

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجليلي بوعامة بخميس مليانة

Université Djillali Bounaâma de Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de: Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master en**

Domaine : *Sciences de la Nature et de la Vie*

Filière : *Science biologiques*

Spécialité: *Microbiologie appliquée.*

Thème

Evaluation de la durée de conservation du fromage frais type petit suisse

Présenté par :

M^{elle} Bettahar Aicha

M^{elle} Bouazni Djamila

Membre du jury :

Présidente : *M^{me} Saadi F.*

MCB

U. Khemis Miliana

Promoteur : *M^r Amrouche Z.*

MAA

U. Khemis Miliana

Examinatrice : *M^{me} ZAOUADI N.*

MAA

U. Khemis Miliana

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

D'abord nous tenons à remercier, le bon dieu de nous avoir permis d'arriver à ce jour, de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

*Nous aimerions exprimer d'abord nos profonds remerciements à notre Promotrice **Mr Amrouche Z** pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations et ses conseils qu'elle nous a prodigué tout au long de ce travail.*

*Nos remerciements Le plus respectueux vont à **M^{me} Saadi F** qui à bien faire l'honneur de présider ce jury.*

*Nos remerciement et reconnaissances vont à **M^{me} Zaouadi N** et pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire microbiologique de la laiterie d'**ARIB** et ceux du laboratoire physico-chimique pour leur patience et leurs précieuses aides, pendant la réalisation de ce travail.*

Merci également pour nos familles et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mon cher et tendre papa aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer mon amour pour toi, tu a été et tu sera toujours la personne la plus importante de ma vie, le pilier de mon existence, je te remercie infiniment pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de faire pour mon éducation et mon bonheur depuis ma naissance, jusqu'à mon âge adulte. Je t'aime mon papa chéri.

Ma chère et tendre maman aucune phrase ne saurait montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ton soutien, ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. Je t'aime maman chérie.

Mes frères que j'adore : Abdelkader, Yahia, Moussa que je remercie pour leur aide et dévouement, que Dieu nous garde toujours unis.

Mes chères sœurs qui ont toujours été présentes pour moi et qui me comblent d'amour : Ramana, Naïma, Chahrazad, Linda.

Ma binôme « Djamila » qui est pour moi ma sœur de cœur et que j'aime profondément puisse dieu nous gardé ainsi uni et proche pour toute la vie.

A Tous mes amis

Pour notre amitié et tout les bons moments passés et à venir.

A Tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, merci à tous.

AICHA

Dédicace

Je dédie ce travail :

A la mémoire de ma très chère mère « Bouazni Bakhta » j'aurais tout aimé que tu sois présent que dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde.

Mon cher père, pour tous ces sacrifices, son amour, son soutien et ces prières tout au long de mes études, Mon père trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et soit fière de moi. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation, l'aide et le soutien permanent venu de toi à fin d'avancer dans ma vie.

A la mémoire de mon maître « Makhlof Abdelkader » que dieu, le miséricordieux vous accueille dans son éternel paradis

.Mes frères que j'adore : MOSTAFA et DJILALI que je remercie pour leur aide et dévouement, que Dieu nous garde toujours unis.

Mes chères sœurs qui ont toujours été présentes pour moi et qui me Comblent d'amour : KARIMA, FATIMA, ROKAI.

Ma binôme «AICHA» la personne qui compte pour moi le plus cette année, merci ma poupée pour tout les bon moments et les souvenir inoubliable qu'on a passé ensemble, que dieu te garde pour moi.

A Tous mes amis

Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir.

A Tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, merci à tous.

DJAMILA

Résumé

Le présent travail a été réalisé dans le but d'évaluer de la durée de conservation du fromage frais type petit suisse, afin d'optimiser cette dernière et de préciser l'impact de la prolongation de la date limite de consommation (DLC). Pour cela, des analyses microbiologiques et physico-chimiques ont été réalisées pendant 63 jours de conservation à 6°C.

Les résultats de ces analyses montrent une **stabilité** microbiologique et physico-chimique du produit durant **28^{ème} jours** de conservation à 6°C, ce qui suggère l'augmentation de la **DLC** fixée à 21 jours par 7 jours dans les mêmes conditions de conservation. Une **altération** microbiologique et physico-chimique de ce produit après 28^{ème} jours de stockage.

Mots Clés : Petit suisse, Stabilité microbiologique, Stabilité physico-chimique, DLC. Conservation.

Abstract

The present Work was realized with the aim of estimated by the shelf life of the swiss small typical cheese, to optimize this dernière and specify the impact of the extension (Extratime) of the expiration date (DLC), for it microbiological and physico-chemical analyses were réalisées during 63 days of preservation in 6°C.

The results (profits) of these analyses show a microbiological and physico-chemical stability of the product for 28 days of preservation in 6°C, what suggests the increase of the DLC fixed in 21 days by 7 in the daytime in the same conditions of preservation, a microbiological and physico-chemical change of this product after 28 days of stokage.

Keywords : Petit-suisse, microbiological stability, physico-chimical stability, DLC, preservation.

:

لقد تحقق هذا العمل بهدف تقدير فترة تخزين الجبن الطازج petit-suisse و تحديد اثر التمديد (الوقت الإضافي) تاريخ انتهاء الصلاحية (DLC) من اجل هذا قمنا بتحليلات الميكروبيولوجية والفيزيوكيميائية خلال 63 يوما في 6 درجات مئوية والحفاظ عليها.

النتائج من هذه التحاليل تبين الاستقرار الميكروبيولوجية والفيزيوكيميائية لهذا المنتج لمد 28 يوما المخزن في 6 مئوية مايوحي زيادة (DLC) تاريخ نهاية صلاحية المنتج ثابتة خلال 21 يوم إلى 7 أيام مع الحفاظ على نفس شروط بين حيث أنلف هذا المنتج بعد 28 يوم من التخزين.

الكلمات الأساسية: الميكروبيولوجية, الاستقرار الفيزيوكيميائية, تاريخ نهاية الصلاحية (DLC), التخزين

Liste d'abréviation :

% : pour cent.

°C : degré Celsius.

°D : degré dornic.

Abs : absence

AFNOR : Agence Française de Normalisation

C.f : Coliforme fécaux.

C.t : Coliforme totaux.

DCLa : Désoxycholate de sodium.

DLC : Date Limite de Consommation

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec totale.

FAO : Organisation National des Nations Unis pour l'agriculture et l'alimentation

g : gramme.

GAMT : Germe Aérobic Mésophile Totaux.

GC : Giolliti Contonii.

GEM RCN : Groupe d'étude des marches de restauration collectives et de nutrition

IND : indénombrable.

ISO : Organisation mondial de la normalisation

J.O.R.A : Journal Officiel de la république Algérienne.

MET : Méthionine.

MG : Matière Grasse.

ML : millilitre

Mn : minute.

NF ISO : Normes française International standard organisation

O.R.L.A.C : Office Régional Laitière Algérie Centre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PCA: Plate Count Agar.

pH : potentiel d'hydrogène.

pHE : phénine

S .aureus : *staphylococcus aureus*

Sec : seconde.

SFB : Bouillon d'enrichissement au sélénite de sodium et à la cystéine.

SM : Solution mère.

T : Température.

TSE : Tryptone Sel Eau.

UFC : Unité Formant Colonie

UFC/g : Unité Formant de Colonie par gramme.

VRBL : gélose lactose biliée au vert brillant et au rouge de phénol.

Liste de figure

Figure 1 : Le mécanisme d'action de la présure.....	23
Figure 2 : Etape de fabrication de petit-suisse dans la laiterie d'ARIB.....	27
Figure 3 : Résultat des germes aérobies mésophile totaux au 1 ^{ère} jours de conservation.....	43
Figure 4 :Résultat d'absence des Coliforme Totaux et Fécaux jusqu'au 40 ^{ème} de conservation.....	44
Figure 5 : Résultat d'absence de <i>Staphylococcus aureus</i> jusqu'au 63 ^{ème} jour de conservation.....	45
Figure 6 : Résultat de recherche de <i>Salmonelle</i>	45
Figure 7 : Résultat de recherche de levure et moisissure.....	46
Figure 8 : Evaluation de l'acidité en °D de fromage frais type petit suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.....	48
Figure 9 : Evaluation du pH de fromage frais type petit suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.....	48
Figure 10 : Evaluation en % de taux en MG de fromage frais type petit suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.....	49
Figure 11 : Evaluation de l'EST en g/L de fromage frais type petit suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.....	50
Figure 12 : l'organisation de l'entreprise.....	Annexe
Figure 13 : Préparation de dilution décimale	Annexe
Figure 14 : Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.	Annexe
Figure 15 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux en milieu solide.	Annexe
Figure 16 : Recherche et dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i> par la méthode de Gioliti Contoni.....	Annexe
Figure 17 : Recherche et dénombrement de <i>sallmonelle</i>	Annexe
Figure 18 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures.	Annexe

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de vache	04
Tableau 2 : Principaux caractères physico-chimiques du lait	05
Tableau 3 : Flore originelle du lait cru	09
Tableau 4 : Germes contaminant le lait cru	10
Tableau 5 : Classification des principaux fromages	18
Tableau 6 : Composition moyenne de « petit suisse » pour 100g de produit frais.....	18
Tableau 7 : Rôles de ferments lactiques en fromageries	22
Tableau 8 : Milieux de cultures, température et temps d'incubation des germes recherchés au niveau des pots de conditionnement	31
Tableau 9 : Résultats des analyses microbiologiques du fromage frais type petit-suisse au cours de stockage.....	42
Tableau 10 : Résultats des analyses physico-chimiques de produit fini petit-suisse au cours de conservation à 6°C.....	47

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : Lait cru	
I : Généralités sur lait	03
I.1. Définition du lait	03
I.2. Composition du lait	03
I.3. Caractéristiques organoleptiques	05
I.4. Caractéristique physico-chimique du lait	05
I.4.1. La densité	05
I.4.2. Le pH	05
I.4.3. Acidité titrable du lait	06
I.4.4. Point de congélation	06
I.4.5. Point d'ébullition	06
I.5. Valeur nutritionnelle du lait	06
I.5.1. Minéraux	06
I.5.2. Vitamines	07
I.5.3. Protéine	07
I.5.4. Lactose	07
I.5.5. Matière grasse	07
II. Caractéristiques microbiologique du lait cru	08
II.1. Flore originelle	08
II.2. Flore de contamination	09
II.3. Principales activités microbiennes dans le lait	10
II.3.1. Fermentation homolactique et hétérolactique du lactose avec acidification du lait...	11

II.3.2.Protéolyse.....	11
II.3.3.Lipolyse.....	12
II.4.Substance antimicrobiennes du lait cru.....	12
II.4.1.Système lactoperoxydase-thiocyanat.....	12
II.4.2.Agglutinines	12
II.4.3.Autre substances antimicrobiennes	13
III. Hygiène de la traite	13
III.1.Trayeur.....	13
III.2.Animale.....	13

Chapitre II : Fromage frais

I. Fromage	15
I.1.Définition.....	15
I.2.Composition.....	15
I.2.1.Eau.....	15
I.2.2. Matière grasse.....	15
I.2.3.Protéines.....	15
I.2.4.Lactose.....	16
I.2.5.Minéraux.....	16
I.2.6.Vitamines.....	16
I.3.Les différents types de fromage	16
I.3.1.Fromage frais ou à pâte fraîche	16
I.3.2.Fromage à pâte molle.....	17
I.3.3.Fromage à pâte pressée.....	17
I.3.4.Fromage fondus	17
II. Fromage frais	18
II.1.Définition.....	18
II.2.Différents type.....	18
II.2.1.Petit-suisse.....	19
II.2.1.1.Définition.....	19
II.3.Matière utilisée au cours de la fabrication du fromage frais type petit-suisse	20
II.3.1.Lait cru.....	20
II.3.2.Lait en poudre.....	20
II.3.3.La crème fraîche.....	20

II.3.3.Les ferments lactiques.....	21
II.3.4.Présure.....	23
II.4.Processus de fabrication du fromage frais type petit-suisse	24
II.4.1.Préparation de la crème fraîche.....	24
II.4.1.1.La réfrigération du lait cru.....	24
II.4.1.2.Ecrémage de lait	24
II.4.1.3.Pasteurisation de la crème.....	24
II.4.1.4.Refroidissement de la crème.....	24
II.4.2.Préparation de la pâte écrémée.....	25
II.4.1.Standardisation du lait maigre.....	25
II.4.2.Pasteurisation	25
II.4.3.L'ensemencement.....	25
II.4.4. Décaillage.....	26
II.4.5.La thermisation.....	26
II.4.6.La séparation ou égouttage	26
II.4.7.Refroidissement.....	26
II.4.3.Traitement du produit fini.....	26
II.4.3.1.Incorporation de la crème.....	26
II.4.3.2.Conditionnement	26
II.5.Le flore microbienne du fromage frais	28
II.5.1.La flore bénéfique.....	28
II.65.2.La flore de contamination	28

Partie Expérimentale

Chapitre III: Matériels et méthodes

I. Présentation de lieu de stage	29
II. Prélèvement	29
III. Analyses microbiologique	29
III.1.Préparation des échantillons.....	30
III.1.1.Prise d'essai.....	30
III.1.2.Préparation des dilutions décimales.....	30
III.1.3.Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (NF V 08-051).....	30
III.1.4.Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliforme fécaux (NF V 08-050, NF V 08-017).....	31

III.1.5.Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> (NF V 08-052).....	32
III.1.6.Recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i> (NF V 08-013).....	34
III.1.7.Recherche et dénombrement des levures et moisissures (NF V 08-059).....	36
IV. Analyses physico-chimiques	37
IV.1.Détermination de l'acidité titrable.....	37
IV.2.Détermination du pH	38
IV.3.Détermination de la matière grasse par méthode acido-butyrométrique.....	38
IV.4.Détermination l'extrait sec total.....	39
IV.5.Détermination l'extrait sec dégraissé (NF V 04-207).....	40

Chapitre IV : Résultats et discussion

I. Résultats des analyses microbiologique	41
I.1.les Germes aérobies mésophiles totaux.....	42
I.2.Coliformes Totaux et Fécaux.....	43
I.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	43
I.4. <i>Salmonelles</i>	44
I.5.La levure et moisissure.....	45
II. Résultats des analyses physico-chimique	46
II.2.3.L' Acidité.....	47
II.2.4.pH	47
II.2.1.Matière grasse.....	48
II.2.2.Extrait sec total.....	49
III. Discussion général.....	50
Conclusion	52

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, près de 120 L/habitant/an (Kacimi El Hassani ., 2013). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens. Le lait est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs trait sans aucune addition ni soustraction. (Leveau et Bouix., 1993). Il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale (Senoussi., 2008), par sa composition, est un aliment très riche : il contient des matières grasse, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et d'eau à 87%.

Le lait et ses dérivés constituent une denrée de grande consommation ils sont consommés sous forme de lait reconstitué ou le lait recombinaé, de yaourt, de caillé on de fromage. Parmi les quelles le fromage frais type petit-suisse. La définition légale précise que la forme de ce fromage est cylindrique, que son poids est de 60g environ, que sa teneur en est au moins de 4 pour 100 g de fromage desséché et qu'enfin, sa teneur en extrait sec totale s'élève au minimum à 30 g pour 100 g fromage (Veisseyre., 1979) .

Les produits laitiers sont différents de par leur composition, processus de fabrication et aussi leur date limite de consommation. La DLC selon (JORA., 2013) correspond à la date au-delà de laquelle les produits sont altérables et microbiologiquement périssables et susceptibles de présenter un danger immédiat pour la santé humaine, après cette date les produits ne doivent être ni commercialisés ni consommés. Au-delà de cette période les produits sont susceptibles d'avoir perdu leurs qualités organoleptiques et nutritives (Code de consommation ., 2008).

Notre étude s'est portée sur l'évaluation de la durée de conservation du fromage frais type petit-suisse stocké à 6°C, car le risque d'altération du produit est possible par différents microorganisme, dont elle nécessite un suivi microbiologique et physico-chimique, qui permettent d'assurer une bonne qualité hygiénique aux consommateurs tout en lui gardant ses qualités nutritionnelles et organoleptiques.

