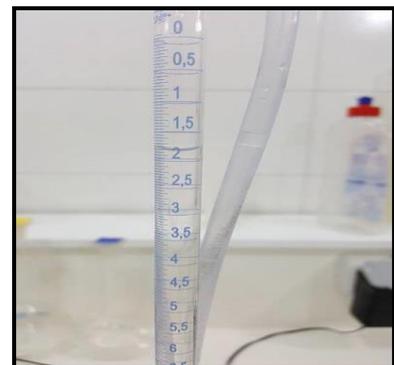
Principe : Dessiccation par évaporation d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu



(a) lactodensimètre



(b) pH mètre



(c) burette



(d) butyromètre.



(e) Dessiccateur

Figure 1 : Appareillage utilisé pour les analyses physico-chimiques.

2.3.2. Analyses microbiologiques

2.3.2.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux à 30°C (NF V 08-051)

Le dénombrement des germes totaux à 30°C reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel (Bonnefoy et *al.*, 2002).

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage numérotée, Compléter ensuite avec environ 20ml de gélose PCA puis refroidie à $45\pm 1^\circ\text{C}$, les boîtes seront incubées à 30°C pendant 72 heures.

Les colonies des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) se présentent sous forme lenticulaire en masse.

2.3.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (NF V 08-050, NF V 08-060)

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 (Joffin et Joffin, 1999).

Les coliformes sont dénombrés sur milieu solide par la technique en boîtes sur gélose VRBL à partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1ml de chaque dilution 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 incubées à 37°C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux ;
- La deuxième série de boîtes sera incubées à 44°C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

2.3.2.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

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

Principe

- Le dénombrement des staphylocoques peut se faire sur milieu Giolitti Cantonii ;
- L'enrichissement sur le milieu Giolitti Cantonii permet une meilleure revivification des souches stressées.
- L'isolement sur le milieu Chapman qui a un pouvoir inhibiteur, est obtenu par de fortes concentrations en chlorures de sodium (7,5%). Il sélectionne les microorganismes halophiles parmi lesquels figurent les staphylocoques entourés d'un halo jaune qui est dû à l'utilisation du mannitol avec acidification du milieu et virage de l'indicateur « le rouge de phénol » du rouge au jaune.

2. 3.2.4. Recherche et dénombrement des Clostridium- sulfite réducteurs (NF V 08-019)

La recherche et le dénombrement des anaérobies sulfite réducteurs sont réalisés dans deux buts différents (Joffin et Joffin, 1999):

- *Clostridium perfringens* de type A est recherché car parfois responsable d'intoxication alimentaire ;
- Les *Clostridium sulfite réducteurs* (ou leurs spores), bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol

Au niveau de la laiterie des ARIBS, la méthode utilisée est la méthode générale sur gélose Viande-Foie à 37°C.

Dans des tubes contenant les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} seront (dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées) soumis : D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 mn, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet. Après refroidissement des tubes, porter 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis, puis ajouter 15 ml de milieu VF (fondu et additionné d'Alun de fer et de sulfite de sodium). Laisser solidifier 30 mn sur paillasse, ensuite incubé à 37°C pendant 16, 24 ou 48 heures.

2.4. Procédé de fabrication du fromage type Gouda

2.4.1. Préparation du levain

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

Ferment 1 : trois souches de *Lactococcus sp*;

Ferment 2 : trois souches de *Lactococcus sp*, deux souches de *Lactobacillus sp*, et une souche de *Streptococcus thermophilus*;

Ferment 3 : trois souches de *Lactococcus sp*, une souche de *Leuconostoc sp*, et une souche de *Streptococcus thermophilus*;

Ferment 4 : fourni par la laiterie des ARIBS (référence : DI-PROX® MT 243) ferment lactique lyophilisé pour l'ensemencement direct. Mélange de souches de *Lactococcus sbsp cremoris*, *Lactococcus lactis ssp lactis var diacetylactis* et de *Streptococcus thermophilus*

2.4.2. Pouvoir acidifiant des levains

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude. On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V/ 100V). Après incubation à 30°C pendant 24h; 10ml du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpent, 1998).L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V \text{ NaOH} \times 10$$

Où : V_{NaOH} : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml delait.

La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait.

2.4.3. Étapes de la fabrication du fromage de type « Gouda »

Nous avons suivi le protocole de (Goudédranche et *al.*, 2008)(figure 2)

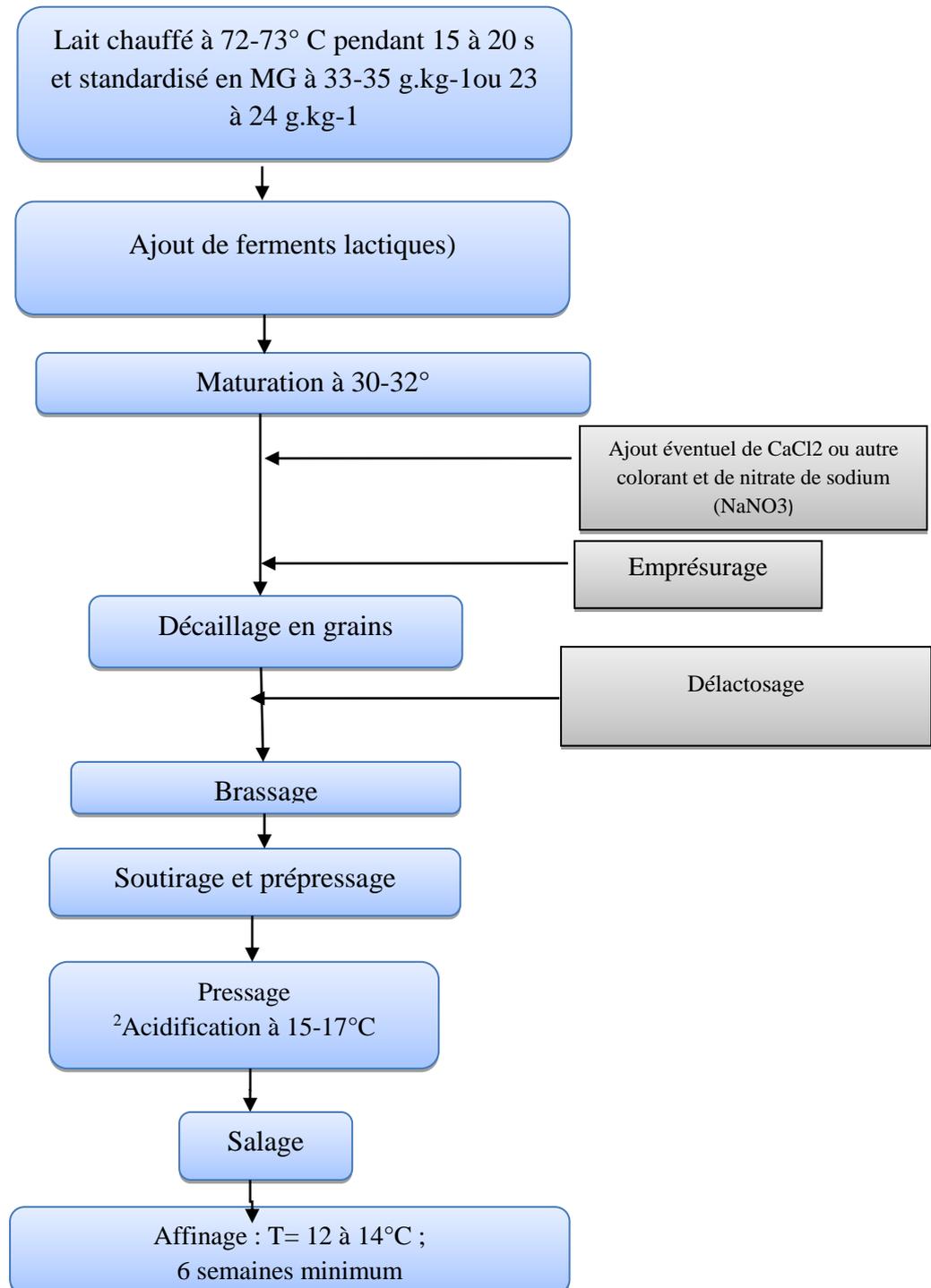


Figure 2 : Diagramme de fabrication du Gouda (Goudédranche et *al.*, 2008)

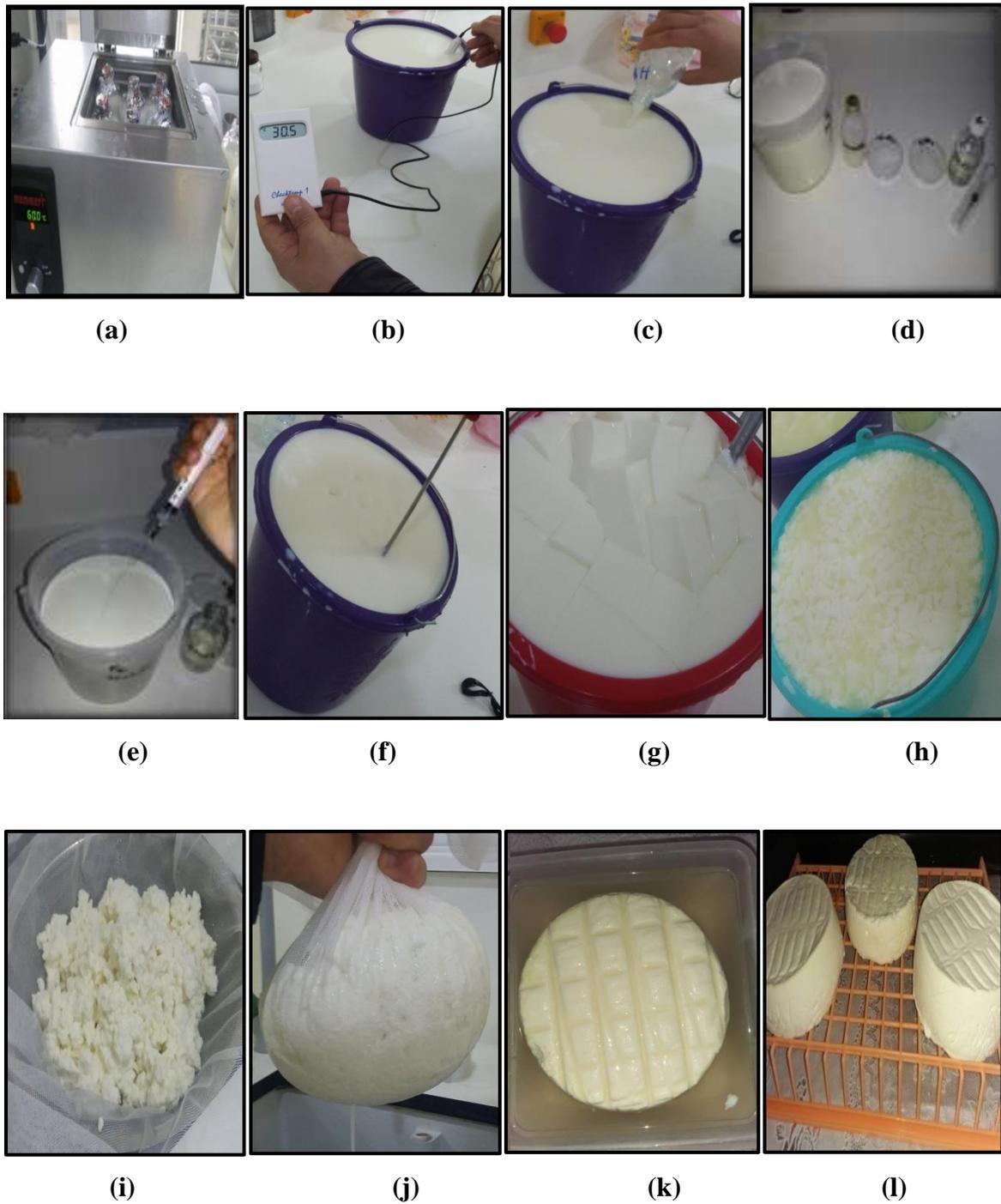


Figure 3 : Etapes de fabrication de notre fromage au laboratoire des Aribis

(a) : pasteurisation, **(b) :** refroidissement. **(c) :** ensemencement des ferments, **(d) et (e) :** emprésurage et ajout du Ca Cl_2 et NaNO_3 . **(f) et (g) :** décaillage, **(h) :** délactosage et brassage, **(i) et (j) :** égouttage. **(k) :** salage en saumure. **(l) :** réessuyage

2. 5. Méthodes d'analyse du fromage

2. 5.1. Analyses physico- chimique du fromage

Cette analyse a comporté la mesure du pH, de l'acidité titrable, la détermination de la composition chimique des échantillons du fromage préparé à savoir l'extrait sec total, la matière grasse, minérale, chlorure et les protéines.

2. 5.1.1. pH et acidité titrable

5g de fromage et 30 ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie à 20°C ont été introduits dans une fiole conique, le mélange a été bien agité puis laissé au repos pendant 20min. Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre. Pour la détermination de l'acidité 10ml du produit était prélevé, ajouter de 0.1ml de phénolphtaléine puis titrer avec du NaOH N/9 jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistante (Amariglio, 1986).

2.5.1.2. Matière sèche

Pour la réalisation de cette manipulation, 10g de chaque échantillon a été placé dans des creusets déjà séchés et tarés. Cette préparation a été placée dans le four Pasteur à 120°C. La matière sèche est déterminée par des pesées répétées jusqu'à avoir un poids constant (Lecoq, 1965) (Poids capsule+ extrait sec) – poids capsule à vide.

2.5.1.3. Cendres

Le taux de cendres est déterminé selon la méthode décrite par (AOAC, 2000) par calcination d'une prise d'essai de 5 g de la spécialité fromagère dans un creuset à une température de 550°C dans un four à moufle « LINN HightTherm » pendant 4 heures, par la suite les cendres contenues dans les creusets sont transférées dans un dessiccateur puis pesées par une balance de précision. La teneur en cendre se détermine par la formule suivante:

$$\text{Taux de cendre (\%)} = (M_f - M_o / 5) \times 100$$

Où : M_f : masse à vide du creuset plus celle de l'échantillon, M_o : masse à vide du creuset.

La détermination du taux de cendres est réalisée en triple.

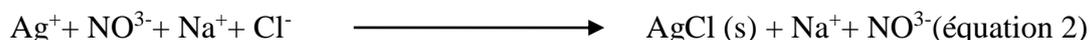
2.5.1.4. Dosage du chlorure

La quantification de ces ions est déterminée par titrage en utilisant une solution de nitrate d'argent en se basant sur la quantité de chlorure d'argent précipitée (Chimie GCI, 2011).

Principe : La réaction globale de la précipitation du chlorure d'argent (AgCl) est donnée selon la réaction :

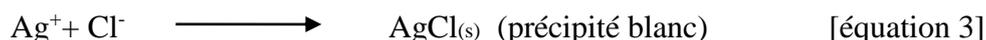


Cette réaction peut être mise sous forme ionique afin de distinguer les entités en solution.



Lors du titrage, afin de repérer la fin de la réaction de précipitation d'AgCl, on introduit dans la solution des ions Chromate CrO_4^{2-} obtenus par ajout à la solution à titrer du sel de chromate de potassium (K_2CrO_4).

Quand il existe simultanément dans une solution les ions Cl^- , CrO_4^{2-} et Ag^+ , les réactions susceptibles de se produire sont les suivantes:



La solubilité d'AgCl est de $1,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, et celle d'Ag₂CrO₄ est de $5,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Cela veut dire que l'AgCl est moins soluble que l'Ag₂CrO₄, ou bien que AgCl précipite avant Ag₂CrO₄ (phénomène de précipitation préférentielle).

Calcul : Calculer la teneur en chlorures, en pourcentage en masse, au moyen de la formule :

$$\frac{(\text{V}_1 - \text{V}_0) \times f}{m}$$

Où

V 0 : est le volume, en millilitres, de la solution titrée de nitrate d'argent, utilisé pour l'essai à blanc;

V 1 : est le volume, en millilitres, de la solution titrée de nitrate d'argent, utilisé pour la détermination;

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

f: est le facteur permettant d'exprimer les résultats en pourcentage d'un certain type de chlorure.

2.5.1.5. Matière grasse

La matière grasse est déterminée par la méthode de Gerber ou méthode acido-butyrométrique de VAN GULIK (ISO, 2002).

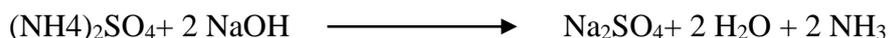
La détermination de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique est basée sur l'ajout de l'acide sulfurique (H_2SO_4) qui dissout les protéines du fromage, la séparation de la matière grasse des autres constituants est réalisé après centrifugation du butyromètre en présence d'alcool iso-amylique.

On introduit dans un butyromètre 3 g de fromage, 10ml d'acide sulfurique de densité 1,530 et après avoir fermé le butyromètre et placé dans un bain d'eau $65^\circ C$ sous agitation pour aider la dissolution du fromage, quand l'attaque est terminée on ajoute 1ml de l'alcool iso-amylique et l'on complète avec H_2SO_4 jusqu'au 4ème de la tige, on procède à l'homogénéisation par retournement jusqu'à complète dissolution, la dernière étape est la centrifugation pendant 5 minutes à 1200 tour /min.

2. 5.1.6. Dosage du taux des protéines

La détermination de la matière azotée est effectuée selon la méthode de Kjeldahl (AOAC., 2000). Cette méthode de référence est fondée sur la transformation de l'azote organique en azote minéral sous forme ammoniacale $(NH_4)_2SO_4$ par l'action oxydative de l'acide sulfurique bouillant sur la matière organique en présence d'un catalyseur de minéralisation (Na_2SO_4 17g/100 g ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 1.5 g/100 g).

Les échantillons sont introduits dans des matras (tubes de minéralisation), puis minéralisés sur une rampe (Kjeldatherm, Gerhardt, Les Essarts le Roi, France) à $420^\circ C$ pendant 3 h. Le sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$ est le produit essentiel de la minéralisation, obtenu par l'ajout d'acide sulfurique 0,01N (H_2SO_4). Une base forte (NaOH) est ajoutée en volume égal au volume d' H_2SO_4 introduit.



Au cours de la distillation, l'hydroxyde d'ammonium formé (NH_4OH) est entraîné par la vapeur d'eau et récupéré dans un vase de titrage contenant une solution d'acide borique en excès. Le borate d'ammonium formé ($(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$) fait augmenter le pH de la solution. La solution est ensuite titrée par de l'acide sulfurique. Le volume d'acide sulfurique ajouté correspond à l'ammonium contenu dans l'échantillon du départ. Le dosage est réalisé de façon automatique avec un appareil de type Vapodest 50 Gerhardt. Pour chaque échantillon, l'analyse est répétée trois fois.

Les résultats sont exprimés en g pour 100 g de fromage selon les formules suivantes et les résultats finaux sont exprimés en pourcentage d'azote total (% NT).

$$\text{NT} = (\text{V1} - \text{V0}) \times 0,14 \times 10 / \text{P}$$

$$\text{Taux protéines (g/100 g fromage)} = 6,38 \times \text{NT}$$

Avec

V1 : volume d' H_2SO_4 nécessaire au titrage de l'échantillon en ml ;

V0 : volume d' H_2SO_4 nécessaire au titrage du blanc en ml ;

P : masse de l'échantillon du fromage en g ;

6,38 : facteur protéique (Adler-Nissen, 1986).

2.5.2. Contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique a été réalisé selon les techniques décrites par (Guiraud et Galzy, 1980; Beerens et Luquet, 1987; Guiraud, 2003).

2.5.2.1. Préparation des dilutions décimales

A l'aide d'une spatule stérile on prélève 1g du fromage de chaque échantillons et on l'introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, on obtient alors la dilution 10^{-1} , à partir de cette dernière on refait la même opération pour aboutir à la dilution 10^{-8} .

L'étude du contrôle microbiologique des échantillons du fromage est réalisée par les mêmes techniques déjà décrite en **2.3.2**.

2. 5.2.2. Dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement a été effectué sur le milieu solide gélosé Sabouraud préalablement coulé et solidifié. 3 à 4 gouttes de la dilution 10^{-4} et 10^{-5} ont été étalées en surface du milieu et les boîtes ont été incubées pendant 3 à 5 jours à une température de 28°C.