Pour cela un suivi Microbiologique au cours de conservation avec la recherche :

- ✓ Germe de salubrité microbiologique aérobie mésophile Totaux
- ✓ Des germes de contamination : Coliforme totaux et Coliforme fécaux
- ✓ Des germes pathogènes : *Salmonelle*, *Staphylococcus aureus*
- ✓ Des levures et moisissures

Ces germes sont une source de contamination de ce produit. Certains sont utiles alors que d'autres sont dangereux pour la santé (Borges, 2013), Certains causent des altérations de la saveur, de l'odeur et couleur du produit qui résulte de leur croissance (Soroste, 2013).

Ainsi un suivi physico-chimique au cours de stockage du produit fini du petit suisse à 6°C à savoir :

- ✓ Déterminée l'acidité
- ✓ Mesurer de pH
- ✓ Dosage de la matière grasse
- ✓ Déterminée l'extrait sec totale

Ce ci est réalisée afin de confirmé l'évaluation de la durée de conservation du fromage frais type petit suisse à 6°C.

Chapitre I

Lait cru

I. GENERALITES SUR LE LAIT

I.1. Définition

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Alais, 1975).

Le lait cru est un lait non chauffé au de la de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en microorganisme (Deforges et al ., 1999).

I.2. Composition du lait

Franworth et Mainville ., (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis long temps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

Selon Favier, (1985) le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E.

Les principaux constituants du lait par ordre décroissant selon Debry, (2001) sont:

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes,

vitamines. Et oligoéléments.

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de vache (Alais et al ., 1997).

	Composition (g / L)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7 %)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
Matière grasse proprement dit	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol)	0,5	
Protides	34	Suspension micellaire de phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Caséine	27	
Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5	
Substance azotées non protéiques	1,5	
Sels	9	Solution ou état colloïdale
De l'acide citrique (en acide)	2	
De l'acide phosphorique (P ₂ O ₃)	2,6	
Du chlorure de sodium (NaCl)	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

I.3. Caractéristiques organoleptiques

Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques particulières qui concernent la couleur blanc mat du lait qui est due aux pigments de carotènes et à la matière grasse selon (Fredot, 2005), l'odeur qui vient également du taux de matière grasse contenue dans le lait, celui-ci est liée directement à l'alimentation de la femelle productrice et à la conservation du lait (Vierling, 2003), la saveur plaisante et savoureuse, varie selon le degré de chauffage du lait (frais, pasteurisé, bouilli ou stérilisé) et de l'alimentation de l'animal (Amiot et al., 2002) et la viscosité qui est une caractéristique importante qui permet au consommateur d'évaluer la qualité du lait, dépend de la teneur en matières grasses, de la caséine et des paramètres technologiques (Rheotest, 2010).

I.4. Caractéristiques physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot et al., 2002).

Tableau 2: Principaux caractères physico-chimiques du lait (FAO, 2013)

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Densité du lait entier à 20 °C	1,031	1,028-1,033
PH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable (°Dornic)	16	15-17
Point de congélation (°C)	-	-0,520- -0,550
Viscosité du lait entier à 20°C (centipoises)	2,2	—
Point d'ébullition (°C)	-	100,15-100,17

I.4.1. La densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,033. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling, 2008).

I.4.2. Le pH

Le pH du lait change d'une espèce à une autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate et aussi selon les conditions

environnementales (Alais, 1984). Un lait normal à un pH compris entre 6,6 et 6,8. Un lait à pH plus bas résulte soit d'une contamination par une flore acidifiante, soit de la présence du colostrum. Un lait alcalin est un lait pathologique lait de mammite (Mahaut et al., 2000).

I.4.3. Acidité titrable du lait

La mesure d'acidité titrable s'exprime couramment de deux façons soit en pourcentage (%) d'équivalents d'acide lactique, soit en degrés Dornic (°D) ; 1°D représente 0,1 g/l d'acide lactique. L'acidité du lait doit être comprise entre 15 et 18 °D. Un lait frais a une acidité de 18° D (Vignola, 2002).

I.4.4. Point de congélation :

Le lait congèle à -0,555°C. C'est la caractéristique la plus constante du lait et sa mesure est utilisée pour déceler le mouillage. Si le point de congélation est supérieur -0,53°C, on suspectera une addition d'eau (Mahaut et al., 2000).

I.4.5. Point d'ébullition

Le point d'ébullition du lait est de 100,5°C, soit légèrement supérieur à celui de l'eau, il est indiqué par le moment où la pression de la substance ou la solution est égale à la pression appliquée (Vignola, 2002).

I.5. Valeur nutritionnelle du lait

La composition et les qualités nutritives du lait en font un aliment presque complet. Si aucun aliment ne peut combler tous nos besoins et assurer à lui seul le bon fonctionnement de l'organisme, le lait est toutefois l'aliment qui se rapproche le plus de cet idéal. La richesse et la variété des éléments nutritifs du lait en font un aliment équilibré (Jeantet et al., 2008).

I.5.1. Minéraux

Les minéraux les plus importants du lait, le calcium, le phosphore et le magnésium, sont aussi les trois principaux constituants minéraux des os, où se concentrent 99, 80 et 79 % respectivement du total de ces éléments dans l'organisme. Ces trois minéraux, en plus d'être requis pour la croissance et le maintien d'une ossature en santé, permettent de diminuer l'hypertension artérielle (Vignola, 2002).

Le lait est une des plus importantes sources de calcium dans la nutrition humaine. Il contient du potassium 1,5 g/l et trois fois moins de sodium 0,5 g/l (Alais et Linden., 1997).

I.5.2. Vitamines

D'une manière générale, le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. Il existe des laits sur le marché à teneur garantie en vitamines. Ce sont surtout les vitamines A, B₁, et B₂, qui constitue la valeur nutritive du lait, leur consommation protège l'individu des syndromes de déficience vitaminique (Jeantet et al ., 2008).

I.5.3. Protéine

Les protéines, dont la teneur moyenne estimée à 34 g/l est représentée à 28g/l par les caséines. Celles-ci sont primordiales parce qu'elles confèrent une bonne valeur nutritionnelle au produit (couverture des besoins azotés de l'organisme), une valeur ajoutée au lait grâce à leurs aptitudes technologiques et leurs propriétés fonctionnelles reconnues (Cayot et Lorient., 1998).

Il contient 8 à 10 acides aminés essentiels dont principalement la lysine, la thréonine, l'histidine, particulièrement indispensable chez le nourrisson, et la méthionine chez les personnes âgées. Le lait est donc le complément idéal des céréales (Jeantet et al ., 2008)

I.5.4. Lactose

Le lactose est un constituant majeur de la matière sèche du lait. Il favorise l'assimilation du calcium et de la matière azotée (Jeantet et al ., 2008). Il est principale glucide du lait, a surtout un rôle énergétique et représente environ 30 % de la valeur calorique du lait. Il agit aussi en favorisant la colonisation du système digestif et la croissance des bactéries lactiques bénéfiques qui s'opposent à son envahissement par des bactéries anaérobies et putréfiantes (Vignola, 2002).

C'est le constituant le plus abondant du lait de vache. Il joue un rôle important, lié notamment à sa valeur nutritionnelle et à sa fermentescibilité qui commande l'élaboration de divers produits laitiers (Mahaut et al ., 2000).

I.5.5. Matière grasse

La matière grasse proprement dit, ou lipides neutres, constituée de glycérides, est très prédominant : 98%. Elle est solide à température ambiante ; elle est presque entièrement libre, et se trouve en fine dispersion dans les globules gras (Alais et Linden., 1997).

La consommation de la matière grasse laitière est indispensable dans l'alimentation elle fournit 48% de la valeur énergétique du lait entier. Ces lipides d'origine laitière ne soulèvent pas d'objection particulière sur le plan nutritionnel (Jeantet et al ., 2008).

II. Caractéristiques microbiologique du lait cru

Le lait est, de par sa composition, un aliment de choix : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sel minéraux, des vitamines et 87 % d'eau. Son pH est de 6,7. Il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes (Guiraud, 2003).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

II.1. Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002).

Le lait contient peu de microorganisme lorsqu'il est prélevé dans de bonnes condition à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes /ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et *lactobacilles*. Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines » mais leur action est de très courte durée (1 heure environ).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection du pis : streptocoques pyogènes (*Streptococcus*), *corynébactéries* pyogènes, staphylocoques. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium*, agent de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnettii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus. Les germes banaux du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou

d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (Guiraud, 2003).

Tableau 3: Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus sp.	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram négatif	< 10

II.2. Flore de contamination

La flore contamination 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 de malaises chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (Vignola, 2002).

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origines diverses selon Guiraud, (2003):

- Fèces et tégument de l'animal : coliformes, entérocoques, Clostridium, éventuellement Entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*).
- Sol : Streptomyces, Listeria, Bactéries sporulées, spores fongiques.
- Litières et aliments : Flore banale variée, en particulier lactobacilles, *Clostridium* butyriques (ensilage).
- Air et eau : Flores divers dont *Pseudomonas*, bactéries sporulée.
- équipement de traite et de stockage du lait : Micrococoques, levures et flore lactique avec lactobacilles, streptocoques (Streptococcus, lactococcus, Enterococcus, Leuconostoc. Cette flore est souvent spécifique d'une usine ;
- Manipulateurs : Staphylocoques dans le cas de trait manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales.
- Vecteurs divers (insectes en particulier) : flore de contamination fécale.

Tableau 4: Germes contaminant le lait cru (Jakob et al ., 2009)

Source de contamination		Psychrotrophes
Germes gram positifs -germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulé anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoque	Peau, muqueuses	Non
-microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-bactéries propioniques	Peau, résidus de lait fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactique	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéforme	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs -colibactéries (E, coli)	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, Fèces, eaux usées	Certaines espèces
-Pseudomonas	Eau, sol (très répandus)	Oui
-Alcaligenes, Flavobacterium	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandus)	Oui

II.3. Principales activités microbiennes dans le lait

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levures, moisissures et bactéries. Les contaminations bactériennes sont les plus fréquentes et les plus importantes et leurs potentialités de développement les plus à craindre.

Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions du milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur peuvent apparaître par accumulation des produits issus, soit du métabolisme cellulaire, soit de l'action de systèmes enzymatiques complexes sur les constituants du lait. Le plus fréquemment, il s'agit de lait acide, amer, fruité, rance, malté, à gout étranger (kim et al ., 1982) .

II.3.1 Fermentation homolactique et hétérolactique du lactose avec acidification du lait

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide : de 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au dessus de 37°C, les germes en cause sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus bulgaricus*. A des températures inférieures à 10°C, le processus est plus lent, la prise en masse nécessite un délai relativement important. Le caillot peut être dégradé dans une seconde étape par les espèces psychrotrophes protéolytique *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, microcoques (Guiraud et Galzy ., 1980, Leyral et Vierling, 2007).

Après pasteurisation, l'acidification est produite par des germes thermotolérants ou des sporulés ayant résisté comme les *Clostridium* et les *Bacillus*. Lorsque des bactéries lactiques hétérofermentaires interviennent, il y a en plus des acides organiques, de nombreux composés volatils variés (aldéhydes, cétones, alcools) (Guiraud., 2003).

II.3.2 Protéolyse

Au cours de leurs activités métaboliques, certains microorganismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou de textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif (Vignola., 2002 ; Guiraud., 2003).

Dans d'autres cas, la protéolyse est recherchée, elle est contrôlée et joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées de divers types de fromage lors de l'affinage (Vignola, 2002) , l'activité protéolytique des bactéries lactiques en est le meilleur exemple, ces bactéries dotées d'un système protéolytique complexe comprenant des protéases situées à la surface cellulaire, et une large gamme de peptidases intracellulaires, qui lorsqu'elles sont libérées dans le caillé fromager participent efficacement à l'affinage du fromage (Roudj et al., 2009).

II.3.3 Lipolyse

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rance, savon...) dans les produits laitiers (Heuchel et al ., 2003).

Dans un lait cru réfrigéré, la flore dominante est représentée par les psychrotrophes. 70% ou plus de cette population possèdent une activité lipolytique. Cependant, elle n'est perceptible au goût qu'à partir des teneurs de 10⁶ à 10⁷ germes/ml, c'est-à-dire pour des laits crus considérés comme très pollués (Richard ., 1983, Chilliard et Lamberet ., 1984).

II.4. Substance antibactériennes du lait cru

Le lait cru possède des propriétés bactéricides ou bactériostatique vis -à-vis de nombreux micro-organismes de contamination, bactéries pathogènes, bactéries lactique.

On distingue ainsi le système d'inhibition suivante :

II.4.1.Système lactoperoxydase-thiocyanat

La lactoperoxydase,enzyme bien connue du lait ,catalyse en présence d'eau oxygénée l'oxydation du thiocyanate,substance normalement présente dans le lait de vache à la concentration de 1 à 15 ppm .les produit d'oxydation,acide cynosulfureux et cyanoslfurique,hypothiocyanate,sont instables ;ils inhiberaient les enzymes de la glycolyse et altéreraient la membrane interne des bactéries .

La lactoperoxydase étant détruite par chauffage à une température de l'ordre de 82°C Pendant 20s, l'inhibition des bactéries sensibles peut se manifester dans le lait thermisé (63-65°C ,20s) ou pasteurisé (72-75°C, 20s) l'utilisation comme levains de fromageries de souche de bactéries lactiques sensibles au système lactopexydase -thyocyanate est donc à rejeter (ECK, 1987).

II.4.2. Agglutinines

Le lait des vaches en lactation contient, entre autres protéines, des immunoglobulines douées de propriétés antigéniques et capables d'agglutiner les bactéries lactiques : streptocoque du groupe N et lactobacilles. L'effet de l'agglutination se manifeste par une remontée des amas de bactéries agglutinées avec la crème lorsqu'on a affaire à du lait gras, ou par un dépôt de ces amas si le lait est écrémé. Il en résulte une séparation physique des bactéries qui se traduit par une réduction de leur croissance et de leur production d'acide.

Les agglutinines sont détruites par des traitements thermiques à peu près équivalents à ceux qui inactivent la lactoperoxydase.

Dans le cas des fromages pour lesquels la coagulation par présure se fait rapidement, le défaut ne s'observe pas, car il n'y a pas alors la séparation physique des décrites précédemment. Le colostrum, le lait des vaches en cours de tarissement, sont riches en immunoglobulines, donc en agglutinines. Peut être doit-on voir là l'origine de certains défauts observés en fromagerie et attribués à ce type de lait anormaux (ECK, 1987).

II.4.3. Autres substances antibactériennes

En plus des systèmes d'inhibition décrits précédemment, le lait contient plusieurs autres substances douées de propriétés antibactériennes et en particulier ;

- ✓ **Le lysozyme**, enzyme bien connue dans d'autres milieux biologiques, et dont la spécificité diffère suivant l'origine du lait (lait de vache ou lait de femme).
- ✓ **La lactoferrine**, protéine du lait dont l'activité bactériostatique vient de sa propriété de former un complexe stable avec le fer (ECK, 1987).

III. HYGIENE DE LA TRAITE

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (Crapelet et Thibier, 1973).

III.1. Trayeur

- **Bon état de santé** : pour éviter la pollution du lait et la contagion de certaines maladies (tuberculose) à la vache :
- **Propreté** : le vacher, avant de commencer à traire, doit se laver soigneusement les mains et les essuyer avec un linge propre.
- **Tenue** : le trayeur doit être habillé proprement et simplement. La meilleure tenue est le bleu de mécanicien ; le trayeur doit mettre un tablier blanc toujours propre et une calotte blanche cachant ses cheveux (Crapelet et Thibier, 1973).

III.2. Animale

- **Propreté générale** : elle sera obtenue par une litière correcte, si nécessaire un pansage journalier évitant la présence de souillures voire de plaques d'excréments.

- Propreté de la mamelle : elle sera acquise par le passage sur le pis d'un linge propre trempé de solution légèrement antiseptique tiède ; cette dernière devra être renouvelée aussi souvent que nécessaire pour rester propre et remplir son rôle.
- Pour la traite en étable, la queue devra être attachée, pour éviter qu'elle ne souille le lait.
- Santé : on détectera précocement et systématiquement les maladies particulièrement dangereuses : tuberculose, mammites (Crapelet et Thibier, 1973).

Chapitre II

Fromage frais

I. Fromage

I.1. Définition

Selon la réglementation Française ; le décret n° 88-1206 du 30 décembre 1988 la donne dans son premier : La dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir de matières d'origine exclusivement laitière (lait entier, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre), utilisées seules ou en mélange et coagulées ou après élimination partielle de leur eau, Le mot fromage vient du latin formaticum signifiant qu'il est fabriqué dans une forme appelée moule ou forma (Veisseyre, 1979).

I.2. COMPOSITION

La composition des fromages dépend de la composition du lait d'origine et de la technologie employée, notamment degré d'égouttage et conditions d'affinage. Ces facteurs seront abordés à l'occasion de l'étude des divers constituants (Luquet, 1986).

I.2.1. Eau

La teneur en humidité des fromages peut être un moyen de classer les fromages ; une pâte molle peut contenir plus de 50% d'eau, une pâte semi-ferme entre 45 et 50%, tandis qu'une pâte ferme en aura entre 35 et 45% cette eau est essentielle aux micro-organismes et influence leur croissance, et par le fait même, la vitesse de fermentation et d'affinage. Il est un facteur déterminant de la durée de la conservation d'un fromage (Vignola, 2002).

I.2.2. Matière grasse

La matière grasse qui contribue au développement de l'arôme et de la saveur est constituée de triglycérides et d'acides gras et a une forme globulaire dont le diamètre peut varier de 1 à 10 μm . Dans le fromage, les enzymes lipolytiques peuvent hydrolyser les triglycérides et libérer des acides gras en nombre plus ou moins grand selon les variétés de fromage et ainsi contribuer au développement de l'arôme et saveur en cours d'affinage. Elle joue un rôle important dans la formation de la structure d'un fromage (Vignola, 2002).

I.2.3. Protéines

Les caséines sont la pièce maîtresse de la fabrication fromagère, ces sont des protéines qui représentent près de 80% de taux d'azote du lait. Elles sont au nombre de quatre (caséine- s_1 , s_2 , et k), en présence de phosphate de calcium, elles forment des micelles de caséine stable qui sont en équilibre avec la phase soluble du lait. Ils participent

également au développement de la saveur du fromage. Pendant la fabrication et surtout pendant l'affinage. Les caséines sont hydrolysées en des constituants plus (polypeptides, peptides et acides aminés) par des enzymes protéolytiques comme la chymosine (enzyme ajouté au moment de la fabrication), les enzymes bactériens et les enzymes naturellement présents dans le lait.

Les protéines sériques contribuent peu au développement de la structure et de la saveur des fromages. Comme elles sont solubles, elles sont en bonne partie éliminées dans le lactosérum lors de l'égouttage (Vignola, 2002).

I.2.4. Lactose

Le lactose est un sucre constitué d'un galactose et d'un glucose. En présence de la β -galactosidase présent dans les bactéries lactiques, la molécule de lactose se divise en deux pour libérer le galactose et le glucose. Ces éléments servent de source de carbone pour les bactéries lactiques. Pendant les fabrications fromagères, la transformation graduelle du lactose en acide lactique fait abaisser le pH du lait, favorise sa coagulation, force la déminéralisation des micelles de caséine, favorise la synérèse du caillé et inhibe en même temps la croissance de certains microorganismes indésirables (Vignola, 2002).

I.2.5. Minéraux

Les fromages constituent certainement les meilleures sources alimentaires de calcium et de phosphore. Les teneurs des fromages en ces deux éléments peuvent cependant varier considérablement selon le pH du lait et les procédés technologiques (Luquet, 1986).

I.2.6. Vitamines

La teneur en vitamines liposolubles, essentiellement vitamines A et D, accessoirement vitamine E, est directement fonction de la richesse du produit en lipides, laquelle peut varier de 0% dans certains fromages frais à 70% dans les produits enrichis en crème. Quand à la teneur en vitamines hydrosolubles, celle-ci varie considérablement selon les fromages (Eck et Gillis., 1997).

I.3. Les différents types de fromages

On distingue plusieurs types de fromages :

I.3.1. Fromages frais ou à pâte fraîche

Ces sont des fromages à égouttage obtenus par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique (cependant il y a souvent une légère action de la présure) et ne sont pas affinés. Leur humidité est élevée (70 à 75). Ils sont

obtenus avec des laits pasteurisés et sont conservés au froid (Exemples : petit-suisse, fromage Demi-sel...) (Guiraud, 2003).

I.3.2. Fromages à pâte molle

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactiques, mais dont la pâte n'est ni cuite ni pressée : l'égouttage est lent et réalisé par un simple découpage et éventuellement un brassage. Leur humidité est moyenne (50 à 55). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue :

- a- les fromages à pâte molle « moussée », généralement à croûte moisie (Camembert, Brie, Carré de l'Est).
- b- les fromages à pâte molle et à croûte lavée (Munster, Livarot, Pont-l'Evêque).
- c- les fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes) (Roquefort et autres « bleus ») (Guiraud, 2003).

I.3.3. Fromages à pâte pressée

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

- a- les fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) (Cantal).
- b- les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (St Paulin, Reblochon).
- c- les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie (St Nectaire, Tomme de Savoie).
- d- les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (Edam).
- e- les fromages à pâte pressée cuite avec ouverture (Emmenthal, Comté).
- f- les fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort).
- g- les fromages à pâte pressée très dure (très brassés) (Cheddar) (Guiraud, 2003).

I.3.4. Fromages fondus

Il s'agit de préparation issues de la fonte de fromage généralement à pâte pressée (Guiraud., 2003).ou d'un mélange de fromages, avec addition éventuelle d'autres produits laitiers avec ou sans addition des sels minéraux ou organiques autorisés, épices ou aromates, jambon maigre (Beerens et Luquet ., 1987).

II. Fromage frais

II.1 .Définition

Selon la réglementation française : le décret du 26 octobre 1953 modifié par les décrets du 19 février 1960 et du 17 février 1976. l'appellation « fromages frais » évoque chez le consommateur une notion de produit non affiné, d'assez courte durée de vie et conservé à basse température, ils sont des fromages à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique obtenus avec des laits ou des crèmes propres à la consommation humaine (Luquet, 1990). Les fromages frais présentent une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en oeuvre. Les différents fromages à pâte fraîche sont caractérisés par :

- une durée de conservation courte.
- un caillé non pressé et une teneur élevée en eau (Mahaut et al ., 2000, Luquet et al., 2005).

II.2. Différents types

Selon la classification de la technologie française, on trouvera deux types des fromages frais :

✓ **les fromages blanc moulés**, ou le caillé garde son individualité à l'état de bloc ou de grains (type faisselle ou campagne) (Luquet, 1990), se caractérisent par une texture hétérogène en morceaux (Gret, 2002).

✓ **les fromages frais à structure homogène :**

- à extrait sec faible et texture onctueuse, comme les fromages blancs battus ou lissés.
- à extrait sec plus élevé et texture tartinable comme les petits suisses (Luquet, 1990). Ils peuvent être additionnés de sucre, de sel, de fruits, d'épices ou herbes. On peut varier le taux de matière grasse de moins de 3,5% à plus de 10% (Gret., 2002).

Tableau 5 : Classification des principaux fromages (Veisseyree, 1979)

	Non salé	Salé	
		En surface	Dans la masse
A Coagulation lente	Fontainebleu Neufchâtel frais suisse	/	Demi-sel Gournay frais
A Coagulation rapide	Fromage à la pie	Fromage de régime	/

II.2.1. Petit suisse

II.2.1.1. Définition

Le Petit-suisse est un fromage blanc frais obtenu exclusivement avec du lait de vache enrichi en crème. Il doit être de forme cylindrique avec un poids de 30 g ou de 60 g. Sa teneur en matière grasse exprimée par rapport à l'extrait sec ainsi que l'extrait sec minimum sont réglementés. Ainsi, le petit-suisse doit contenir 40 % ou 60 % de matières grasses sur extrait sec. Lorsque le fromage ne contient que 20 % de matières grasses sur extrait sec, il ne peut pas être commercialisé sous la dénomination petit-suisse (Cerbron et al., 2016).

Tableau 6 : Composition moyenne de « petit suisse » pour 100g de produit frais (Eck et Gillis., 1997)

Constituants		Fromage frais, petit suisse
EAU	(g)	79
Energie	(kcal)	118
Glucides	(g)	4
Lipides	(g)	7,5
Protéines	(g)	8,5
Calcium	(Mg)	100
Phosphore	(Mg)	140
Magnésium	(Mg)	10
Potassium	(Mg)	130
Sodium	(Mg)	40
Zinc	(Mg)	0,5
Vitamine A	(U.I)	170

II.3. Matières utilisées au cours de la fabrication du fromage frais type « petit-suisse »

II.3.1. Lait cru

En général le lait matière première récolté chez le producteur y reste seulement quelques heures (de 12 à 48 heures, voire 72 Heures selon les régions et les périodes de l'année) avant d'être collecté et ensuite traité dans un établissement de transformation (lait, fromage ...) Lorsque le lait est transformé directement par le producteur fermier lui-même, cette durée est nettement courte (Debry, 2001).

II.3.2. Lait en poudre

Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait, du lait entièrement ou partiellement écrémé, de la crème ou d'un mélange de ces produits, et dont la teneur en eau n'excède pas 5 % en poids du produit fini .On distingue les laits en poudre suivants:

)] Le lait en poudre riche en matières grasses ou poudre de lait riche en matières grasses : lait Déshydraté contenant, en poids, au moins 42 % de matières grasses.

)] Le lait en poudre entier ou poudre de lait entier : lait déshydraté contenant, en poids, au moins 26% et moins de 42 % de matières grasses.

)] Le lait en poudre partiellement écrémé ou poudre de lait partiellement écrémé : lait déshydraté dont la teneur en matières grasses est, en poids, supérieure à 1,5 % et inférieure à 26 %.

)] Le lait en poudre écrémé ou poudre de lait écrémé : lait déshydraté contenant, en poids, au maximum1, 5 % de matières grasses (Groupe d'étude des marches de restauration collective et de nutrition., 2009).

II.3.3 .La crème fraîche

La dénomination « crème » est réservée au lait contenant au moins 30 grammes de matière grasse provenant exclusivement du lait pour 100 grammes de poids total. La crème est obtenue à partir de l'écémage du lait. Le lait, d'abord thermiquement traité, alimente en continu l'écémeuse (Groupe d'étude des marches de restauration collective et de nutrition., 2009).

La crème fraîche fluide, en revanche, ne subit aucune fermentation donc pas de maturation (Lamy, 2000).

II.3.4. Les ferments lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes hétérogènes sur les plans morphologies et physiologies, qui se caractérisent par une production de quantités importantes d'acide lactique de leur métabolisme des hydrates de carbone (ECK, 1987).

Ce sont des bactéries Gram+, immobiles, ne formant pas de spores, catalase et nitrates négatives, elles sont anaérobies facultatives ou microaérophiles, elles sont tolèrent de ce fait que de très faibles concentration d'oxygène (ECK et Gillis ., 1997).

Selon Ait Abdelouahab,(2008) on distingue deux espèces de bactéries lactiques :

Les espèces homofermentaires transforment le lactose en acide lactique principalement et en de petites quantités d'acide acétique.

Les espèces hétérofermentaires transforment le lactose en acide acétique, acide butyrique, éthanol et CO₂

Ces ferments se présentent sous forme liquide, congelée ou lyophilisée (Eck et Gillis, 1997)

Il existe, en principe, deux méthodes d'ensemencement possibles qui sont très largement employées dans l'industrie fromagère (Hermier et al ., 1992)

) L'ensemencement semi-direct : on utilise des levains congelés ou lyophilisésensemencés dans une cuve pour obtenir une culture régulière avec un nombre de cellules sensiblement plus grand que l'inoculum initial. Le pH doit être surveillé pour éviter un excès d'acide lactique qui va inhiber la croissance de levain, ce qui nécessiterait une neutralisation de l'acidité.

) L'ensemencement direct : on procède, dans ce cas, à un ensemencement direct du lait de fabrication par des ferments lyophilisés.

Tableau 7 : Rôles des ferments lactiques en fromagères (Alian et al ., 2007)

Propriété des ferments lactiques	Effets sur les produits
Transformer les sucres en acide lactique	<p>Abaissement du pH :</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ Conservation des produits. ↳ Limitation du développement des bactéries nuisibles. ↳ Modification de la micelle de caséine : Modification de la structure du caillé. <p>Classification des fromages suivant le niveau de déminéralisation (caillé présure, mixte, lactique), solubilisation des minéraux liés à la caséine.</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ Action sur l'égouttage du caillé (teneur en eau). ↳ Action sur texture des fromages : <ul style="list-style-type: none"> -Si la pâte minérale : texture souple homogène. -Si la pâte déminéralisée : texture friable, cassante, diminution de la concentration en lactose.
Transformer les sucres en CO ₂ .	Libération du CO ₂ .
Transformer les citrates.	<p>Formation de diacétyl (arome) :</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ Recherche en produit frais (yaourt, beurre, pâtes fraîches et pâte molle).
Transformer la caséine.	<p>Protéolyse pendant la maturation :</p> <ul style="list-style-type: none"> ↳ Activation de la croissance (peptides, acides aminés). ↳ Modification de la texture, couleur, flaveur.
Produire des polysaccharides	<ul style="list-style-type: none"> -Épaississement du milieu : yaourt, pâte fraîches. -Augmentation de la viscosité par libération de polysaccharides pendant la fermentation lactique.

II.3.5. Présure

La dénomination « présure » est donné à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants abattus avant servage. Elle contient en réalité deux fraction actives. L'une, majeure, constituée par la chymosine, l'autre, mineure, par la pepsine (Eck, 1987).

La présure est une enzyme protéolytique catalysant l'hydrolyse de caséine K en deux fragments : un fragment hydrophile qui passe dans lactosérum et un fragment hydrophobe qui s'unissent pour former un gel (Leyral et veirling ., 2007) .

Selon Vignola, (2002), Le mécanisme d'action de la présure est assez bien établi et comporte deux phases :

- La phase primaire : ou enzymatique, correspond à une attaque de l'enzyme sur la composante qui stabilise la micelle, c'est-à-dire que l'enzyme hydrolyse la caséine-K au niveau de la liaison PHE₁₀₅-MET₁₀₆. La chaîne peptidique se trouve ainsi coupée en deux segments inégaux : le segment 1-105 est la paracaséine-K et le segment 106-169, le caséinomacropéptide (CMP). La paracaséine-K liée aux caséines et reste intégrée à la micelle hydrophobe et le CMP contenant tous les glucides est libéré et passe dans lactosérum. Lors de la libération du CMP, il se produit une diminution importante de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation : deux facteurs de stabilité se trouvent ainsi atteints.
- Commence alors la phase secondaire, dit d'agglomération : dont le mécanisme est encore calcium s'uniraient à la partie chargée négativement des micelles, diminuant ainsi les répulsions électrostatiques auxquelles elles sont soumises et favoriseraient ainsi leur agrégation. Cette phase est facilement observable par la formation du gel. Cependant, pour que cette phase d'agglomération débute, il faudrait qu'au moins 85 à 90% de la caséine-K soit hydrolysée.

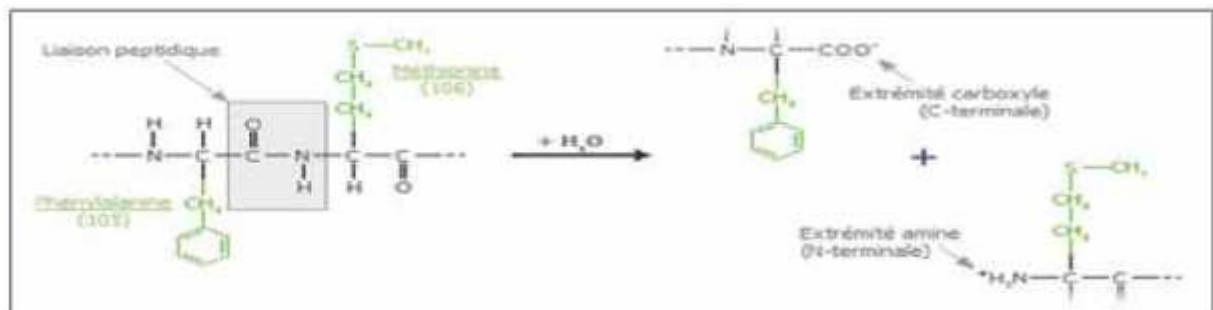


Figure 1 : mécanisme d'action de la présure (Vignola, 2002).

II.4. Processus de fabrication du fromage frais type petit suisse

La technologie des fromages à pâte fraîche est définie par son caractère acide dominant. les modalités de la fabrication sont orientées pour obtenir une pâte de fromage fortement humide, acide, peu minéralisée et à faible cohésion. les principales actions effectuées dans ce but consistent à réaliser (ECK et Gillis ., 1997) .