2.5.2.3. Recherche de Salmonelle

Un pré-enrichissement par ensemencement de 25g du fromage dans 225ml du milieu eau peptonée alcaline a été réalisé. Après incubation à 37°C pendant 24h, la présence probable de salmonelle se traduit par un trouble du milieu. S'il y a le trouble, un isolement doit être pratiqué sur gélose Hecktoen

2.5.3. Analyses sensorielles

Cette analyse a été effectuée sur les échantillons de fromage après 12 semaines d'affinage. Les fiches de dégustation sont reproduites en annexes (l'odeur du produit entier, l'aspect de la croûte et de la pâte, la texture en bouche de la pâte ainsi que la flaveur (goût et saveur).

Les fiches de dégustation permettent de porter un jugement qualitatif sur les fromages en notant différents descripteurs.

Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent se rincer la bouche avec de l'eau afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent (Edima, 2007).

Chapitre III :
Résultats et
Discussion

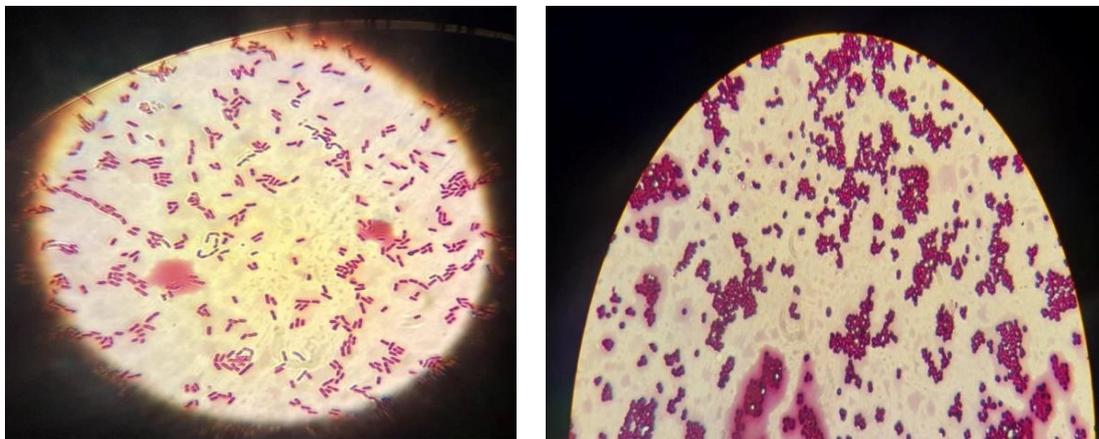
Chapitre III : Résultats et discussions

1. Vérification de l'état des souches

Après Repiquage des souches sur bouillon MRS et lait écrémé, les souches sont mises en évidence par examen microscopique a l'état frais et par la coloration de Gram donc les 8 souches utilisées sont :

- Des Gram +
- Des coques et des bacilles immobiles

Les résultats sont illustrés par la figure suivante :



Bacilles Gram+

Coques Gram+

Figure 4: Aspect microscopique des souches après coloration de Gram

2. Analyses du lait

2.1. Analyses physico-chimiques

2.1.1. pH, acidité et densité

Une fois au laboratoire le pH et l'acidité dornic des échantillons de lait cru ont été déterminés.

Pour le pH une valeur de 6,70 a été enregistrée pour l'échantillon du lait, les valeurs du pH normal sont de 6,6 à 6,8 (Alais, 1984).

L'acidité tritable du lait collecté enregistrée est de 16°D, avec une densité de 1,030 enregistrée à 20°C. Ces résultats sont en concordance avec ceux donnés par la FAO, (1995): une acidité qui varie de 14 à 18°D et une densité de 1,027-1,035.

L'acidité titrable du lait est relativement constante, mais son augmentation est un indice de lait anormal (Lapointe-Vignola, 2002; Dudez et Broutin, 2003).

2.1.2. Extrait sec et matière grasse

Le lait utilisé pour la fabrication du fromage contient environ 11% de matière sèche avec 3,1 % de matière grasse.

Selon Charron, (1986) et Lapointe-Vignola, (2002) le taux de la matière sèche peut varier de 10,5 à 13,5%. Et les teneurs moyennes en matières grasses du lait sont comprises entre 2,85% et 3,25% (Afnor, 2002).

2.2. Analyses microbiologiques

Le lait utilisé pour la fabrication du fromage a subi une pasteurisation de 98°C pendant 20s. Les résultats trouvés confirment l'absence totale des germes pathogènes (*Salmonella* et *Listeria monosytogenès*) et des coliformes totaux; cela confirme le bon déroulement du traitement thermique ainsi que la bonne qualité microbiologique de notre lait.

3. Fabrication du fromage

3.1. Interactions des bactéries lactiques dans les ferments préparés

Il est assez rare que l'on utilise pour la fabrication des produits laitiers une seule souche de bactéries lactiques. En règle générale, on associe plusieurs souches, voire plusieurs espèces et genres bactériens (Juillard et *al.*, 1987).

La composition en souche des trois ferments F1, F2, F3, et F4 est faite comme suit :

Ferment 1 : trois souches de *Lactococcus sp*;

Ferment 2 : trois souches de *Lactococcus sp*, deux souches de *Lactobacillus sp*, et une souche de *Streptococcus thermophilus*;

Ferment 3 : trois souches de *Lactococcus sp*, une souche de *Leuconostoc sp*, et une souche de *Streptococcus thermophilus*;

Ferment 4 : fourni par la laiterie des ARIBS (référence : DI-PROX[®] MT 243) ferment lactique lyophilisé pour l'ensemencement direct. Mélange de souches de *Lactococcus sbsp cremoris*, *Lactococcus lactis ssp lactis var diacetylactis* et de *Streptococcus thermophilus*

3.2. Pouvoir acidifiant des ferments

Après l'ensemencement du lait par les ferments lactiques déjà préparés, on observe une coagulation du lait qui résulte de l'action des bactéries en formant l'acide lactique



Figure 5: Aspect macroscopique des levains lactiques après 16h d'incubation

Les résultats révèlent que les trois ferments contenant les souches de notre collection ont une activité acidifiante considérable qui se traduit par la production d'acide lactique au cours de l'incubation dont les valeurs atteignent 61°D, 75°D et 85°D après une incubation de 24h par les trois ferments codés F1, F2 et F3 respectivement (figure 6).

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 = 4.64 ; pH= 4.5 et pH = 4.35 pour les ferments F1, F2 et F3 respectivement (Figure7)

Selon Roukas et Kotzekidou (1998), l'abaissement du pH avec les cultures mixtes est généralement plus rapide et plus prononcé ce qui explique pourquoi les ferments 2 et 3 ont un pouvoir acidifiant plus élevé que le ferment 1. L'activité acidifiante des ferments lactiques est un paramètre déterminant dans leur sélection et leur utilisation (Martley, 1983).

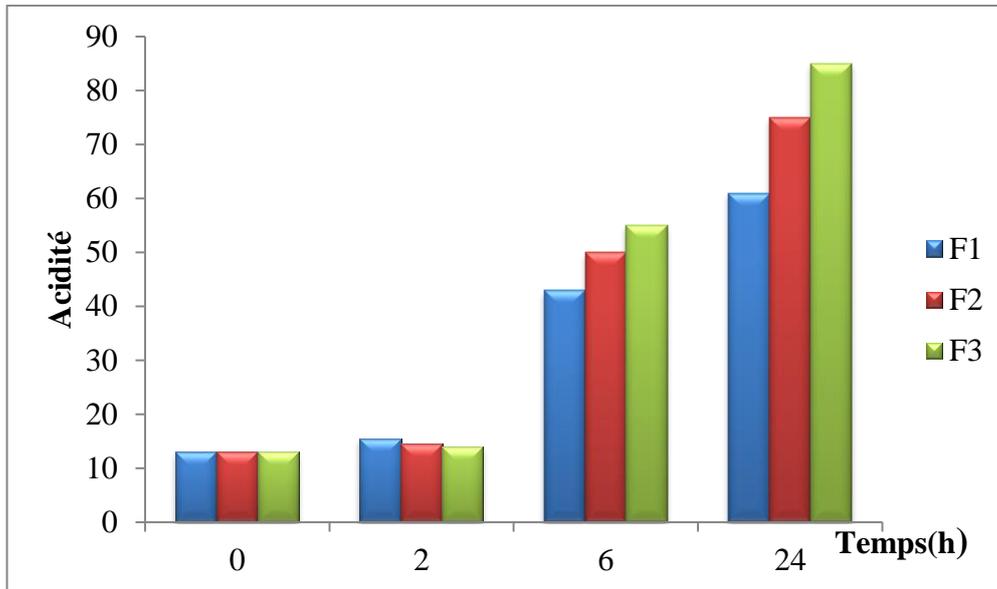


Figure 6: Production d'acide lactique par les trois ferments

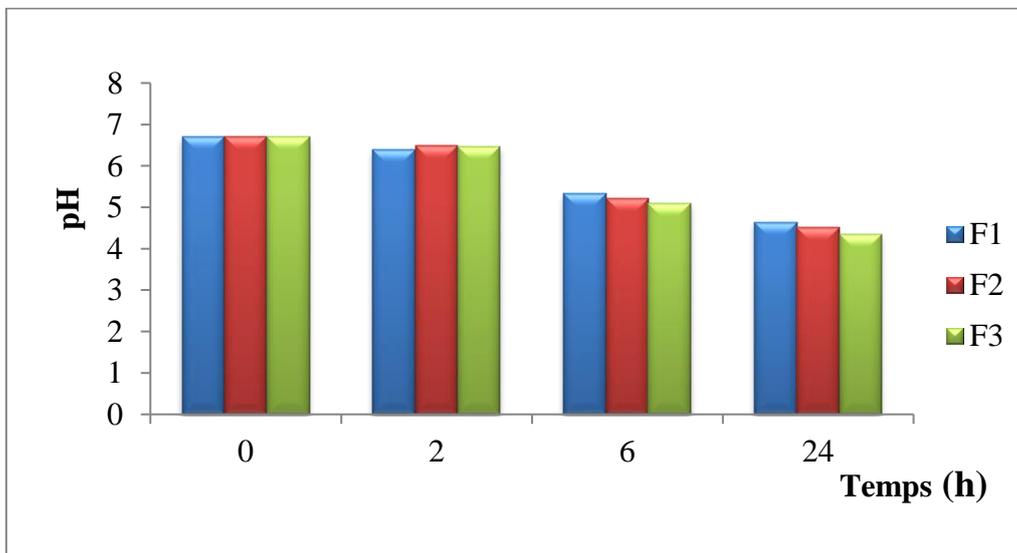


Figure 7 : Diminution du pH des trois ferments

La courbe d'acidification du ferment industriel est jointe en Annexe II (figure 1).