II.4.1. Préparation de la crème fraîche**II.4.1.1. La réfrigération du lait cru**

Le refroidissement du lait cru et son maintien à basse température 2 à 4°C pendant 2 à 3 jours. Il en résulte une meilleure maîtrise de la qualité de la matière première (ECK et Gillis., 1997), dans le but ralentir la prolifération des bactériennes présentes, essentiellement la flore mésophile lactique, responsable de l'acidification du lait, et la flore pathogène ou nuisible .le non respect de cette température entrainera la production des enzymes lipolytiques. Les dégradations provoquées par ces enzymes induisent généralement des défauts de goût dans le fromage ainsi que des pertes de rendement (Goudérdranche el al ., 2001) .

II.4.1.2. Ecrémage de lait

L'écémage vise la séparation du lait en lait écrémé et crème (vignola et al ., 2002), à pour but de récupérer dans la crème le maximum de matière grasse pour en laisser un minimum dans le lait écrémé (Deroissart et Luquet., 1994).

La crème est séparée par centrifugation en continu dans des écrameuses (une vitesse de rotation de 40000 à 5000 tours pars minute) dans un bol constitué d'un empilement d'assiettes à température supérieure à 30°C (engénérale 50 à 65°C). La matière grasse est ainsi séparée du lait sous forme d'un crème appelée la crème fraîche (Goudérdranche el al., 2001).

II.4.1.3. Pasteurisation de la crème

Elle consiste à éliminer les germes pathogènes éventuellement présents par chauffage contrôlé à une température de 80°C à 100°C pendant 10 à 30 secondes. On est ainsi assuré de la destruction des germes pathogènes et l'inactivation des lipases microbiennes, tout en préservant les qualités organoleptiques et nutritionnelles de la crème (Vignola., 2002).

II.4.1.4. Refroidissement

A près pasteurisation, la crème subit un refroidissement rapide à une température de 6 à 7°C pour garder les caractéristiques organoleptiques (Deroissart et Luquet., 1994), puis

stockée dans des tanks isothermiques. La crème ainsi obtenu doit contenir entre 30 à 40% de MG. L'acidité doit être de 10 à 30°D selon les normes établies par l'unité ARIB.

II.4.2. Préparation de la pâte écrémée

II.4.2.1. Standardisation du lait maigre

La standardisation d'un lait de fromagerie consiste donc à ajuster au moins la teneur en matière grasse en fonction du taux protéique (vignola, 2002), qui standardise les taux de matières sèches (protéines et grasse). Il s'agit alors d'ajuster des paramètres comme le pourcentage en protéines dans le lait écrème, en ajoutant de la poudre de lait (Infoconsult, 2009).

II.4.2.2. Pasteurisation

La pasteurisation du lait de la fromagerie répond à plusieurs objectifs d'ordre hygiénique et d'ordre technique (Meyer et al ., 2004) :

-) Assurer la qualité sanitaire du fromage.
-) En stoppant l'acidification par destruction de la flore lactique.

La pasteurisation est un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. La température du traitement de 85 à 90°C pendant 15 à 20 secondes. Ce traitement thermique doit être suivi d'un brusque refroidissement afin de ralentir le développement des germes encore présents (Farkas, 2007, Leyral et Vierling, 2007).Lors du transfert du lait vers les tanks, la température est baissée jusqu'à 30°C.

II.4.2.3. L'ensemencement

La production du caillé à partir du lait 0% MG est assurée par l'action conjuguée des ferments lactiques et de la présure. Les ferments utilisés sont mésophiles pour déterminé les caractéristiques organoleptique ainsi que la texture du produit (Cerbrone, 2016).

La maturation froide consiste à ensemercer le lait dès sa réception avec un ferment lactique mésophile à des doses très faible (10^5 UFC/ml à 10^6 UFC/ml) (vignola, 2002).

L'ensemencement des ferments lactiques est pratiqué sous une forme directe, on utilise dans ce cas une biomasse très concentrée de ferments congelés ou lyophilisés.

L'ensemencement s'accompagne d'un emprésurage : après l'addition des ferments (une heure et demi environ) l'acidité du lait commence à se développer, le PH est d'environ 6,3, a ce stade il faut ajouter la présure pour obtenir une stabilisation plus rapide des protéines.

On laisse reposer le laitensemencé de 12 à 18 heures à une température de 30°C (vignola, 2002)

II.4.2.4. Décaillage

Lorsque le caillé est devenu suffisamment ferme, on le découpe rapidement en petits cubes de manière à faciliter l'égouttage du sérum. (Abdussalam et al., 1966)

II.4.2.5. La thermisation

Les traitements thermiques du lait de fromagerie doivent être une simple thermisation, 63°C/15-20s (Mahaut et al., 2000), s'impose pour des raisons hygiéniques et technologiques, qui détruire la flore pathogène ainsi que les bactéries pouvant perturber le déroulement de la fabrication et la conservation du fromage, tout en respectant les composant du lait et sans altérer profondément les aptitudes technologiques exigées pour la fabrication de fromages (Luquet, 1990).

II.4.2.6. La séparation ou égouttage

L'égouttage est la séparation du caillé et du lactosérum. Le principe de l'égouttage centrifuge repose sur la différence de densité entre le lactosérum et le caillé maigre (Goudédranche et al., 2001).

II.4.2.7. Refroidissement

Le refroidissement se fait dans un refroidisseur tubulaire à une température de 6°C.

II.4.3. Traitement du produit fini

II.4.3.1. Incorporation de la crème

Dans un mélangeur, la crème fraîche est incorporée dans la pâte maigre. Lorsque le mélange atteint la proportion en matières grasses voulue, il est recueilli dans des silos. Les deux produits doivent avoir des températures voisines pour assurer une bonne homogénéisation du produit.

II.4.3.2. Conditionnement

Dans le cas des pâtes fraîches, il est nécessaire de disposer d'un emballage assez rigide, résistant à l'humidité et à l'acide lactique, imperméable à la vapeur d'eau et aux gaz (Veisseyre, 1979). Et conserver sous réfrigération (T : 0 à 4°C) pendant 5 à 30 jour (ECK et Gillis., 1997)

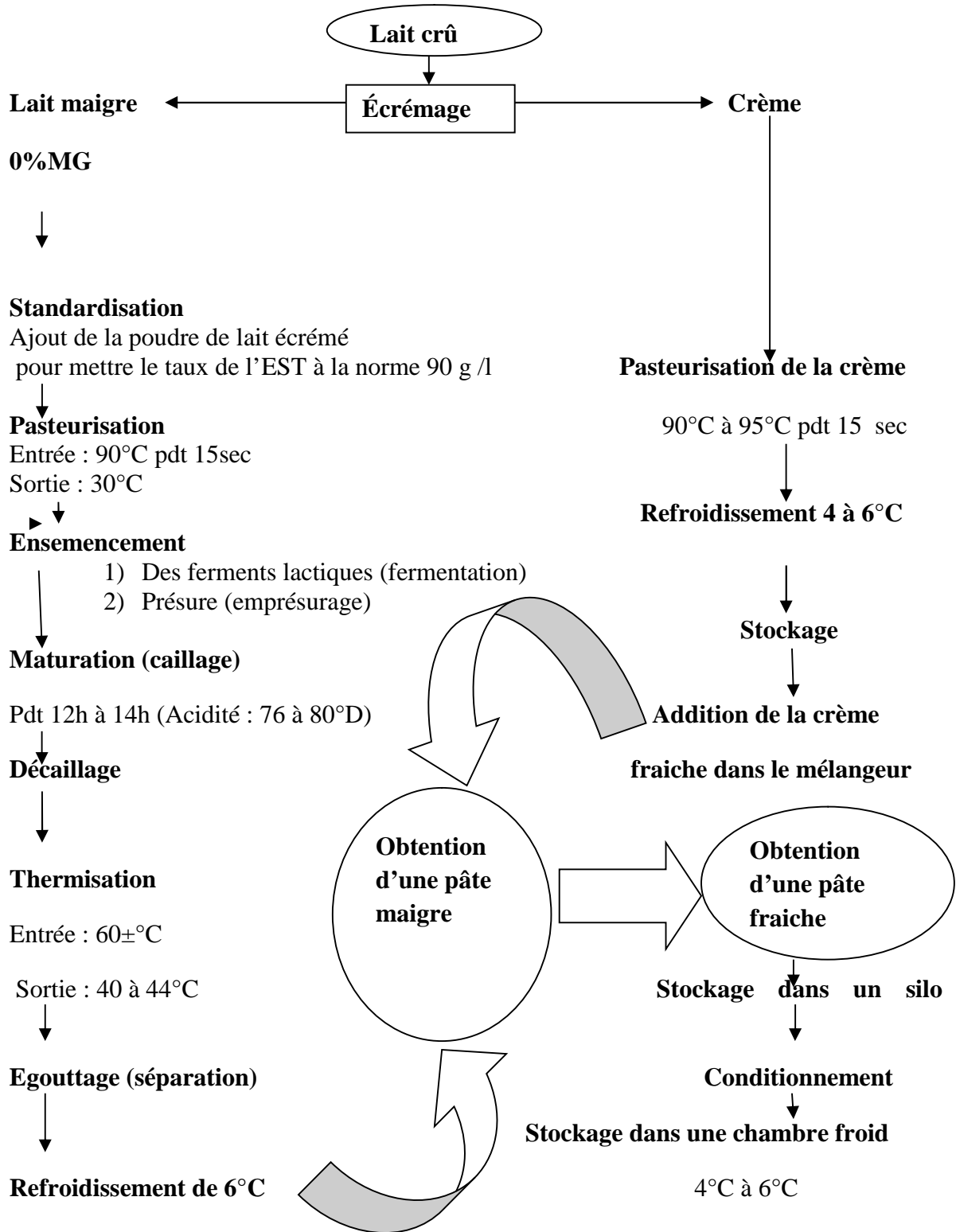


Figure 2 : Etapes de fabrication de petit-suisse dans la laiterie d'ARIB.

II.6. Le flore microbienne du fromage frais

Les fromages, au point de vue microbiologique, doivent être considérés comme des milieux de culture solides, dans lesquels se sont multipliés certains microorganismes : bactéries lactiques, microcoques, levures et moisissures (Luquet et Beerens., 1987).

II.6.1. La flore bénéfique

Dans l'industrie fromagère de multiples microorganismes bénéfiques sont mis en jeu pour valoriser le processus de fabrication, ces derniers possèdent trois origines possibles :

La préexistence dans la matière brute, l'apport accidentel lors de la manipulation, l'ajout volontaire (Ait abdelouahab, 2001).

Parmi ces microorganismes bénéfiques se trouvent les bactéries lactiques qui sont des Gram+ productrices d'acide lactique qui a pour rôle essentiel dans l'acidification du lait et du caillé (Drider et Prevost, 2009).

Ce groupe bactérienne est constitué de : *Lactobacillus*, *Lactocoque*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Aeoroccus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus*, *Weissela*, *tetrageonococcus* et *Oenococcus* (Lahtinen et al ., 2012).

II.6.2. Flore de contamination

Le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement, c'est le caractère physico-chimique et les conditions d'affinage et de stockage qui les définissent, trois critères sont importants:

- L'activité de l'eau (A_w) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95.
- Le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.
- Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes, néanmoins certaines exceptions sont visibles dont les champignons qui croient à un pH inférieur à la limite.
- En absence de traitement thermique pour les fromages au lait cru, les bactéries pathogènes s'accroissent fortement (conditions technologiques favorables) et peuvent être d'origine exogène (environnement) ou endogène (animale malade), la plupart de celles retrouvées dans le fromage sont des ubiquistes : bactéries originaire du lait cru (agents de mammites), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*. (Eck et Gillis ., 2006).

Chapitre III

Matériels et Méthodes

L'étude a été menée durant la période s'étalant de mars à mai 2018, au niveau de la laiterie « ARIB » située dans wilaya Ain defla.

I. Présentation de lieu de stage (L'ORLAC)

La laiterie ARIB est une filiale du groupe Giplait Spa. Réalisée en 1989, en même temps que la laiterie de Beni tamou (Blida), elle a pour mission première d'approvisionner le marché local en lait entier ou partiellement écrémé conditionné dans des sachets d'un litre, outre des produits dérivés tels que les yaourts, le lait fermenté, le lait caillé et les fromages frais. La capacité installée de production de lait pasteurisé conditionné est de 200000 litres par jour, l'usine produit également l'équivalent de 100000 litres par jour de produits laitiers dérivés (leben, Raib, crème dessert, yaourts et pâtes fraiches, essentiellement du fromage type Petit suisse). En tout, ce sont 300000 litres de produits laitiers qui sortent quotidiennement de l'usine ; une quantité qui est commercialisée à 80% par les moyens propres de la laiterie.

II. Prélèvement

Les analyses microbiologiques et physico-chimiques portent sur le même produit fini petit-suisse durant 63 jours de conservation à 6°C.

III. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont pour but une appertisation quantitative ou qualitative de la flore de contamination d'un produit à un moment donné. De façon générale, l'objectif de contrôle microbiologique est de garantir une sécurité hygiénique et un niveau organoleptique bien déterminé (Bourgeois et Leveau., 1980). Les conditions d'analyses sont présentées dans le tableau ci-dessus.

Tableau 8: milieux de cultures, température et temps d'incubation des germes recherchés au niveau des pots de conditionnement (J.O.R.A.n°35 Mai 1998).

Echantillons	Germes recherchés	Milieux de cultures	Incubation
Fromage frais « petit-suisse »	- Germe aérobies	PCA	30°C/72h
	-coliformes totaux	VRBL	37°C/24-48h
	-coliformes fécaux	VRBL	44°C/24-48h
	-Staphylococcus aureus	GC, Chapman	37°C/24-48h
	-Salmonelles	TSE, SFB, Hektoen	37°C/18-24h ,24h
	-levures et moisissures	Sabouraud	22°C/5 jours

III.1. Préparation des échantillons

III.1.1. Prise d'essai : les prises d'essai sont effectuées sur l'échantillon homogénéisé en tenant compte de plusieurs facteurs à savoir :

-) La nature du produit
-) Le nombre d'échantillons
-) Les opérations analytiques à conduire

III.1.2. Préparation des dilutions décimales (Joffin et Joffin ., 1999)

) la solution mère « SM » égal à 10^{-1} dont, nous introduisons aseptiquement 1g de produit à l'aide d'une spatule dans un tube stérile contenant 9 ml de TSE, homogénéisé pendant 6 à 8 min.

) Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1ml de la SM dans un tube à vis contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est 10^{-2} ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-3} .

III.1.3. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux à 30°C (NF V 08-051)

Elle renferme les microorganismes pathogènes et les microorganismes saprophytes (Guiraud, 2003). La flore totale mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes de contamination, le nombre des germes totaux peut donner une indication de l'état de la fraîcheur ou de décomposition du lait (Guiraud et Rosec., 2004). Ces bactéries sont des indicateurs sanitaires qui permettent d'évaluer le nombre d'UFC présent dans un produit ou sur une surface. Ce dénombrement se fait à 30°C.

➤ **But :**

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 (Bonnyfoy et al ., 2002)

➤ **Mode opératoire :**

) A partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage numérotée.

) Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose PCA.

) Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

) Laisser solidifier sur la paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 4 ml de la même gélose. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

❖ **Incubation**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72 heures.

❖ **Lecture :**

) Première lecture à 24 heures.

) Deuxième lecture à 48 heures.

) Troisième lecture à 72 heures.

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

➤ **Dénombrement :** Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivant ;

) Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies.

) Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

Comme suivant :

$$N = \frac{\sum c_i}{V_m \times (n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial

Colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables.

V_{ml} : Volume de solution déposé.

n₁ : Nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.

n₂ : Nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue.

d₁ : Facteur de la première dilution retenue.

III.1.4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (NF V 08-050, NF V 08-017)

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz (Cuq, 2007). Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (Le Minor et Richard., 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.
- les fécaux dont l'origine essentielle le tube digestif, qui sont plus thermotolérants détectés à 44°C. *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe (Jakob et Winkler., 2009).

➤ **But :** L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux (E,coli), est de déterminer pour définir les microorganismes servant d'indicateurs à la présence possible de contamination fécale (Vignola,2002).

➤ **Mode opératoire :** Les coliformes sont dénombrés :

) En milieu solide par la technique en boites sur gélose VRBL

A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1ml de chaque dilution dans une boite de pétri vide.

Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car :

- la première série des boites sera incubée à 37°C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.

- la deuxième série des boites sera incubée à 44°C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

Compléter ensuite avec environ 15 ml de la gélose VRBL fondue.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour bien mélanger la gélose à l'inoculum.

Laisser solidifier les boites sur la pailleuse puis couler à nouveau environ 5 ml de la même gélose ; cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contamination.

❖ **Incubation**

Les boites seront donc incubées couvercle en bas pendant 24 à 48 heures à :

) 37°C pour la première série dent la recherche des coliformes totaux.

) 44°C pour la deuxième série dent la recherche des coliformes fécaux.

❖ **Lecture**

Les coliformes totaux et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

➤ **Remarque**

Etant donné que les coliformes fécaux font partie des coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de coliformes fécaux que de coliformes totaux.

III.1.5 Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (NF V 08-052)

Staphylococcus appartient à la famille *micrococcaceae*, ces sont des cocci à Gram positif, non sporulés, regroupés en amas, immobiles, anaérobies facultatifs et possèdent une catalase. La présence des *staphylocoques* dans les aliments représente un risque pour la santé humaine, par ce que certaines souches appartenant principalement à l'espèce

staphylococcus aureus produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une toxoinfection alimentaire (Brisabois et al., 2000) *S.aureus* est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C, il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5. Comme beaucoup d'espèces de staphylocoques, *S.aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium en général jusqu'à 10% (Cuq, 2007).

➤ **But :** L'étude des *staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur car ils sont les seuls à produire éventuellement une entérototoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Gruiraud, 1998).

➤ **Principe :**

- Le dénombrement des *staphylocoques* peut se faire sur milieu Giolitti Contonii.
- 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.

➤ **Mode opératoire**

) **Préparation de milieu d'enrichissement**

- Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu Giolitti Cantonii pour y ajouter 15 ml d'une solution de Télurite de potassium.
- Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

) **Ensemencement**

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

❖ **Incubation**

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ **Lecture**

- Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir.

- Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchées.
- Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne à diamètre 0,5 à 2 µm, lisses, brillantes, pigment en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.

➤ **Expression des résultats**

- Si à la dilution 10^{-3} , le tube à noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman, il n'y a pas de colonies caractéristiques, ce tube est considéré comme négatif.
- Si par contre à la dilution 10^{-1} , le tube à noirci au bout de 24 heures d'incubation, et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution. Dans ce cas, il y a donc 10 *Staphylococcus aureus* par gramme ou millilitre de produit à analyser.

III.1.6. Recherche et dénombrement des *Salmonelles* (NF V 08-013)

Les *Salmonelles* sont des Entérobactéries lactose⁻ (Guiraud, 2003), elles sont des bacilles à Gram-négative, aéro-anaérobies facultatif, qui ne forment pas d'endospore. Elles résident généralement dans les intestins de l'humain et des nombreux animaux (Tortora, 2012). Elles sont en commune de fermenter le glucose, de réduire les nitrates en nitrites et d'être dépourvues d'oxydase, leur identification différentielle repose essentiellement sur leur capacité à produire du sulfure d'hydrogène H₂S, la possession d'une lysine – décarboxylase, l'absence d'uréase et de Tryptophane-désaminase. Dans le genre *Salmonella* comprend une seule espèce « *Salmonella Enterica* », plus de 2200 sérovars ont été à ce jour, isolés, ils se différencient par leurs antigènes de paroi (antigène O) et leur antigène flagellaires (antigène H) (Leyral et vierling., 2001). Elle pourvues de flagelles péritriches, sont généralement mobiles mais certains sérovars sont immobiles, se multiplie à des températures comprises entre 5°C et 45°C avec un optimum à 35°C à 37°C et à des pH des 4,5 à 9 avec un optimum compris entre 6,4 et 7,5 la plupart de *Salmonelles* peuvent se développer dans les aliments présentant une activité de l'eau comprise entre 0,945 et 0,999 (Bourgeois et al.,1988).

➤ **But :** La recherche de *Salmonella* et leur identification permet de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non (Leveau et Bouix., 1993), car les *Salmonelles* sont agents des toxi-infections alimentaires en raison de leur fréquence et de la gravité des symptômes et l'origine des typhoïdes et des paratyphoïdes (Ait Abdelouahab, 2008)

➤ **Mode opératoire**

La recherche des *Salmonelles* comporte les étapes suivantes :

- Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide
- Enrichissement en milieu sélectif liquide
- Isolement
- confirmation

) **Jour 1 : Pré-enrichissement**

- Prélever 25g de petit suisse dans un flacon stérile contenant 225 ml de TSE et bien homogénéiser, puis l'incuber à 37°C pendant 18 heures.

) **Jour 2 : Enrichissement**

L'enrichissement doit s'effectuer sur le milieu sélectif à savoir :

- Le milieu de Sélénite - Cystéine (SFB) réparti à raison de 100 ml par flacon.

L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir de milieu de pré-enrichissement de la façon suivante :

- Métré 10 ml de milieu Sélénite cystéiné dans un tube stérile.
- Ajouter 1ml de milieu de pré-enrichissement.

❖ **Incubation**

Le tube de Sélénite-cystéiné (SFB) sera incubé à 37°C pendant 24h

) **Jour 3 : Isolement**

Ce tube est pour l'objet d'un isolement sur le milieu gélosé sélectif « Hektoen » :

- Prélever une petite goutte à la surface du milieu d'enrichissement sélectif (SFB).
- Déposer au bord de la boîte, pratiquer une strie de quelques centimètres puis des stries perpendiculaires jusqu'au bout de la boîte.

Les biotesensemencés seront incubés à 37°C pendant 24h.

) **Jour 4 : Lecture des boîtes et identification**

Les *Salmonelles* se présentent sous forme des colonies bleue verdâtres à centre noir sur gélose Hektoen. De diamètre environ 0,3 à 1,0µm sur 1,0 à 6,0 µm.

III.1.7. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures (NF V 08-059)

Les levures et moisissures sont des champignons, organisme Eucaryote uni ou multicellulaire (Jeant et al., 2006). Les levures sont des champignons unicellulaires de forme est généralement sphérique ou ovoïde, mais il existe des aspects plus exceptionnels Triangulaire (Trigonopsis), en citron (Hansenaispora). La cellule se reproduit classiquement par bourgeonnement elle peuvent alors se séparer ou rester accolées pour donner des filaments appelés pseudomycéliums (Condida), d'autres levures (Trichophyton) se divisent par scission avec production d'arthrospores, certain capsulées (Cryptococcus, torulo psis), La température optimale de croissance se situe entre 25°C et 30°C (Leyral et vierling ., 2001).

Les moisissures sont des Eucaryotes, non photosynthétique, hétérotrophes et immobiles. Elles sont mésophiles (température optimum 20°C à 30°C), d'autres sont psychrotrophes (température <15) (Ait Abdelouahab, 2008). Elles sont l'ensemble des champignons microscopiques saprophytes présentant une végétation notable et qui ont de l'importance dans l'industrie humaine. Elles peuvent être :

- nuisible, car agent d'altération d'aliments.
- utiles, car intervenant dans la production d'aliment, d'antibiotique, d'enzyme et dans divers fermentation (Leyral et vierling., 2001).

➤ **But :** L'intérêt de la recherche et dénombrement des levure et moisissures dans les aliment ,car le levure peuvent produire par leur développement dans les produit alimentaire des altérations de qualités marchande par formation de troubles d'odeurs ou de goûts annexes anormaux ou par gonflement des produit ou de leur emballage (CO₂) , et pour le moisissures sont à l'origine d'altération superficielles , certaines souche produit des toxines (Ait Abdelouahab, 2008) .

➤ **Mode opératoire**

- A partir des dilutions décimales 10⁻¹ à 10⁻³, porter aseptiquement 4 gouttes de chaque dilution et poser dans une boîte de pétri contenant la gélose Sabouraud solidifier.
- Puis faire un étalement à la surface du milieu à l'aide d'une pipette pasteur sous forme râteau.

❖ **Incubation**

Les boites seront incubées à 20°C pendant 24 heures allant jusqu'à 5 jours.

❖ Lecture

- Les levures et moisissures se multiplient en surface de milieu.
- Les levures se présentent sous forme de colonie sphérique lisse généralement de couleur blanchâtre.
- Leur taille va de 2 à 3 microns jusqu'à 20 à 50 microns.
- les moisissures se présentent par colonie filamenteuse de couleur et volume et différents.

IV. Analyses physico-chimiques

L'analyse physico-chimique du petit suisse consiste en une mesure l'acidité Titrable, pH, l'extrait sec total (EST), teneur en matière grasse.

Les méthodes adoptées pour la détermination de ces paramètres sont celles appliquées selon le Laboratoire d'analyse physico-chimique de l'unité ARIB.

IV.1. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable mesure la quantité d'acide présente dans un échantillon de lait. On l'exprime en pourcentage d'acide lactique. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés (Vignola , 2002)

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 moles/l.

La présence de phénolphtaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur rose pale. Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) (Mathieu, 1998).

➤ Principe

La méthode de dosage de l'acidité par titrage permet de quantifier la teneur totale d'acide lactique présent dans le lait et le produit lactière (Vignola, 2002).

➤ Mode opération

- Introduire 10ml du petit suisse dans un bécher propre à l'aide d'une pipette gradué ou seringue.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine.
- Titrer avec la solution de NaOH à N/9 jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante.

➤ Expressions des résultats

Les résultats sont exprimés en degré Doronic (°D). Il correspond à la valeur lue sur la burette après le titrage en appliquant la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = V \times 10$$

V (ml) : Volume de la chute de la burette

IV.2. Détermination du pH

Le pH est le logarithme de l'inverse de la concentration en ion d'hydrogène d'une solution, il indique l'activité de ces ions dans le milieu d'intérêt, le pH exerce une influence sur les réactions chimiques et biochimiques de ce fait, il présente un effet sur la flore microbienne du milieu (Mescle et Zucca., 1988).

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

- Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Avant chaque mesure l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet, puis rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier. Un contrôle sur la fiabilité du pH-mètre est effectué avant chaque mesure, par étalonnage de l'appareil à l'aide de solution tampon de pH connus 4,00.
- Ensuite la mesure est faite par immersion du bout de l'électrode dans les pots de petit suisse.
- Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode est à nouveau nettoyée, puis rincée comme précédemment.

❖ Lecture

La lecture des valeurs du pH se fait directement à partir de l'affichage immédiatement sur l'écran du pH mètre.

IV.3. Détermination de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique**➤ Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique (H_2SO_4) qui digère les protéines et le lactose de l'échantillon. Par son action sur protéines, il brise la membrane qui entoure chaque globule de gras, produit de la chaleur et libère la matière grasse. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amyle ($C_5H_{11}OH$), la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux (AFNOR, 1989).

➤ Mode opératoire

Dosage de la matière grasse par la méthode butyrométrique de VAN GULIK.

- Prise d'essai : peser 3g de produit dans le godet taré du butyromètre.
- Fermer le col du butyromètre, ajouter l'acide sulfurique jusqu'à remplissage au 2/3 la chambre du butyromètre,
- La place ensuite après l'avoir fermé de l'autre coté dans le bain marine à 65°C pendant 5 mn.
- Le retirer du bain marine et l'agiter 10 secondes.
- ||Répéter l'opération de chauffage et d'agitation jusqu'à dissolution totale des protéines.
- ||Ajouter ensuite 1ml d'alcool, agiter puis ajouter de l'acide sulfurique dilué par l'ouverture étroite jusqu'à ce que le niveau atteigne les 35% de l'échelle, ferme avec un petit bouchon et faire des retournements,
- ||Le placer dans le bain marine à 65°C pendant 5mn, centrifuger pendant 5 mn et procéder la lecture.

➤ Expression de résultats

La matière grasse est bien détecter par sa couleur jaune claire par apport aux autres constituants. La teneur en MG du produit exprimée en pourcentage en masse est déterminée par l'expression suivante :

$$\text{Où : } MG(\%) = N_1 - N_2$$

N_1 : la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne du butyromètre.

N_2 : la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne du butyromètre.

IV.4. Détermination l'extrait sec total

La teneur en matière sèche totale est le résultat obtenu après évaporation de l'eau du lait. Elle est exprimée en gramme par litre ou gramme par Kilogrammes ou en pourcentage (Mathieu, 1998).

➤ Mode opératoire

- Placer la coupelle dans le dessiccateur.
- Poser $1g \pm 0,1$ du petit suisse dans une coupelle jusqu'à l'obtention d'un poids constante pour faire la lecture.

❖ Lecture

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

Expression des résultats

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

Où :

V' : valeur donné par le dessiccateur.

IV.5. Détermination de l'extrait sec dégraissé

➤ **Définition:** La teneur en matière sèche dégraissé est la masse exprimée en pourcentage du résidu après dessiccation et sans la teneur en matière grasse. Le résultat est donné par la Formule suivante :

$$ESD (\%) = EST - MG$$

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

Chapitre IV

Résultat et discussion

I. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques du fromage frais type petit-suisse exprimés en UFC/g sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Résultats des analyses microbiologiques du fromage frais type petit-suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.

	GAMT	C. T	C. F	<i>S. aureus</i>	<i>salmonelle</i>	Levure	Moisissure
J₁	3,4.10 ²	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₅	1,5.10 ³	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₁₂	2,8.10 ³	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₁₉	3,5.10 ³	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₂₆	4,2.10 ³	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₂₈	5,3.10 ³	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
J₃₃	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	4,5.10 ²	Abs
J₃₅	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	1,4.10 ³	Abs
J₄₀	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	1,7.10 ³	Abs
J₄₂	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	3,5.10 ³	Abs
J₄₇	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	5,2.10 ³	Abs
J₄₉	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	IND	Abs
J₅₄	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	IND	Abs
J₅₆	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	IND	Abs
J₆₁	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	IND	Abs
J₆₃	IND	Abs	Abs	Abs	Abs	IND	Abs
Norme	10 ⁶ UFC/g	10UFC /g	1 UFC/g	10 UFC/g	Abs/g	10 ² UFC/g	Abs /g
	Norme*					Norme**	

Norme* : J.O.R.A. n° 35 daté du 27 Mai 1998 ;

Norme** : norme AFNOR 1986

I.1. Les Germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)

Les résultats du dénombrement des germes aérobie mésophiles totaux du 1^{er} jours aux 63^{eme} jours de conservation à 6°C sont présentés dans les figures ci-dessous.

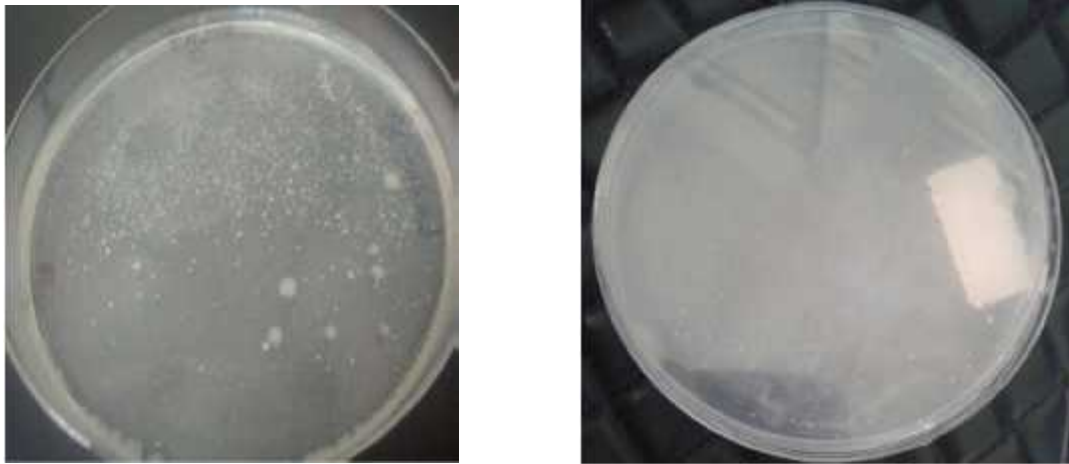


Figure 3 : Résultat des germes aérobies mésophile totaux au 1^{er} jours de conservation.

Les échantillons prélevés du fromage frais type petit suisse présentent une charge microbienne avec une flore totale de $3,40 \cdot 10^2$ UFC/ g dès le 1^{er} jour, sachant que la croissance augmente et atteint un nombre Indénombrable aux 33^{eme} jours jusqu'aux 63^{eme} jours au cours de conservation à 6°C, ces résultat nous confirme la présence des ferments lactiques qui ont été ajouté au cours de la préparation du lait caillé, qu'est une étape essentielle lors de la fabrication du petit suisse.