3.3. Produits fini

Dans cette partie, 4 échantillons de fromages fermes ont été fabriqués avec 3 essais pour chaque fromage fabriqué. Le coagulum est obtenu par une coagulation mixte : la coagulation dite lactique et celle engendrée par l'action de la présure. Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait.

L'égouttage, a été spontané puis avec une pression, a permis l'élimination de la plus grande partie du lactosérum qui imprègne le coagulum.

Nous avons obtenu des échantillons de fromage en forme de cylindre plat, d'un diamètre de 12 cm avec des côtés convexes, une épaisseur d'environ 4.5 cm et d'un poids net de $520 \pm 25g$. (figure 8).



Figure 8 : Différents fromages préparés

3.4. Contrôle des fromages préparés

Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physicochimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et *al.*, 2004).

3.4.1. Qualité nutritionnelle

Sous un faible volume, le fromage dispense des éléments essentiels de construction, de croissance et d'entretien des muscles, des organes et des os. C'est un produit qui s'adresse particulièrement aux enfants et aux personnes âgées. Aux enfants, parce qu'ils ont besoin pour se développer de protéines, de matières grasses de bonne qualité nutritionnelle, de vitamines et surtout de calcium, et aux personnes âgées, parce qu'elles se nourrissent peu et qu'elles ont besoin d'absorber calcium et vitamines en quantité suffisante sous un faible volume. Et aussi parce que la densité osseuse, surtout chez les femmes, est moindre (Debry, 2001).

3.4.1.1. pH et acidité

L'évolution du pH des quatre fromages fabriqués au cours de l'affinage est représentée par la figure 9

L'observation des valeurs expérimentales montre une diminution modérée du pH pendant toute la période d'affinage pour les quatre fromages.

Pendant toute la période d'affinage les valeurs du pH ont été plus élevées pour les fromages 1 et 2. À 24h la valeur moyenne de pH se situe à 5.95, 5.81, 5.72, et 5.68 pour F1, F2, F3 et F4 respectivement. Ces valeurs de pH diminuent significativement au bout de 6 semaines d'affinage, elles atteignent 5.51, 5.46, 5.47 et 5.44 pour F1, F2, F3 et F4 respectivement.

Et après 12 semaines d'affinage ces dernières chutent jusqu'à ce qu'elles atteignent les valeurs moyennes suivantes 5.38 et 5.34, 5.13 et 5.20 pour F1, F2, F3 et F4 respectivement.

L'augmentation de l'acidité couplée à la diminution du pH peut s'expliquer par l'existence d'une activité métabolique de la flore microbienne des fromages : l'ensemble des bactéries lactiques des ferments.

Selon Roukas et Kotzekidou, (1998), l'abaissement du pH avec les cultures mixtes est généralement plus rapide et plus prononcé, ce qui s'explique par la stimulation d'au moins une des souches de mélange.

Les *lactocoques* sont capables de produire deux substances majeures (acide lactique et bactériocines) responsables de l'effet antagoniste. Les bactéries lactiques hétéro-fermentaires peuvent produire des quantités notables d'acides organiques autres que l'acide lactique ; c'est le cas des *leuconostocs* qui produisent autant d'acétate que de lactate. L'acide acétique exerce une forte action inhibitrice à l'encontre de nombreux microorganismes (Bourgeois et Larpent, 1996).

Il s'avère important de noter que le pH est lié à la qualité du fromage : un pH de 5.0 correspond à un fromage de bonne qualité, alors qu'un pH supérieur à 5.2 correspond à un fromage qui se détériore plus rapidement qu'un pH plus bas (Alais, 1984).

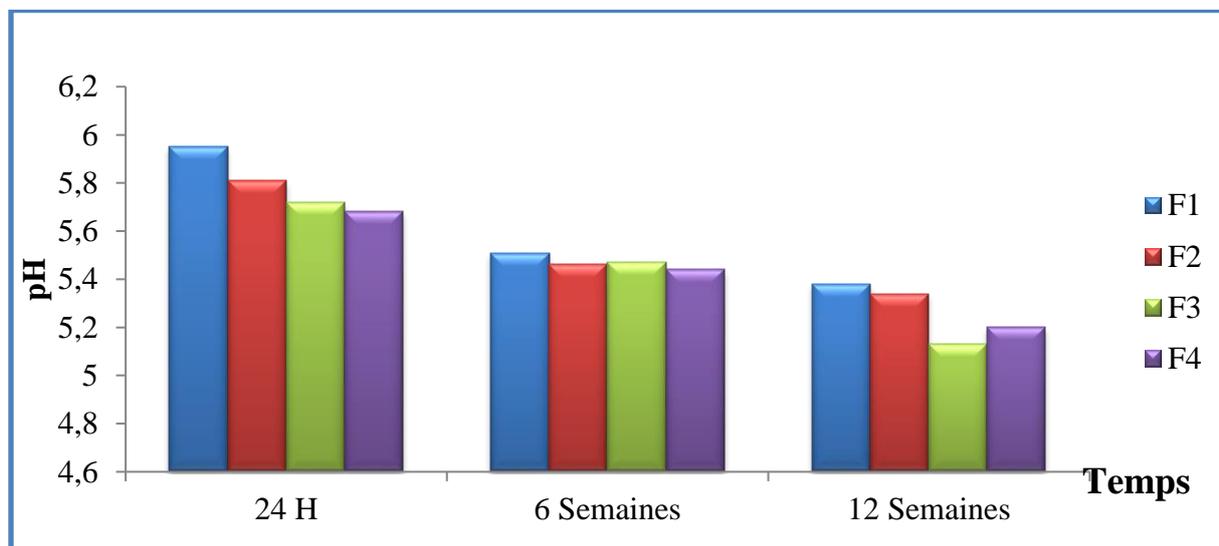


Figure 9 : Evolution du pH des quatre fromages au cours de l'affinage

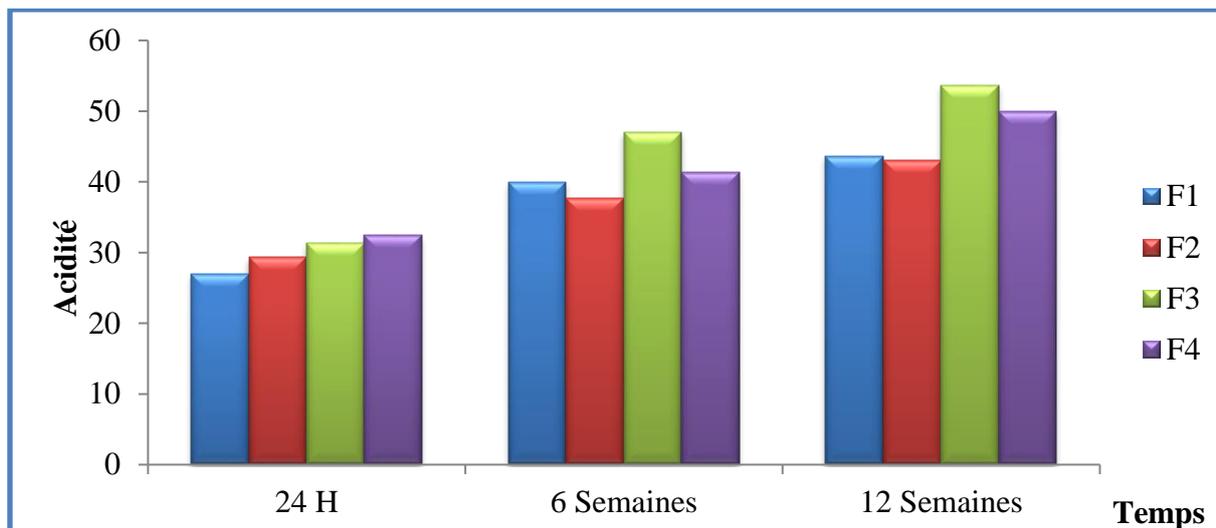


Figure 10 : Evolution de l'acidité des quatre fromages au cours de l'affinage

3.4.1.2. Matière sèche

Les propriétés fonctionnelles des fromages sont contrôlées par la composition chimique, y compris le taux d'humidité (McMahon, Fife et Oberg, 1999).

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 11. Il apparaît que la matière sèche des quatre fromages présente une augmentation progressive pendant la durée d'affinage.

A 24 H, les valeurs moyennes de la matière sèche étaient de 50.56% et 52.07%, 50.38% et de 53.45% pour les quatre fromages fabriqués respectivement, ces valeurs augmentent après 6 semaines d'affinage jusqu'à 58.93%, 58.03%, 59.08% et 58.87% respectivement.

A 12 semaines, une perte plus élevée d'eau a été marquée et les valeurs de la matière sèche atteignent 63.9%, 63.46%, 60.76% et 62.67 pour les quatre fromages fabriqués.

La production fromagère inclut une étape importante de salage. De la production jusqu'à l'affinage, le sel joue, directement ou indirectement, plusieurs rôles importants. Lors de la production, il favorise l'égouttage sous l'effet de la pression osmotique, réduit la teneur en humidité du caillé et abaisse l'activité de l'eau (A_w) (Hardy, 2004; Flourey *et al.*, 2009).