Ces bactéries se multiplient très rapidement et assurent ainsi une acidification intense, cette acidification rapide empêche le développement des microorganismes indésirables (Zufferey, 2012).

I.2. Coliforme Totaux et Fécaux

La recherche et dénombrement des Coliforme Totaux et Fécaux sont réalisé sur milieu VRBL, les résultats sont mentionnés dans la figure suivante.

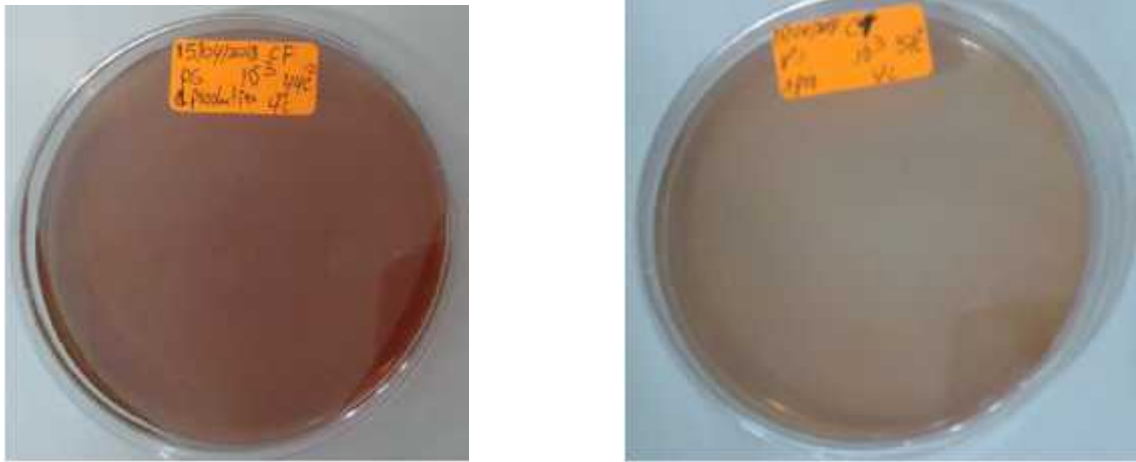


Figure 4 : Résultat d'absence des Coliforme Totaux et Fécaux jusqu'au 40^{ème} jours de conservation.

Les résultats de la recherche des Coliforme Totaux et Fécaux au cours des 63^{ème} jours de conservation à 6°C montrent l'absence totale de ces germes, ce qui répond à la norme fixée par J.O.R.A. 1998.

Selon Guiraud, (2003), ces bactéries sont sensibles à la chaleur ce qui fait qu'elles représentent un bon témoin de l'efficacité du traitement thermique.

La transformation graduelle du lactose en acide lactique fait abaisse le pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5 et aussi augmentation de l'acidité qui influence sur la croissance de ces germes (Vignola, 2002)

I.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus recherchés et dénombrée sur milieu de Giolliti Cantonii sont mentionnée dans la figure suivante.



Figure 5 : Résultat d'absence de *Staphylococcus aureus* jusqu'aux 63^{ème} jours de conservation.

Les résultats de la recherche de *staphylococcus aureus* au cours du 63^{ème} jour de conservation à 6°C montrent l'absence de ce germe pathogène, ce qui est conformément à la norme fixée par J.O.R.A. 1998.

La pasteurisation joue un rôle important dans la diminution du *Staphylococcus aureus*, car elle est faite à 90°C sur le lait cru et maigre, ainsi que sur la crème fraîche, qui est la raison principale de l'absence de ce germe, représenté par un bon indice hygiénique. *S.aureus* est une bactérie thermosensible, son exposition à une température de 60°C pendant 0.43 min à permet de détruire 90% des cellules bactériennes (Afssa, 2003).

Selon l'Agence nationale française de sécurité sanitaire et de l'environnement, une pasteurisation de 0.1 à 1s suffit pour stopper les cellules bactériennes de *S. aureus* (Anses, 2011). Ils sont gênés par l'acidification des fromages (Fatet, 2004).

I.4. *Salmonelles*

Les résultats de la recherche du genre salmonella sont présentés dans la figure ci-dessous.

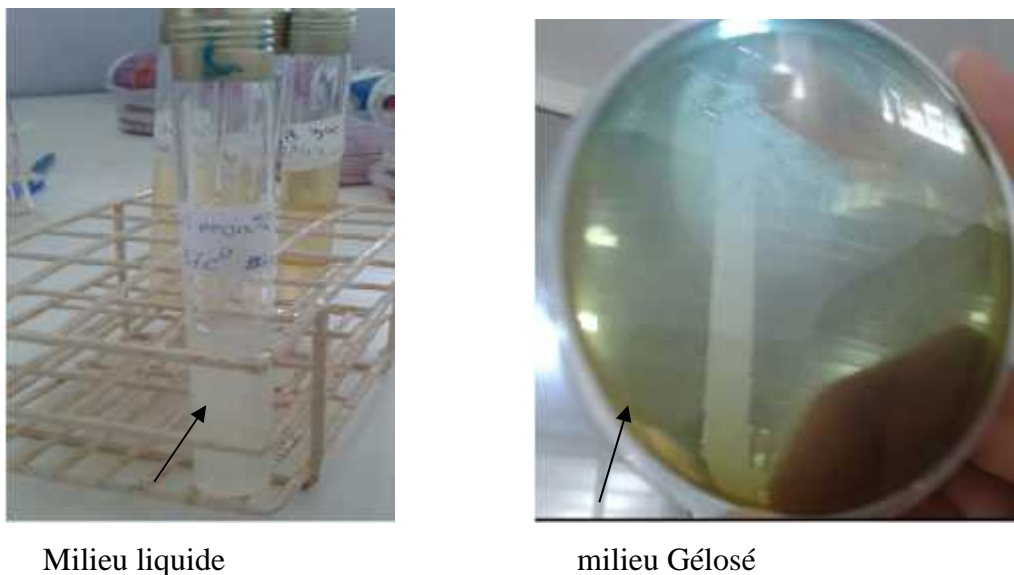


Figure 6 : Résultat de recherche des *Salmonelles* jusqu'aux 63^{ème} jours de conservation.

Les résultats de la recherche du genre salmonella du 1^{er} jour au 63^{ème} jours de conservation à 6°C montrent une absence total des salmonelles durant toute la durée de conservation, qui est conforme à la norme fixée par J.O.R.A. 1998.

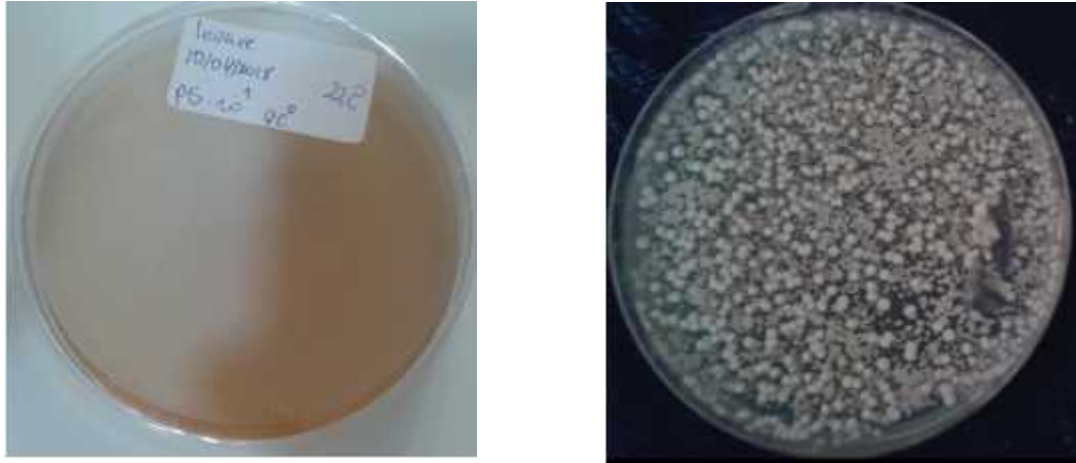
Les salmonelles sont réputées pour être peu thermorésistantes puisqu'elles sont détruites à une température qui dépasse 70 °C, sachant que dans notre processus de fabrication il y a la pasteurisation à 90°C/ 15 seconde. (Anses, 2011).

Les *salmonelles* sont multiple dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensible à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentration en acide lactique

supérieurs à 1% et pH inférieur à 4,55 (Jay, 2000 et Gruy, 2006), donc elle sont inhibé en présence d'une flore compétitive important (Bourgeois et al., 1988).

I.5. Levure et moisissure

Les résultats de la recherche et dénombrements des levures et moisissures sont présentées dans la figure suivante.



Absence des levures et moisissures J₁ au J₂₈

Présence des levures J₃₃ au J₆₃

Figure 7 : Résultat de recherche des levures et moisissures.

Les résultats de la recherche des moisissures au cours des 63^{ème} jours de conservation à 6°C montrent absence totale, par contre il y a présence de levure à partir du 33^{ème} jour jusqu'aux 63^{ème} jours, ceci est non conforme au norme à 33^{ème} jours. On note l'absence totale des levures dans le petit suisse qui est conservé à 6°C durant le 1^{er} jour de fabrication jusqu'à le 28^{ème} jour, ces résultats conforme à la norme fixée par AFNOR 1986, ceci nous renseigne sur la date de péremption de notre produit. Après les 28^{ème} jours on a noté début de contamination par la levure qui dépassant la norme.

L'absence des moisissures renseigne sur le respect de l'hygiène au sein de l'entreprise, que ce soit l'air ambiant ou le matériel utilisé (Beuvier et al., 2005). Selon Larpent et Bourgois, (1989) l'absence de ces germes confirme l'efficacité du traitement thermique.

Les levures peuvent s'adapter à tous les pH sauf les valeurs extrêmes mais préfèrent les milieux acides (Leyral et Vierling., 2001). Elles sont des agents importants de détérioration des aliments acides ou à faible activité d'eau (Jean, 2011)

II. Résultats des analyses physico-chimique

Les résultats des analyses physico-chimiques sont consignés au tableau 10.

Tableau 10: Résultats des analyses physico-chimiques du petit suisse pendant 63 jours de conservations à 6°C.

	MG (%)	EST (g/L)	ESD (g/L)	pH	Acidité (°D)
J₁	40	200	160	4,7	60
J₅	40	200	160	4,65	61
J₁₂	40	200	160	4,61	62
J₁₉	40	200	160	4,57	64
J₂₆	40	200	160	4,50	70
J₂₈	40	200	160	4,48	71
J₃₃	40	200	160	4,44	79
J₃₅	40	200	160	4,40	80
J₄₀	40	200	160	4,38	87
J₄₂	40	200	160	4,35	89
J₄₇	40	200	160	4,28	91
J₄₉	40	200	160	4,26	93
J₅₄	40	200	160	4,21	95
J₅₆	40	200	160	4,18	96
J₆₁	40	200	160	4,15	98
J₆₃	40	200	160	4,12	99
Norme *	40	200-204	140-160	4,4 - 4,90	60-80

Norme * : Norme interne de laiterie.

II.1. L'Acidité

Les résultats des mesures de l'acidité au cours de conservation à 6°C sont présentés dans la figure ci-dessous.

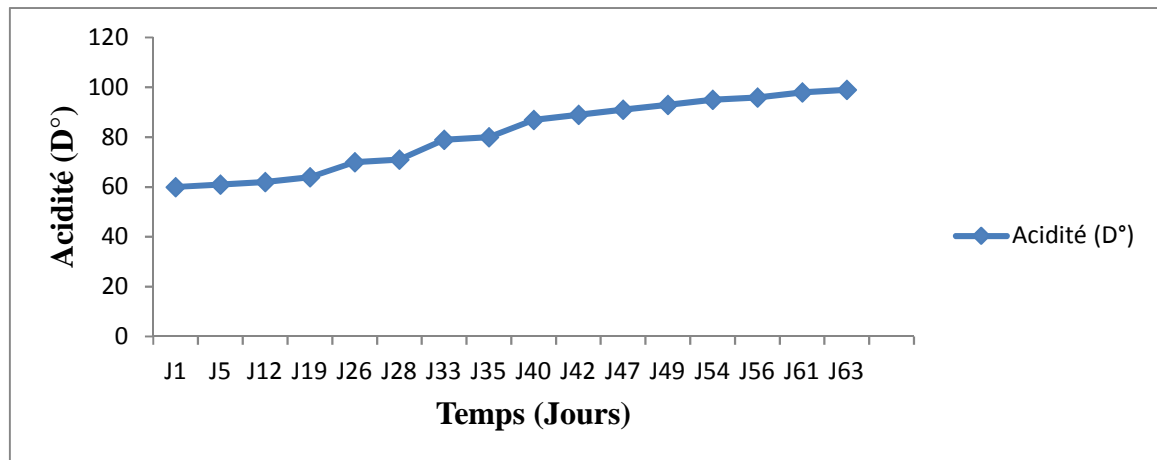


Figure 8 : Evaluation de l'acidité en °D de fromage frais type petit suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C.

La conservation à 6°C, ce permet de remarquer une augmentation de l'acidité qui dépasse 60°D le 1^{er} jour à 80°D le 35 jour, ces différent valeur de l'acidité restant toujours dans l'intervalle de l'unité ARIB de 60°D à 80°D mais après le 35^{eme} jour à 63^{eme} jour nous observerons une augmentation rapide du l'acidité de 99°D, qui dépassée la norme d'unité ARIB. Selon Mathieu, (1998) L'acidité développée grâce à l'action des ferments lactique qui transforment le lactose du lait en acide lactique.

II.2. pH

Les résultats des mesures de pH au cours de conservation à 6°C sont présentés dans la figure ci-dessous.

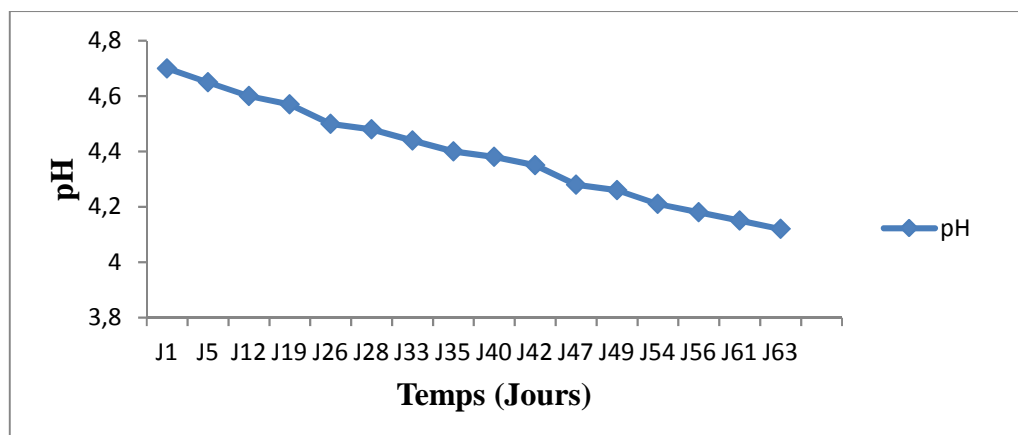


Figure 9 : Evaluation du pH du fromage frais type petit suisse pendant de 63 jours de conservation à 6°C.

La conservation à 6°C, ce permet de remarquer une diminution du pH qui dépasse 4,70 le 1^{er} jour à 4,40 le 35 jour, ces différentes valeurs de pH restant toujours dans l'intervalle de l'unité ARIB de 4,40 à 4,9 mais après le 35^{eme} jour à 63^{eme} jour nous observerons une diminution rapide du pH de 4,12, qui dépasse la norme d'unité ARIB.

Selon Vignola, (2002), les bactéries lactiques transforment le lactose en acide lactique qui fait abaisse le pH.

II.3.Matière grasse

Les résultats des dosages de la matière grasse au cours de conservation à 6°C sont présentés dans la figure ci-dessous.