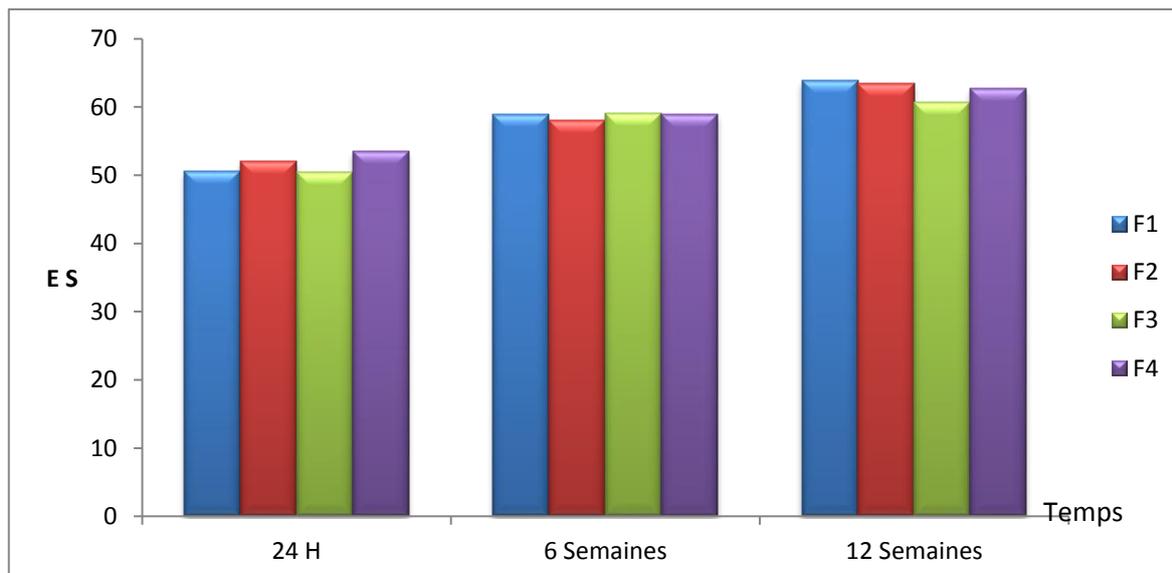


Figure 11 : Evolution de l'extrait sec des quatre fromages au cours de l'affinage

3.4.1.3. Matière grasse

Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 12. Il apparaît que la matière grasse des quatre fromages ne présente pas une diminution significative pendant la durée de l'affinage.

Les valeurs expérimentales moyennes observées à 24 h se situent à 26%, 24.5%, 27% et 29.16% pour les quatre fromages respectivement.

Après 6 semaines d'affinage ces valeurs diminuent pour atteindre 23.66%, 22.16%, 22.33% et 24.17% alors qu'après 12 semaines de l'affinage ces valeurs atteignent 20.83%, 19.16% et 20% et 21.83% pour les quatre fromages.

Les bactéries lactiques ont une faible activité lipolytique et agissent plus facilement sur une matière grasse déjà partiellement hydrolysée (St-Gelais et *al.*, 2002).

Les études effectuées sur quelques souches de *lactobacilles* mettent en évidence des activités lipolytique très faibles, les lactocoques et les leuconostocs étant, en général, plus actifs. Cependant, dans les fromages de lait pasteurisé à la flore essentiellement lactique, ces microorganismes sont sans doute responsables de l'essentiel de la lipolyse qui, bien que faible, n'est pas nulle (Konings et *al.*, 1994).

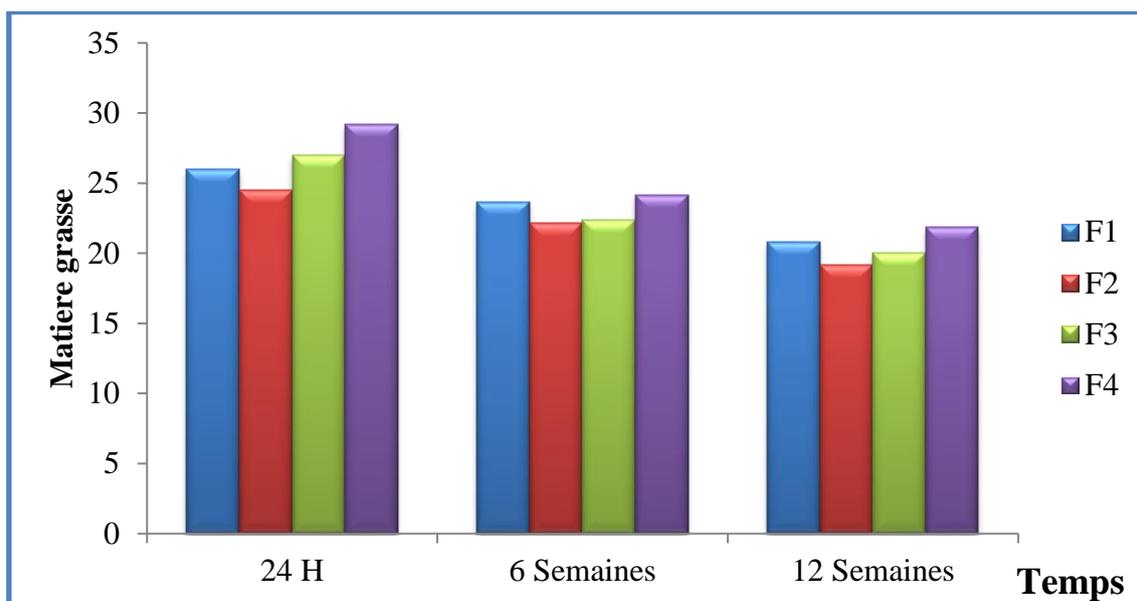


Figure 12 : Evolution de la matière grasse des quatre fromages au cours de l’affinage

3.4.1.4. Composition en protéines, cendres et chlorures des fromages

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 9 suivant :

Tableau 9: Quelques caractéristiques physico-chimiques des quatre fromages fabriqués.

	Fromage 1	Fromage 2	Fromage 3	Fromage 4
Chlorure	1.28	1.51	1.6	1,72
Cendres	1.64	1.32	2.45	2,68
Protéines	22.73	21.55	25.47	26,95

Le taux de chlorure est élevé dans les fromages 3 et 4 comparativement à ceux de F1 et F2. Des valeurs moyennes de 1.28% et 1.51% ont été enregistrées pour F1 et F2 respectivement tandis que des valeurs de 1.6% et 1.72% ont été marquée pour F3 et F4 respectivement.

La forte teneur en chlorures peut être expliquée par l'addition de sel. En effet, Buchin et Noel, (2002) indiquent que la teneur en chlorure peut varier fortement d'un produit fromager à un autre (de 0,4 g à 4,6 g/100 g). 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.

Le dosage du taux de cendres dans les produits finis a révélé des taux en cendres moyens de 1.64% et 1.32%, 2.45% et 2.68 % des quatre fromages respectivement.

Dans le produit fini, les cendres sont composées principalement des minéraux provenant des matières premières laitières ; on retrouve le calcium, le phosphore, le potassium, le chlore, le sodium, le magnésium et le sel de table.

Varunsatian et *al.*, (1983) ont rapporté que ces derniers ont un rôle non négligeable dans la gélification des caséines qui dépend de la force ionique et de la nature des ions ; à force ionique égale, les ions Na^+ préviendraient l'agrégation des protéines chauffées à plus de 70°C , tandis que les ions Ca^{++} ou Mg^{++} la favoriseraient. Cet effet du calcium serait néanmoins dépendant de sa concentration, une certaine quantité de calcium étant requise pour des liaisons croisées inter-protéines (Kohnhorst et Mangino, 1985; Guinee et O'Kennedy, 2009). D'après ces auteurs, le calcium à des concentrations élevées, inhibe la formation de gel en favorisant les interactions protéine-protéine conduisant à l'agrégation, ce qui va influencer négativement la viscosité de la spécialité fromagère.

En l'absence de NaCl , le calcium qui se trouve en plus grande concentration que le sodium et le magnésium peut porter préjudice à la consistance de la pâte en formant des ponts salins entre les molécules de caséines partiellement dépliées et chargées négativement (Kombila-Moundounga, 1992).

Le taux de protéines (azote total x 6,38) dans le produit fini a révélé des valeurs moyennes de 22.73% et 21.55%, 25.47% et 26.95% respectivement pour F1, F2, F3 et F4.

St-Gelais, Ould-Baba et Turcot, (1999) indiquent que lors de la fabrication fromagère, c'est essentiellement la caséine qui constitue le fromage, tandis que les protéines solubles restent dans le lactosérum. La transformation du lait en fromage (présure ou autres enzymes, acidification) n'altère pas la qualité nutritive des protéines. La durée du processus

de fabrication n'influence pas d'avantage l'utilisation protéique nette des substances peptidiques et azotées.

Famelart et *al.*, (2002) trouvent que la qualité nutritionnelle des fromages émane de leur teneur élevée en protéines riches en acides aminés essentiels, c'est-à-dire de haute valeur biologique.

3.4.2. Qualité hygiénique (microbiologique)

L'analyse microbiologique a pour but de vérifier que la qualité d'un aliment correspond aux objectifs que l'on s'est fixés. On peut classer ces objectifs en deux groupes :

- Respect de la qualité sanitaire et de la qualité commerciale courante ;
- Contrôle et amélioration des fabrications.

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 (fraicheur) d'un produit.

L'analyse microbiologique montre que selon les normes posées par (Directive Européenne (92-46), 1992), notre fromage est de bonne qualité hygiénique. En effet, on note :

✓ Présence en très faible nombre des Germes aérobie mésophile totaux (GAMT) dans le produit fini ;

Les GAMT ont été également signalés à des nombres dépassant 10^8 UFC/g dans les fromages traditionnels marocains (Hamama et Bayi, 1991).

✓ Absence des levures et moisissures

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 (Alais et Linden, 1997).

Malgré l'importance des levures, Bouix et Leveau, (1980) affirment que leur présence n'est pas souhaitée dans les produits alimentaires. Les levures n'étant pas pathogènes (à l'exception de *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*), elles ne causeront

pas d'exception alimentaire, mais peuvent produire, par leur développement dans les produits finis des altérations marchandes par formation de trouble, d'odeurs ou de gout anormaux et par la formation du CO₂.

De même Moreau, (1980) rapporte que la plupart des denrées alimentaires, au cours de leur préparation mais surtout de leur entreposage, sont susceptible d'être détériorées par les moisissures. Les pertes qui leurs incombent sont considérables, parfois l'altération aboutit à une modification de la valeur nutritionnelle, à l'apparition de saveurs indésirables, en d'autres cas, c'est la santé du consommateur qui est en jeu.

✓ L'absence des germes pathogènes (*Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Staphylocoques* et *Escherichia coli*);

La production d'acide lactique par les bactéries lactiques conduisant à un abaissement important du pH du milieu est largement utilisée en industrie agro-alimentaire. Il apparaît que les produits fermentés puissent être considérés comme « à faible risque » vis-à-vis des pathogènes courants. Cependant, il n'est pas exclu que des souches particulières d'une espèce de bactérie indésirable puissent se développer (Ho et al, 2007).

- Présence en très faible nombre de coliformes totaux < 10/g.

Les coliformes ont été également signalés à des nombres dépassant 10⁵UFC/g dans les fromages traditionnels marocains (Benkerroum et Tamime, 2004).

La diminution en charge de ces germes, peut être expliquée par des changements dans le milieu, notamment la diminution du pH et la présence de certains inhibiteurs résultants de différents métabolites de la population microbienne existante.

- Staphylocoques et les salmonelles

Une absence totale des staphylocoques et des salmonelles a été enregistrée durant toute la période du contrôle des quatre fromages. Cela indique l'état de l'ambiance environnante lors de la fabrication, et implique les bonnes pratiques de fabrication.

Nous pouvons dire alors que les quatre fromages fabriqués sont de bonne qualité. Ces résultats sont contradictoires à ceux trouvés avec les coliformes, ce qui implique d'autres

facteurs de contamination que nous n'arrivons pas à contrôler y compris la qualité microbiologique des additifs utilisés.

Généralement, dans les fromages, un nombre de dix cellules de staphylocoque est toléré, alors que l'absence des salmonelles est exigée (Joffin et Joffin, 1999).

Selon Mahaut, Jeantet et Brûle, (2000), la production du fromage de qualité sanitaire satisfaisante est évidemment possible à condition de respecter les règles d'hygiène applicables au niveau de la production et de la transformation du lait.

3.4.3. Qualité organoleptique

En industrie fromagère, la qualité des fromages est largement déterminée par la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (Edima, 2007).

L'appréciation d'un fromage est basée d'une part sur l'analyse de sa composition chimique, avant tout sur sa teneur en protéines, en matière grasse et en matière sèche, et d'autre part sur les qualités sensorielles observables comme l'apparence, l'odeur et le goût, la structure de la pâte, les propriétés de la croûte, etc. (Bugaud et *al.*, 2002).

✓ **Texture**

La valeur moyenne de 3.66/5 pour les quatre fromages respectivement montre que les quatre fromages sont assez bon c'est-à-dire la texture est acceptable. La pâte du fromage que nous avons fabriqué, est semi ferme (pas trop molle) mais souple.

Selon Gunasekaran et *al.*,(2003) L'influence du sel sur la texture des fromages est probablement causée par ses effets sur la composition (teneur en humidité et l'humidité sur matière sèche dégraissée), sur le pH et la protéolyse liée à l'âge des fromages.

✓ **Gout**

D'après le résultat obtenu (3.16/5 et 2.83/5 et 3.33/5 et 3.33/5), les quatre fromages que nous avons fabriqués, ne présentent pas de goût amer sauf le F2 d'après les dégustateurs.

Selon Luquet, (1990) une trop longue conservation, une activité protéolytique trop forte des ferments ou une contamination par des germes protéolytiques conduit à une amertume.

De même, selon Hassan et Monier-Dilhan, (2003) l'amertume des fromages est généralement due à la production de peptides amers par les enzymes protéolytiques des microorganismes et des agents coagulants.

L'évaluation montre que notre fromage a un goût légèrement salé. Eck et Gillis., (1997) indiquent que les fromages sont souvent très salés, afin de prolonger leur durée de conservation.

✓ **Couleur**

Les résultats montrent des bonnes notes (3.66/5 et 3.5/5 et 3.66/5 et 3.5/5) pour les quatre fromages F1, F2, F3 et F4 respectivement, C'est-à-dire les quatre fromages ont une bonne couleur.

✓ **Odeur**

Les résultats moyens sont de 3.5/5 et 3.16/5 et 3.16/5 et 3.83 pour les fromages fabriqués. Nous avons enregistré une odeur très agréable avec une forte intensité globale.

Ljutovac, (2002) affirme que la lipolyse, dégradation enzymatique de la matière grasse, conduit à la libération d'acides gras, permettant le développement de la saveur du fromage.

✓ **Arome**

D'après les résultats de 3,5/5 et 3.16/5 et 3.33/5 et 3.83/5 pour les quatre fromages fabriqués, une présence notable des arômes.

Conclusion

Conclusion

La transformation du lait en fromage dépend de plusieurs facteurs : ferments lactiques, paramètres technologiques (conditions de la coagulation, la nature et l'intensité du travail mécanique, la vitesse d'égouttage, les conditions d'affinage...) et spécialement le lait utilisé (composition chimique et microbiologique).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt et une large utilisation en technologie alimentaire d'une part, surtout en technologie fromagère. D'où notre objectif est d'appliquer des souches de bactéries lactiques, déjà isolées et identifiées au laboratoire de Khemis –Miliana, en technologie locale du fromage. D'autre part sur le lait utilisé pour cette fabrication et leur très grande importance pour l'obtention d'un fromage de bonne qualité.

-Les résultats préliminaires, physicochimiques (pH=6.70, Acidité titrable=16, Densité=1030, un taux de matière grasse=3.1%, et un taux d'extrait sec=11)

- Les résultats microbiologiques (absence totale des germes pathogènes et des coliformes totaux), du lait de vache pasteurisé indique qu'il est de bonne qualité.

L'ensemble des ferments présentent un bon pouvoir acidifiant. Bonne propriété fonctionnelle qui peut être exploitée.

L'application de ces trois ferments mixtes dans la fabrication du fromage a été réalisée dans de bonnes conditions (matière première, hygiène, travail mécanique...)

La fabrication du fromage a été réalisée avec réussite. Les résultats du contrôle de fabrication la confirment.

L'évaluation de la qualité du notre fromage révèle : une bonne qualité hygiénique qui répond aux normes fixées par la FAO, (2002), une qualité organoleptique très appréciable, jugée par la totalité des membres du jury et une qualité nutritionnelle satisfaisante avec un taux protéique important d'une valeur moyenne de 24.18% pour les quatre fromages fabriqués.

Enfin, ces résultats peuvent être très intéressants du point de vue technologique et économique. La valorisation des souches locales par leur utilisation comme levain industriel, pouvant remplacer ceux utilisés actuellement, est d'un grand intérêt et peut aboutir à l'élaboration un fromage qui présente des caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles identiques ou nouvelles, voir même typiques caractérisant un territoire qui nous est spécifique.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

Abakar, M. N. M. (2012) *Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais, à partir du lait de vache, coagulé par la papaïne naturelle*. Université CHEIKEN ANTA de Dakar. Available at: <http://www.beep.ird.fr/collect/eismv/index/assoc/MEM121.dir/MEM12-1.pdf>.

Abdoun, O. (2003) 'De Magister en Sciences Alimentaires Option Nutrition Appliquée Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage', p. 88.

Adler-Nissen (1986) *Enzymatic hydrolysis of food proteins. Elsevier applied science, London & New York*.

Adrian, (1987) valeurs alimentaires du lait. La maison rustique. Paris 85-95. Technique et documentation, Lavoisier.

AFNOR (1986) 'Contrôle de la qualité des produits laitiers: Analyses physiques et chimiques, *Méthode II-3. AFNOR-ITSV, France, pp., p. 1030*.

Alais, (1975) *Science du lait principal des techniques laitières*

Alais C, (1984). *Science du lait : principes des techniques laitières*. 4e Ed., SEPAIP. Paris. 814.

Amariglio, S. (1986) 'Contrôle de la qualité des produits laitiers: Analyses physiques et chimiques', pp. 123–124.

Amelarta, M. F., Raeta, Y. L. E. G., Ichela, F. M., Ichouxb, R. R. and Iaublancc, A. R. (2002) 'Évaluation des méthodes d'appréciation des propriétés fonctionnelles des fromages d'emmental de l'Ouest de la France', *Le Lait*, 82(2), pp. 225–245. doi: 10.1051/lait.

Andelot P, (1983): Le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique. *Rev lait franç* 416 : 15-16

Anonyme, 2. (1999) 'Québec Amérique .Le guide des aliments, Indispensable à tout amateur de cuisine'. CANADA, p. 219.

AOAC. (2000) *ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis*.

Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F. and Obert, J.-P. (2008) 'Production et conservation des ferments lactiques et probiotique s', in *Corrieu, G. et Luquet, F.-M. (ed.). Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*, Tec&Doc Lavoisier, Paris, pp. 661–785

Benkerroum, N. and Tamime, A. Y. (2004) 'Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale', *Food Microbiology*, 21(4), pp. 399–413. doi: 10.1016/j.fm.2003.08.006.

- Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G. and Verne-Bourdais, É. (2002) *Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires*. Aquitaine : Doin, Paris.
- Bouix, D. and Leveau, J. . (1980) *Les levures : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, le contrôle microbiologique*. Edited by C. S. T. A. Ali
- Bourgeois, C. M. and Larpent, J. P. (1996) *Microbiologie alimentaire tome 2: Aliments fermentés et fermentations alimentaires*,. Lavoisier. Paris.
- Boutonnier J-L (2012) 'Fabrication du fromage fondu', *Techniques de l'Ingénieur*, pp. 1–3. Available at: [see_the_document_in_the_desktop_folder_Techniques_de_lingenieur](#). dans les industries agroalimentaires. Aquitaine : Doin, Paris.
- Bouvier C, (1993).le lait, la nature et les hommes. Explora Presse Pocket, Paris
- Branger, A. (2012) 'Fabrication de produits alimentaires par fermentation : les ferments', *Techniques*, 33, p. 17.
- Branger, A., Richer, M. . and Roustel, S. (2007) *Microchimie et alimentation*. Educagri
- Buchin, S. and Noel, Y. (2002) 'Connaissance et choix des produits laitiers : exemple des fromages', 10, pp. 56–59.
- Bugaud, C., Buchin, S., Hauwuy, A. and Coulon, J. B. (2002) 'Texture et flaveur du fromage selon la nature du pâturage : Cas du fromage d'Abondance', *Productions Animales*, 15(1), pp. 31–36.
- 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 Q.
- Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V. and Reinheimer, J. (2010) 'Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations', in *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, pp. 177–192. doi: 10.1002/9780813820866.ch10.
- Chamba, J.-F. and Irlinger, F. (2004) 'Secondary and Adjunct Cultures', *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 1(C), pp. 191–206. doi: 10.1016/S1874-558X(04)80068-X.
- Charron, G. (1986) 'les produits laitiers. Techniques et documentation la voisier'.
- Cayot P, Lorien D, (1998). Structures et tech fonctions des proteines du lait. Tech et Doc. Lavoisier, Paris.
- Cheftel, C., Cheftel, H. and Etbesanon, P. (1983) 'Qualite et caracteres organoleptiques des aliments : introduction à la biochimie et à la technologie des aliments techniques et documentation Lavoisier.', p. 165.
- Chimie GCI, 190 (2011) 'Dosage Des Ions Chlorures', (3), pp. 1–7.

Codex Alimentaire, S.(2013)'Norme Générale Codex pour le fromage.