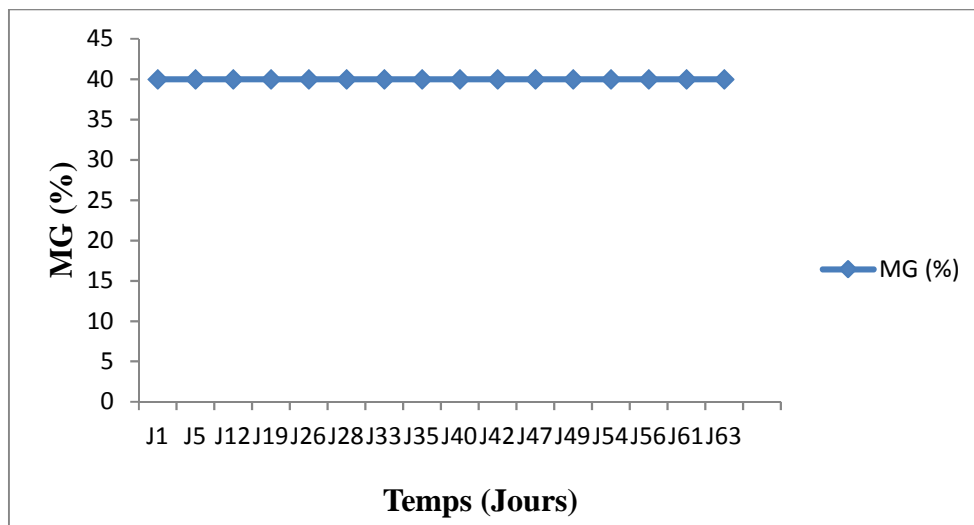


Figure 10 : Evaluation en % de taux en MG pendant 63 jours de conservation à 6°C.

Le taux de MG en % du fromage frais type petit suisse garde la même valeur de 40% depuis le première jour de fabrication jusqu'aux 63^{eme} jours de conservation à 6°C. Ces valeurs de MG restent toujours dans les normes fixées par laiterie d'ARIB 40% ceci est dû en raison de l'absence des microorganismes lipolytique responsable de la dégradation de la matière grasse, ils sont fréquemment psychrotrophes (Vignola, 2002).

II .4.Extrait Sec Total

Les résultats de la détermination de l'extrait sec total au cours de conservation à 6°C sont présentés dans la figure ci-dessous.

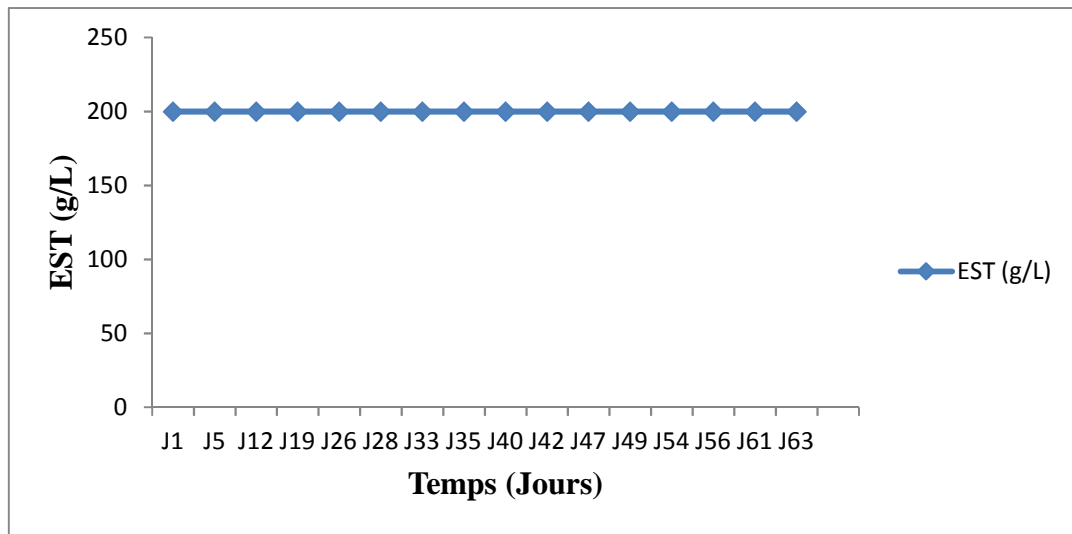


Figure 11 : Evaluation de l'EST en g/L au cours de conservation à 6°C pendant 63 jours.

Le taux d'Extrait Sec Total du fromage frais type petit-suisse conservé à 6°C reste constant de 200 g/L depuis le 1^{ère} jour de fabrication jusqu'aux 63^{ème} jours. Les résultats trouvés restent dans la norme fixée par d'unité d'ARIB de 200 à 2004 g/L. À cause de l'absence des microorganismes protéolytiques responsable de la dégradation des protéines, il s'agit des microorganismes nuisibles sont souvent psychrotrophe (Vignola, 2002).

III. Discussion générale

Le fromage frais est considéré comme un produit laitier très fragile, la texture, la saveur et l'arôme de ce produit sont étroitement liée à la composition, la teneur en eau, taux protéine, matière grasse et les sels minéraux (ECK et Gillis., 1997).

Dans notre travail, nous avons effectué des analyses microbiologiques et physico-chimiques sur le fromage frais type petit-suisse avec un suivi de son évaluation de la durée de conservation à 6°C dont l'objectif d'assurer la qualité marchande.

Les analyses physico-chimiques dont la mesure du pH et l'acidité, avec un contrôle de l'extrait sec totale et la matière grasse durant toute la période de stockage; du point de vue microbiologique est porté sur la recherche de la flore microbienne qui est développée au cours de la conservation du fromage frais, parmi eux les germes aérobie mésophile totaux, ainsi les germes de contaminations fécale coliforme totaux et coliforme fécaux. La recherche des germes pathogène *Salmonelle*, *Staphylococcus aureus*, la recherche des levures et moisissures, car leur présence avec un taux élevé peut provoquer des intoxications et un risque au consommateur.

Les résultats trouvés indiquent une augmentation de la charge bactérienne des germes aérobies mésophile totaux à savoir ces germes additionnée au cours de fabrication du fromage frais type petit suisse, qui représente un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC présentes dans un produit, considéré comme le facteur déterminant la durée de conservation (Guinat-thomas et al ., 1995) ,par la transformation le lactose en acide lactique qui provoque altération physicochimique de ce produit, sachant qu'elle agit sur qualité intrinsèque du produit : goût, odeur et texture (vignola, 2002).

L'absence totale des germes recherchés à savoir les Coliformes totaux, Coliforme fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Salmonelle* et moisissures durant leur conservation, ces résultats sont conformément aux normes fixées par le J.O .R .A . 1998 et AFNOR. 1986, qui s'expliquent par la bonne pratique de fabrication à savoir : le respect d'hygiène, la pasteurisation (ECK et Gillis ., 1997).

L'emballage en plastique du petit suisse protège la qualité du produit (Verraes et al ., 2015).

La présence des levures après le 28^{eme} jours avec des valeurs supérieures aux normes, ce qui suggère une possibilité de prolongation de la date limite de consommation qui est fixée à 21^{eme} jour, donc on peut ajouter 7 jours après la DLC.

Selon Vignola, (2002), les bactéries ont besoin de plus d'eau pour se développer que les levures, pour cette raison que l'on retrouve principalement des levures comme contaminant sur des aliments ayant peu d'eau comme les fromages fermes. Aussi les levures peuvent être se multiplient bien dans milieu acide $\text{pH} = 4,0$ à $4,5$ et à la température de croissance de certaine levure peuvent se développer à 0°C à 5°C (Abdelouahab, 2001).

Les résultats des analyses physico-chimiques du fromage frais type petit-suisse pendant 63 jours de conservation à 6°C , nous montre une variation des valeurs de pH et l'acidité dès le 1^{er} jour de conservation jusqu'au 35^{eme} jour reste dans la norme, par contre après 35^{eme} jours elle dépasse la norme recommandé.

Le pH et l'acidité dépendent de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (Labioui, 2009), lorsque la bactérie lactique transformée le lactose en acide lactique qui à baisse de pH conduit à une acidité élevé (Alais, 1984).

Le reste des paramètres physico-chimiques à savoir MG, EST, ESD stable durant tout la période de conservation à 6°C pendant 63 jours (2 mois), cela est dû à l'absence de microorganisme lipolytiques et proteolytique. (Vignola, 2002).

La date limite de consommation du produit recommandé par la laiterie est du 21jour, notre résultat obtenu nous permet d'augmenter cette période de consommation (DLC) de 14 jours du point de vu physico-chimique.

Conclusion

CONCLUSION

Notre travail a porté sur l'étude et l'évaluation de la date limite de consommation du petit suisse conservé à 6°C. La date limite de consommation du produit recommandé par la laiterie est de 21 jours, les résultats de la qualité physico-chimique et microbiologique nous recommande d'ajouté 7 jours à la date limite de consommation (DLC) de la laiterie.

Le petit suisse contient apport nutritionnelle riche en protéines, de 40% de matière grasse, de calcium, de vitamine A et D. Ainsi les conviennent parfaitement aux nourrissons et les enfants, et personne âgées dont les besoins sont souvent accrus, notamment, en calcium et en vitamine D.

Pour assurer la qualité marchande du petit suisse durant 28^{eme} jours nous recommandons d'assurer la température de conservation à une température inférieure à 6°C :

- ✓ Juste après la production ;
- ✓ Lors du stockage ;
- ✓ Lors du transport ;
- ✓ Ainsi au cours de la commercialisation.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdussalam M, Anquez M, Barber F, Berg J C T, Bijlenga G, Blodgett R O et al ., (1966)** . Hygiène du lait . Organisation mondiale de la santé. Genève. 802 p.
- Adam D , Hansen A, et Wiese H., (1958)**. Essentiel Fatty acids in infant nutrition II : effect of linoleic acid ocular intake. J Nutr 66 : 555-564 .
- AFNOR, (1989)**. Recueil des normes françaises. Laits et produit laitiers.
- AFSSA, (2003)** . Expertise par microorganisme pathogène. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. P- 9.
- Agence Française de la Normalisation, (1986)**. Contrôle de la qualité des produits laitiers, analyse physique et chimique. Ed. AFNOR , 2003^{ème} édition. 1030p.
- Ait abdelouahab N, (2001)**. Microbiologie alimentaire. Edition : office des publications universitaires. Alger : 147p.
- Ait abdelouahab N, (2008)** . Microbiologie alimentaire. 3^{ème} Edition. Ben aknon (Alger). 22p.
- Alais C et Linden G, (1997)**. Abrégé biochimie alimentaire. Masson. Paris . 168p.
- Alais C, (1975)**. Science du lait . Principes des techniques laitières. Ed . sepaic . 3^{ème} Edition
- Alais C, (1984)**. Science du lait. Principes des techniques laitières . Ed : sepaic . 4^{ème} Edition . 819P.
- Alian B, Marie- madeleine Richer et Sébastien., (2007)**. alimentation. sécurité et contrôle microbiologie . Educargi édition . 208p .
- Amiot J, Fournier S , Lebeuf Y, Paquin P, Simpson R et Turgeon H., (2002)**. Composition. Propriétés physicochimique. Valeur nutritive. Qualité technologie et technique d'analyse du lait-transformation du lait. École polytechnique de Montréal. ISBN .3-25.600p.
- ANSES, (2011)**. Caractéristiques et sources de Salmonella SPP. Agence national de sécurité sanitaire alimentations. Environnement . Travail. P- 3.
- ANSES, (2011)** . Caractéristiques et sources de Staphylococcus aureus. Agence national de sécurité sanitaire alimentations. Environnement . Travail. P- 3.
- Beerens H et luquet F-M., (1987)**. Guide pratique d'analyse microbiologie des laits et des produit laitiers. Tec et doc . Lavoisier. Paris. 144p.

Beuvie, (2005). Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage
file:///C:/Users/Haoua%20Lar/Downloads/pdf_05-Quelles_sont_les_evolution.pdf

Bonnyfoy C, Guillet F, Luyural G et Bourdis E-V., (2002) : microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine. Doin. paris.248p.

Borges F , Brutin H, Cheruel A,Collu E, Dudognon E, Moureau C, Schmith C,Pace H,Plessis M ., (2013) .Sécurité sanitaire des aliments. Université de la lorraine. p 4-5.

Bourgeois C-M, Mescle J-F et Zucca J.,(1988) .microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1. Ed. Technique et documentation .Lavoisier, paris .421p.

Bourgeois C-M, et Leveau J-Y., (1980). Technique d'analyse et de contrôle dans l'industrie agroalimentaires. Volume 3. Ed .technique et documentation .Paris. France. PP . 2011-2019.

Bourgeois CM et Larpent JP. , (1989).Microbiologie alimentaire. les fermentations alimentaires. Ed Tec et Doc Lavoisier. Paris. P. 3. 6. 204. 206. 283.

Brisabois A, Lafarge V, Brouillad A, Debuyerm L, Collette C, Carin Bastufi B, Thore m-f., (2000). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers. Situation en France et en Europe. Paris. 471p.

Cayot P et Loient D., (1998) . Structures et techno fonction des protéines du lait. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. 281 p.

Cerbron E, Anne L,Lubrano S ,Véronique braesco L,Deschamps E.,(2016) .fromage blanc. Petit suisse et lait fermenté riche en protéine. Paris. Cedex 09.
France.www.en consultaté.com.

Chilliard y, et lambert G., (1984).La lipolyse dans le lait. Les différents types.mécanismes.facteurs de variation. Signification pratique .Le lait 64 .pp544-578.

Code de consommation, (2008). Fiche pratique de réglementation N°1. Hygiène alimentaire. Académie de Bordeaux-Jarome musard Ien et économie de Gestion. 12p.
Disponible sur : <http://www.Dgccef.bergc.gouv.Fr>. (Consulté le 11/04/2017).

Crapelet C, et Thibier M. , (1973) . La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. Pp. 114-116.

Cuq J- I, (2007). Microbiologie alimentaire. Edition. Science et techniques de la langue doc. Université de Montpellier. 25 P.

Debry G, (2001). Lait. Nutrition et santé. Ed. Technique et documentation .Lavoisier. Paris.566p.

- Deforges J , Dereus E, Rosset R, et Serrand M., (1999) .** Maitrise de la chaine du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Comagref Tec et Doc. Paris.
- Deroissart H et Luquet F-M., (1994).** Bactérie lactique. Aspect fondamentaux et technologique .vol 2, loriga Uriage : 641p.
- Dridet et prevost.H., (2009) .** Bactéries lactique physiologie. Métabolisme. Génomique et application industrielles .Edition .Economica :593p.
- Eck A, (1987).** Le fromage. Edition. Tec et Doc Lavoisier. Paris.539p.
- Eck et Gillis J-C., (1997).** Le fromage de la science à l'assurance-qualité .3^{ème} édition. Tec et doc. Lavoisier .Paris .891p.
- Eck et Gillis., (2006).** Le fromage.3^{ème}Edition .Tec et doc. Lavoisier. Paris. 891p.
- Eklund T, (1989).** Organic acids and esters. In. Gould,G.W .(Ed). Mechanisms of action of food Preservation Procédures. Elsevier Applied Science. London. pp. 161-200.
- FAO, (2013).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO alimentation et nutrition n°28.
- Farkas, J. (2007).** Physical methods of food preservation. In Food microbiology: Fundamentals and frontiers. pp. 685-712.
- Fatet P, (2004).** Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. PP. 34-35.
- Favier J.C, (1985).** Composition du lait de vache. Lait de consommation, <http://www.horizon.documentation.fr>.
- Franworth E, et Mainville I., (2010).** Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique. Centre de recherche et de développement sur les aliments. saint-Hyacinthe [http : //www. Dos.Transf.ealwa. PDF](http://www.Dos.Transf.ealwa.PDF).
- Fredot E, (2005).** Connaissance des aliments. In bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition. Tec et Doc. Lavoisier. 424p.
- Get, (2002).** Transformation de produit laitiers frais à la ferme. 1^{er} Edition 2002 Educagire Edition. 232p.
- Goudédranche H,Camier-caudron B,GassiJ-Y et schuck P.,(2001) .** Procèdes de transformation fromagerie (partie1). Technique de l'ingénieur.vol F, F6305.15p.
- Groupe d'étude des marches de restauration collective et de nutrition (Gem Rcn), (juillet 2009).** Lait et produit laitiers. Spécification technique de l'achat public. Ministère de l'économie. De l'industrie et de l'emploi. 47p.
- Guinot-thomas P. Ammouy M. et Laurent F., (1995).** Effects of storagge conditions on the composition of raw milk. Inter national dairy Journal N°5. pp : 211-223.