Choi, H.Y. Yang, C.J. Choi K.S and Bae, I; (2015), Characteristics of Gouda cheese supplemented with fruit liquors., *Journal of Animal Science and Technology* (2015) 57:15 DOI 10.1186/s40781-015-0048-2

Debry, G. (2001) 'Lait, nutrition et santé', Techniques et documentation Lavoisier, p. 544
Desmazeaud, M. J. and Vassal, L. (1979) 'Activite proteolytique intracellulaire de streptocoques lactiques mesophiles', *Lait*, 59(587), pp. 327–343.

Directive Européenne (92-46) (1992) 'LES REGLES SANITAIRES POUR LA PRODUCTION ET LA MISE SUR LA MARCHE DE LAIT CRU, DE LAIT TRAITE THERMIQUEMENT ET DE PRODUITS 0 BASE DE LAIT.

Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. and Shah, N. P. (2007) 'Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk', *Le Lait*, 87(1), pp. 21–38. doi: 10.1051/lait:2006023.

ECK, A. and Gillis J.C. (1997) *Le fromage*. Paris.

Edima H.C. (2007) 'Carnobacterium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine.' ,pp.57–66.

Eigel WN, Buther JF, Ernstrom CA et al, (1984), Nomenclature of proteins of cow's milk fifth revision. Steele, J. L'. New York, pp. 131–172.

Famelart, M. ., La Graet, H., F Michel, H., Richoux, R. and Riaublanc, A. (2002) 'Évaluation des méthodes d'appréciation des propriétés fonctionnelles des fromages d 'emmental de l'Ouest de la France', *Le lait.*, 82, pp. 225–245. doi: 10.1051/lait.

FAO (1995) 'Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine', Collection FAO / Alimentation et nutrition, (2), pp. 1–23.

FAO (2002) *le lait et les produit laitieres dans la nutrition humaine, Chapitre 05 : lait fermentés. Collection FAO/Alimentation et nutrition.*,

Farrah, F. and et Rouabah F. (2006) 'Essai d'isolement et d'identification des souches de Streptococcus salivarius ssp thermophilus à partir du lait de vache, thèse du diplôme des études Universitaire Appliquée en Biologie'. Centre Universitaire de Khemis Miliana, pp. 1–24

Federighi M. (2005) *Bactériologie alimentaire compondium d'hygiène des aliments*. 2 eme édit.

Floury, J., Camier, B., Rousseau, F., Lopez, C., Tissier, J. P. and MH., F. (2009) ' A Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure–texture relationships', *LWT-Food Science and Technology*, (42), p. 1611–1620.

Fournier, A. (2007) 'La vache', Artémis pour la présent édition. Edited by A. pour la présent édition Édition, p. 115.

Frank, J. F. and Hassan, A. N. (1998) 'Starters cultures and their use. In Marth, E. H. et Steele, J. L'. New York, pp. 131–172.

Fredot (2006) 'Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique', *Tec et Doc*, Lavoisier:, p. (397 pages).

Gassi, H. G. B. C.-C., Jean-Yves, D. and Schuck, P. (2002) 'Procédés de transformation fromagere (partie 3)', *Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire*, (3), pp. 1–11.

Gaucheron F. (2004) 'Minéraux et produits laitiers', p. 922.

Gnanda, I. ., Zoundi, J. ., Nianogo, J. ., Le Masson, A. and Meyer, A. (2006) 'Performances laitières et pondérales de la chèvre du Sahel burkinabé en régime de complémentation basé sur l' utilisation des ressources alimentaires locales', 58(3), pp. 175–182.

Goursaud, J. (1985) 'Le lait de vache, composition et priorites physico-chimiques. In : lait et produits laitiers vache-brebis- chevre.', p. 25–36.

Guinee, T. P. and O'Kennedy, B. T. (2009) 'The effect of calcium content of Cheddar-style cheese on the biochemical and rheological properties of processed cheese', *Dairy Science and Technology*, 89, pp. 317–333. doi: 10.1051/dst/2009009.

Guinee T.P., C., M., R. and M., K. (2004) 'Pasteurized Processed Cheese and Substitute/Imitation Cheese Products', *Elsevier Applied Science Ltd*, 3, p. 349–394.

Guiraud, J. . (1998) 'Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire',. Eds. Dunod Paris, p. 652.

Guiraud, J. and Galzy, P. (1980) L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Les éditio. Luquet F.M. (1990) 'Lait et produits laitiers (vache, chèvre, brebis) : transformation et technologie', Techniques et documentation Lavoisier, pp. 41–65.

Guiraud J.P. (2003) 'Microbiologie Alimentaire.', pp. 90–292.

Gunasekaran, S., Ak, M. M., Methods, E., Properties, F., Viscoelasticity, L., Viscoelasticity, N., Watkinson, P. and Zealand, N. (2003) Cheese Rheology and Texture. 1st editio, New York.1st editio. Florida, USA. doi: 10.1111/j.1471-0307.2006.00199.x.

Hamama, A. and Bayi, M. (1991) 'Composition and microbiological profile of two Moroccan traditional dairy products: raib and jben', *International Journal of Dairy Technology*, 44(4), pp. 118–120. doi: 10.1111/j.1471-0307.1991.tb01921.x.

Hardy, J. (2004) Chapitre 19 : Le chlorure de sodium dans le lait et les produits fromagers, Minéraux et Produits laitiers,. Éditions T. Paris.

Harper, W. ., Armora, H. . and Chenj .L . (1980) 'Manuel de bactériologie alimentaire'.

Hassan, D. and Monier-Dilhan, S. (2003) 'Valorisation des signes de qualité dans l'agroalimentaire : exemple des fromages à pâte persillée', in Séminaire DADP : Recherches pour et sur le développement régional, pp. 269–277.

Hermier, J., Lenoir, J. and Weber, E. (1992) 'Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIL, Paris'. P, p. 568.

Ho, T. N. ., Tuan, N, N., Deschamps, A. and e Caubet R. (2007) 'Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product', *Journal of Asian Scientific ...*, pp. 132–142. Available at: <http://pakacademicsearch.com/pdf-files/sci/2/807-819.pdf>.

Hui, H. . (1992) *Dairy science and technology handbook*. Wiley-VCH.

Hurley, W. L., Grieve, R. C., Magura, C. E., Hegarty, H. M. and Zou, S. (1993) 'Electrophoretic comparisons of lactoferrin from bovine mammary secretions, milk neutrophils, and human milk.', *Journal of dairy science*, 76(2), pp. 377–87. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77356-7.

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. and Karam, N.-E. (2009) 'Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits', *Grasas y Aceites*, 60(2), pp. 177–183. doi: 10.3989/gya.085408.

Irlinger, F. and Mounier, J. (2009) 'Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety', *Current Opinion in Biotechnology*, p. 142–148. doi: 10.1016/j.copbio.2009.02.016

ISO, 3433 (2002) 'Fromages -Détermination de la teneur en matière Grasse- Méthode acidobutyrometrique, International Organization of Standardization.'

Jeanet, R., Croguennec, T., Schuck, P. and Brulé, G. (2008) *Science des aliments : Technologie des produits alimentaires*. Paris..

Joffin, C. and Joffin, J.-N. (1999) 'Microbiologie alimentaire', *Biofutur*, 1999(189), p. 45. doi: 10.1016/S0294-3506(99)80417-7.

J. O, (1993) La méthode HACCP : contexte et principe d'utilisation - C.T-info n°1

Juillard, V., Spinnler, H. ., , Desmazeaud, M. . and et Boquien, C. . (1987) 'Phénomènes de coopération et inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière.', *Le lait.*, 67, p. 149–172.

Kitchen B.J, Taylor G.C, White I.C 1970: Milkenzyme. Their distribution and activity, *Dairy Rec*

Kohnhorst, A. L. and Mangino, M. E. (1985) 'Prediction of the Strength of Whey Protein Gels Based on Composition', *Journal of Food Science*, 50(5), pp. 1403–1405. doi: 10.1111/j.1365-2621.1985.tb10487.x.

- Kombila-Moundounga, É. (1992) Dénaturation thermique et gélification des protéines de lactosérum en solution modèle et dans un aliment complexe, le fromage fondu à tartiner : effets du NaCl, du lactose et du glycérol /. Available at: <http://ariane.ulaval.ca/cgi-bin/recherche.cgi?qu=01-0107845>.
- Konings, W. N., Poolman, B., Driessen, A. J. M., Smid, E. J. and Molenaar, D. (1994) 'Mécanismes du transport des nutriments dans les bactéries lactiques', in Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques, volume 1, pp. 209–238.
- Kuzdzal S, (1987). La matiere grasse – Le lait matière première de l'industrie laitière. INRA
- Labaoui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M. and Ouhsine, M. (2005) 'Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes', Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 144(1), pp. 237–250.
- Lankveld JMG, (1995) : Protein standardized milk products, composition and properties – IDF Brussels 70-85
- Lapointe-Vignola, C. (2002) 'Science et technologie du lait: transformation du lait', p. 600.
- Larousse, A. (2002) 'Science et technologie du lait: transformation du lait', p. 767. Available at: https://books.google.com/books?id=E-rb_Pff15sC&pgis=1.
- Laporte, M. F. and Paquin, P. (1999) 'Near-infrared analysis of fat, protein, and casein in cow's milk', Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(7), pp. 2600–2605. doi: 10.1021/jf980929r.
- Larpent J.P. (1998) 'Microbiologie alimentaire.' Paris, pp. 10–72.
- Lecoq R. (1965) 'Manuel d'analyses alimentaires et expertises usuelles'. . Doin. Paris, p. 1304–1311.
- Lenoir, (1987) : les caseines du lait RLF 440 : 17-23
- Leroy, F. and De Vuyst, L. (2004) 'Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation industry', *Trends in Food Science*, 15, pp. 67–78. doi:10.1016/j.tifs.2003.09.004.
- Leveau, J. Y. and Bouix, M. (1993) *Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel, Sciences et techniques agro-alimentaires*.
- Ljutovac K. (2002) 'Lipolyse du lait de chèvre. *Constituants santé*', *Chèvre*, 146, pp. 12–29.4–1311.
- Luquet F.M. (1990) 'Lait et produits laitiers (vache, chèvre, brebis) : transformation et technologie', *Techniques et documentation Lavoisier*, pp. 41–65.
- Mahaut, M., Jeantet, R. and Brûle G. (2000) 'Initiation à la technologie fromagère. Techniques et documentation Lavoisier. Paris.', p. p 194.

- Majdi, A. (2009) 'les fromages AOP et IGP .', in *Séminaire sur les fromages AOP et IGP .INT-Ingénieur agronomie*, p. 88.
- Marrakchi, A. and Hamama, A. (2000) *Valorisation des produits laitiers caprins Ed. Hassan. 2. . Ed. Hass*
- Martley F.G. (1983) 'Temperature sensitivities of thermophilic starter strains', *New Zeal J. Dairy Sci. Technol.*, 18, p. 191–196.
- Mäyrä-Mäkien et Bigret, 2004; Carminati et al, 2010).Cholet O. (2006) 'Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire', *Sciences des Aliments*, p. 16.
- McMahon, D. J., Fife, R. L. and Oberg, C. J. (1999) 'Water Partitioning in Mozzarella Cheese and Its Relationship to Cheese Meltability', *Journal of Dairy Science*, 82(7), pp. 1361–1369. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75361-0.
- Moreau C. (1980) 'Les moisissures : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires, le contrôle microbiologique.', *Sci. Tech. Agro. Ali*, (3), pp. 331–333.
- Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I. and Onilude, a. a. (2003) 'Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1', *African Journal of Biotechnology*, 2(8), pp. 219–227. doi: 10.4314/ajb.v2i8.14770.
- Parente, E. and Cogan T. M. (2004) 'Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P.', *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, pp. 123–142.
- Pien J, (1975) : physicochimie du lait. *Tech lait*, 841 : 13 – 149 844 : 21-23
- Plommet M, (1987). *La traite et les infections de la mamelle Aun nutre Alim.* 20, 43 57
Leclerc, (196)9. *Microbiologie*, Doin. Paris
- Pointurier H. (2003) 'La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France': FRANCE, p. 388.
- Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S. (2004) 'Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park', *International Journal of Food Microbiology*, 92(2), pp. 141–151. doi: 10.1016/j-Rege J.E.O et coll, ; .Muzzolini A 1983 ;MA (1999-2001), Von Den Driesh .A (1992) ;
- Pradal, M. (2012) 'Transformation fromagère caprine fermière'.
- Raynal, K. and Remeuf, F. (2000) 'The effect of heating on physicochemical and renneting properties of milk: A comparison between caprine, ovine and bovine milk', *International Dairy Journal*, 8(8), pp. 695–706. doi: 10.1016/S0958-6946(98)00112-5.
- Rheotest M. (2010) 'Rheometre RHEOTESTR RN et viscosimetre a capillaire , Produits alimentaires et aromatisants'.

Ribadeau-Dumas, B. (1991) 'Physicochimie et biochimie des protéines du lait. Données récentes', *Le Lait*, 71(2), pp. 133–139. doi: 10.1051/lait:1991211.

Ribadeau-Dumas, B. and Grappin, R. (1989) 'Milk protein analysis', in *Lait*, pp. 357–416.

Roudj, S. and Karam, a B. N. (2005) 'Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'ouest algérien Physicochemical properties and electrophoretic analysis of goat and cow raw milks from western Algeria', 12(1970), p. 400.

Roudj S., Belkheir K., Z.-K. H. et K. N. (2009) 'Proteolyse et Autolyse Chez Deux Lactobacilles Isolés de Lait Camelin du Sud Ouest Algérien.', *European Journal of Scientific Research*, ISSN 1450-216X Vol.34 No2, p. pp.218-227.

Roukas, T. and Kotzekidou, P. (1998) 'Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fed batch culture', *Enzyme and microbial technology*, 22(97), pp. 199–204. doi: 10.1016/S0141-0229(97)00167-1.

Sanson A 1888a ; Sanson, A 1888 b ; Geoffroy St Hilaire H.1919 .Sadeler M 1931 ; . Rege J.E.O et coll, ; .Muzzolini A 1983 ;MA (1999-2001), Von Den Driessh .A (1992) ; Nedjraoui, D : (2001)

Settanni, L. and Moschetti, G. (2010) 'Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits', *Food Microbiology*, p. 691–697. doi: 10.1016/j.fm.2010.05.023.

St-Gelais, D., Tirard-Coller, P., Bélanger, G., Couture, R. and Drapeau, R. (2002) 'Transformation du lait (Vignola C.L.)', pp. 379–407.

St-Gelais, D., Ould-Baba, A. and Turcot, S. . (1999) 'Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation .Agriculture et Agro-alimentaire', pp. 1–33

Syndifrais, T. (2003) 'Yaourt et laits fermentés : définition et dénomination. Yaourt', 2, pp. 3–16.

Veisseyre, (1975) *Technologie du lait* 3ème édition, la maison rustique Paris

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

Vignola, Carole L (2002) *sciences et technologie du lait transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal* 2002

Whitney R, Brunner J, Ebner K et al, (1976). *Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fourth revision*. J. dairy Science

Yıldız (2010) *Development and manufacture of yogurt and other dairy products*, CRC Press Taylor & Francis Group, USA,.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture
Tableau 1 : Composition du milieu MRS bouillon pH 6, (Man Rogosa sharp)

MRS bouillon	g/l
Peptone de caséine.....	10
Extrait de viande.....	8.0
Extrait de levure.....	4.0
D (+) Glucose.....	20
Di-potassium hydrogénophosphate.....	2.0
Tween 80.....	1.0
Di-Ammonium hydrogénocitrate.....	2.0
Sodium acétate.....	5.0
Magnésium sulfate.....	0.2
Manganèse sulfate.....	0.04

Tableau 2 : Composition du milieu MRS (Man Regosa Sharp) Agar ph 6.5.

MRS Agar	g/l
Peptone de caséine.....	10
Extrait de viande.....	8.0
Extrait de levure.....	4.0
D (+) Glucose.....	20
Di-Potassium hydrogénophosphate.....	2.0
Tween 80.....	1.0
Di-Ammonium hydrogénocitrate.....	2.0
Sodium acétate.....	5.0
Magnésium sulfate.....	0.2
Manganèse sulfate.....	0.04
Agar.....	14

Tableau 3 : Composition du lait écrémé à un pH= 7.

LAIT ECREME.....	10 g
EXTRAIT DE LEVURE.....	0.5 g
Eau distillée.....	100 ml
Autoclavage 120°C, 20 min.	

Tableau 4 : Composition d'eau peptoné à pH= 7.2.

Peptone exempte d'indole.....	10 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Autoclavage 120°C, 20 min.	

Tableau 5 : Composition d'eau physiologique à pH= 7.

Chlorure de Sodium.....	8.5 g
Peptone	0.5 g
Eau distillée.....	1000 ml
Autoclavage 120°C, 20 min.	

Annexe II : Pouvoir acidifiant du ferment industriel

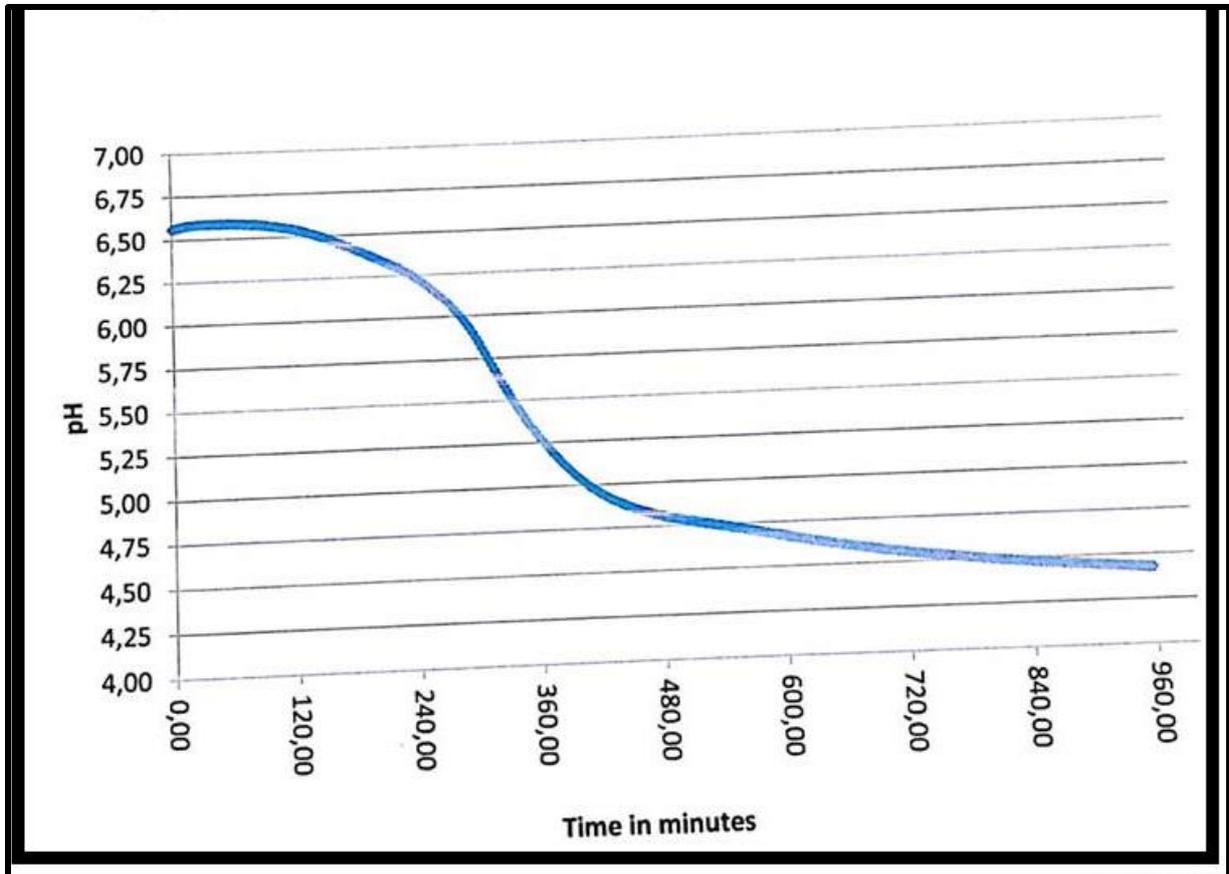


Figure 1 : Courbe d'acidification à 32°C DI PROX® MT243

Annexe III : Fiche de dégustation de fromage

Fiche Pour Panel de Dégustation						
Désignation	Texture	Gout	Couleur	Odeur	Arome	Observation

0 Mauvais

1 Médiocre

2 Passable

3 Assez bon

4 Bon

5 Excellent