- Guiraud J, et Galzy P., (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires Edition l'usine. 119p.
- Guiraud j-p. et Rosec j-p., (2004) .** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.
- Guiraud J-p, (1998) .** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod .Paris. 652p.
- Guiraud J-p, (2003).** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod. Paris. 652p.
- Guy FI, (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contamination par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de production fromagère AOC du massif central. Thèse doctorat d'état.université Paul- Sabatier. Toulouse. France. 17p.
- Hermier J,Lenoir F et Weber F.,(1992) .**les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed .CEPIL. Paris .559p.
- Heuchel V, Chatelin Y-M, Breau S.Sobolewski F, Blancard N, Baraton Y et Ayerbe A., (2003).** lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produit. Renc. Tech. Ruminant n°10. PP : 223-226.
- Infoconsult, (2009).** Société de consultation et formation continu dans les domaines de la production et de la transformation laitière. Paris. 47p.
- Institut de l'élevage, (2009).** Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1^{ère} Edition. France agricole. Produire mieux. PP. 505-506.
- J.O.R.A .N°63, (2013).** Arrêté interministériel du 18/08/2013. Relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
- J.O.R.A. n°35 daté le 27 Mai., (1998).** Journal Officiel de la République Algérienne N°35. Critères microbiologiques des Laits et des produits laitiers.
- Jakob E,Winkler H,Haldemann J.,(2009) .**critères microbiologiques pour la fabrication du fromage. Edition,Agroscope liedfeld_poisieux .groupe de discussion N°77 .F . Pp 5-31p.
- Jay, J. M. (2000).** Taxonomy. role, and significance of microorganisms in food. Dans modern food Microbiology, Aspen Publishers. Gaithersburg MD.13p.
- Jean Froc, (2006).** Balade au pays des fromages. Les traditions fromagères en France. Edition Quae. 240 p.
- Jean Louis, (2011).** Microbiologie alimentaire. Contrôle microbiologique des aliments. Science et technologies des industries alimentaires. Université Montpellier.119 p.

- Jeantet R, Croyennec T, Mahant M, Schuck P et Brulé G., (2008).** Le produit laitiers. 2^{ème} Edition. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. PP. 1-9.
- Joffin C et Joffin J-N ., (1999).** Microbiologie alimentaire. 5^{ème} Edition. Bordeaux ; CRDP d'aquitaine. 214 P .
- Kacimi El Hassani S, (2013).** La dépendance alimentaire en Algérie : importation de lait en poudre versus production local. Quelle évolution méditerranéen Journal of social sciences vol4 .N°11-152-158.
- Kim H, Novar G, Ramet J.P et Weberw., (1982).** Les goûtes anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.
- Labioui H, Laarousi E, Beuzakour A, El Yachiou M, Berny E, et ou Hussine M., (2009).** étude physico-chimique et microbiologique de laits crus. Bull. Lham bordeaux. 2009. 148. pp. 7-16.
- Lahtinen S, Ouwehand A-C, Almines S et Right A-V., (2012).** lacti acid bacteria microbiological and functional aspect. fourth Edition :taylor et francis group .Boca roton .london.
- Lamy D, (2000).** Lait et produits laitiers. Tec et Doc. Lavoisier. N°599.Lavoisier. Paris. 566p.
- Le minor L et Richerd C., (1993).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries Institut Pasteur.
- Leveau J-Y et Bouix M., (1993).** Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 612 p.
- Leyral G, et Vierling E ., (2007).** Microbiologie et Toxicologie des aliments. Hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} Edition. Doin. P 287.
- Luquet F et Corrieu G ., (2005).** Bactéries lactique et probiotique. Ed. Tec et Doc. Lavoisier paris. 307 p.
- Luquet F-M, (1985).** Lait et produit laitiers. Vache brebis et chèvres. Tome 2. Les produit laitiers transformation et technologie. Ed. Tec et Doc Lavoisier. Paris. 633p.
- Luquet F-M, (1986).** Lait et produit laitiers. Vache brebis et chèvres, Tome 2. Les produit laitiers transformation et technologie. Ed et Tec et Doc Lavoisier. Paris. 365p.
- Luquet F-M, (1990).** Lait et produit laitiers. Vache brebis et chèvres. Tome 2. Les produit laitiers transformation et technologie. 2^{ème} édition. Tec et Doc Lavoisier. Paris. 637p.
- Mahaut M, Janetet R, Brulé G et Scheck P., (2000).** Les produits industriels laitiers. Ed tec et Doc. Lavoisier. Paris.178p.

- Mahaut M, Janetet R, et Brulé G., (2000).** Initiation à la technologie fromagère. Edition. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 194 p.
- Mathieu J, (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait. Guides Technologiques d'IAA Edition. Lavoisier. Tec et Doc. Paris.
- Mathieu J, (1999).** Initiation à la physico-chimie du lait. Edition. Tec et Doc. Lavoisier paris. PP. 3-190.
- Meyer alphone, Jose Deiana et Alain Bernard .,(2004).** Cours de microbiologie générale avec problème et exercices corrigés. Biosciences et technique.2^{ème} édition.415p.
- Perry J, Staley J, Lory S .,(2004).** Microbiologie. Edition. Dunod, paris. 891p.
- Pourgheon S, et Goursaud J., (2001).** Le lait caractéristique physicochimique In DEBRYG. Lait. Nutrition et santé. Tec et Doc paris. 566 p.
- Rheotest M ., (2010).** Rhéomètre RHEOTEST ® RN et viscosimètre a capillaire RHEOTEST ® LK- produit alimentaire et aromatisants
([http : //www.Rheotest. de /download / nahrung.Fr .pdf](http://www.Rheotest.de/download/nahrung.Fr.pdf)).
- Richerd J, (1983).** Nature de la flore microbienne dominante et sous dominante des laits crus très pollués. Le lait n°63. PP. 148-170.
- Roudj S, Belkkeir k, Zadi karam H, et Karam N-E., (2009) .** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du sud ouest algérien. Eurpean journal of scientific research. Vol.34 n°2. pp. 218-227.
- Senoussi A., (2008).** Caractérisation de l'élevage bovin laitier dans le Sahara. Situation et perspectives de développement .In Colloque International « Développement durable des productions animales. En jeux. Évaluation et perspectives ».
- Soroste A, André J C., (2013).** Denrées alimentaires. Information des consommateurs-etiquetage-Affichage-Publicité. Ed. Lamy. 412 p.
- Sutra L, Federigli M, et Jouve J-L., (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition. polytechnica. 9 p.
- Tortora Cerard J, Funre Berdell R, Case Christine L ., (2012).** Microbiologie. 2^{ème}édition .canada . 566 p.
- Veirling E, (2008).** Aliments et boisson filières et produits. 3^{ème} édition biosciences et techniques. Paris. pp 15-16.
- Veisseyre R, (1979).** Technologie du lait. Constitution. Récolte. Traitement et transformation du lait ,3^{ème} édition, paris : 714p.

Verraes C, Vlaemynek G, Van Weyenberg S, De Zutter L, Daube G, Sindic M, uyttendaele M et Herman L., (2015). The microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*. 50, 32-44.

Vierling E, (2003). Aliment et boisson-filière et produit. 2^{ème} édition. Doin éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'aquitaine N°11. 270p.

Vignola C-L, (2002). Science et technologie. Transformation du lait. Paris. Ecole polytechnique de Montréal. Canada. 600 p.

Zufferey JM, (2012). Fabrication du fromage à raclette valaisant A.O.C, Janvier 2012 issue.<http://www.vs.ch/NavigData/DS_68/M29692/fr/Fabrication_fromage_%C3%A0_raclette_valaisan_AOC.pdf> (accessed 03.05.13).

Annexes

ANNEXE 1

1. Présentation de l'ORLAC

1.1. Historique de l'ORLAC

L'ORLAC était d'origine une petite usine que les colons avaient fait bâtir sous le nom de l'AICO (laiterie coopérative algéroise) à BIRKHADEM et qui a dû fermer ces portes en 1955 à la suite d'une faillite, après l'indépendance, l'unité après appellation « COLAITAL » jusqu'au 16 juillet 1968 que le ministre de l'industrie la nomma « ONOLAIT ».

1.2. Historique de l'usine

La laiterie d'ARIB a été restructurée en mai 1981 par décret N°81.393. Une unité a été réalisée à ARIB (wilaya d'Ain defla) par une firme **italienne** équipée à 100% avec le bâtiment social et

Logement de fonction pour le bâtiment de production et le bâtiment stockage des matières premières, ont été réalisés par batimitlal pour le montant de 15.752575.08 DA.

Le coût de projet de ARIB a été évalué 167.000.000.00 DA par décision d'individuation N°617 310 174 301 en date de 05 avril 1986 et par décision de financement de la banque africaine de développement en date du 13 avril 1986, ainsi donc la date désignateur de contrat le 24 décembre 1985 la mise en vigueur du contrat le 12 avril 1985 et le démarrage des travaux en octobre 1986.

Le choix de l'unité d'ARIB était pour la caractéristique de région typiquement agricole. L'unité située sur une superficie totale de 11 Ha dont Ha bâtie l'unité d'ARIB est entrée en service à partir d'un mois d'avril 1989.

Actuellement, le programme de production est réalisé en deux équipes (équipe des huit heures) à l'exception de l'atelier des crèmes glaces et dessert l'acte qui se fait en une équipe.

L'unité des ARIB avec son programme de production dessert toutes les wilayas de **Ain defla**, et une partie des wilayas de **Tipaza, Media et Chlef**.

1.3. Organigramme de l'entreprise :

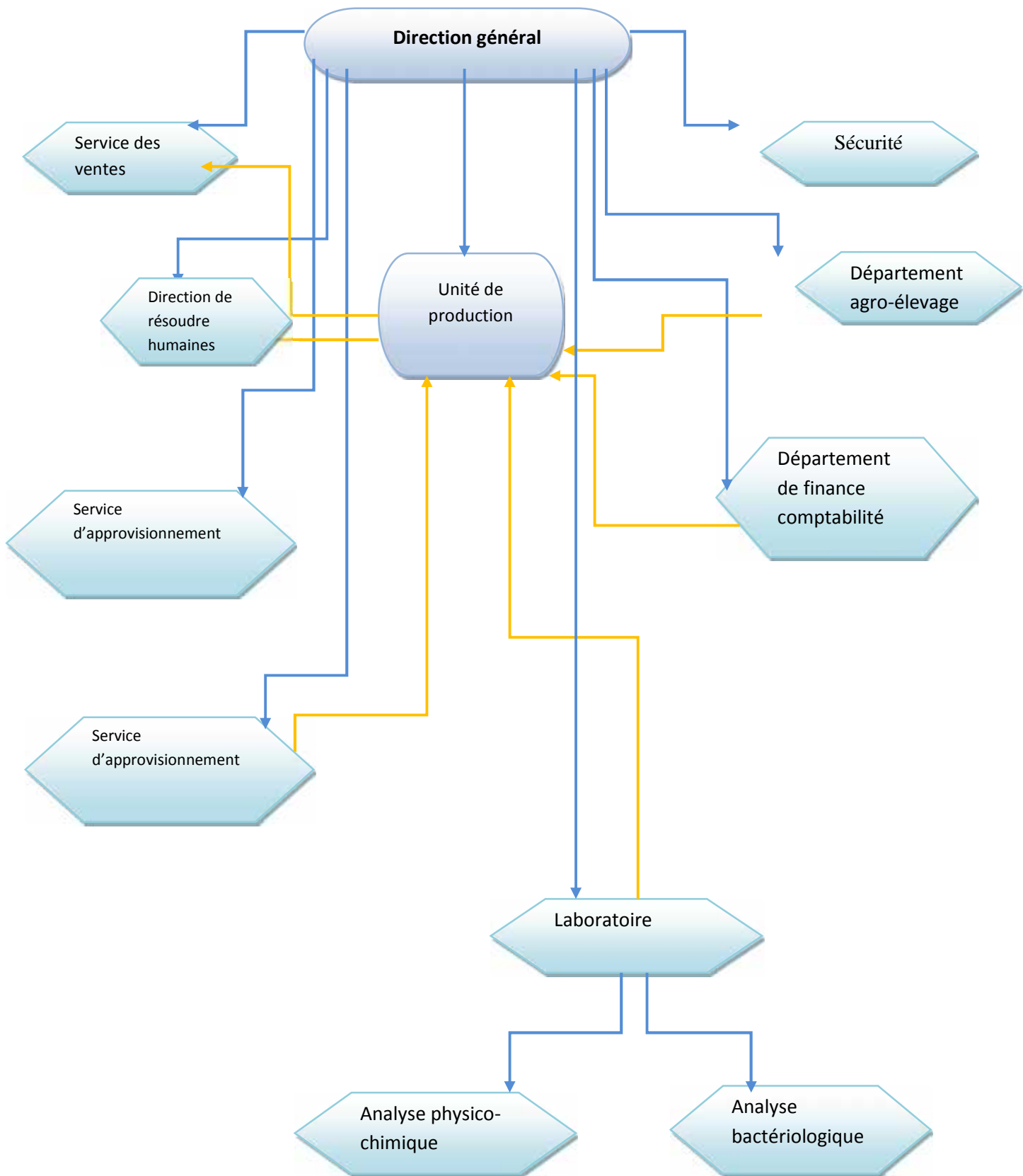


Figure 12 : l'organisation de l'entreprise.

ANNEXE 2

➤ **Appareillage :**

-) Acidimètre Doronic.
-) Autoclave.
-) Bain marie.
-) Balance analytique électrique.
-) Balance électrique de précision.
-) Bécher de 150ml.
-) Boîte de pétri.
-) Butyromètre VAN GULIK.
-) Capsule en platine.
-) Centrifugeuse.
-) Dessiccateur.
-) Etuve réglables à différentes températures 30°C, 37°C, 44°C.
-) Flacon de 250 ml en verre et stériles.
-) pH-mètre.
-) Pipette gradué de 10ml.
-) Pipette pasteur stériles.
-) Seringue de 10ml
-) Tube à essai.
-) Spatule métallique.
-) Bac Benzène.

➤ **Solution et Réactif :**

-) Acide sulfurique H₂SO₄ (d= 1,825, d=1,84).
-) Additif Tellurite de Potassium.
-) Alcool iso-amyleique.
-) Phénophtaléine.
-) Solution titré d'hydroxyde de Sodium NaO

➤ **Milieu de culture**

Les milieux de cultures utilisés lors de la présente étude sont

❖ **Milieu solide:**

-) Gélose Plate Count Agar (PCA).

-) Gélose Nutritive.
-) Gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol (VRBL).
-) |Gélose aux désoxycholate (DCLA).
-) Gélose Chapman.
-) Gélose Hektoen.
-) Gélose Sabouraud.

❖ **Milieu liquides:**

-) |Bouillon Giolitti Cantoni (GC).
-) |Bouillon Sélénite acide de Sodium et à la cystéine (SFB + Cystéine).

➤ **Composition de milieux de culture**

❖ **Milieu culture gélose au désoxycholate**

-) Peptone10g
-) Lactose10g
-) Désoxycholate de sodium.....0,5g
-) Cina5g
-) Citrate de soduim2g
-) Agar15g
-) Rouge neutre.....0,03

❖ **Plate cout Agar (PCA)**

-) Bio tryptase.....5g
-) Extrait de levure.....2,5g
-) Glucose.....1g
-) Agar.....15g
-) Eau distillée.....1000ml
- Autoclave : 15 min à 115°C.

❖ **Gélose lactosé biliée au cristal violet ou rouge neutre= violet red bile lactose agar (VRBL)**

-) Peptone.....7g
-) Extrait de levure.....5g
-) Sel biliaires.....1,5g
-) Lactose.....10g
-) Chlorure de sodium.....5g
-) Rouge neutre30g
-) Cristal violet.....2g
-) Gelose.....12g

- Il est stérilisé par 15 minutes d'ébullition (ne pas autoclave) et réparti en boîtes de pétri (contenant éventuellement l'inoculum) .Ce milieu peut être comme le précédent additionné de MUG (pour E,coli).

❖ **Giolitti et cantoni (milieu d'enrichissement pour staphylococcus)**

) Tryptone	10g
) Extrait de viande.....	5g
) Extrait de levure	5g
) Chlorure de lithium	5g
) Mannitol.....	20g
) Chlorure de saduim.....	5g
) Glucine.....	1, 2g
) Pyruvate.....	3g
) pH	6, 9

- Repartir en tubes à essais (10ml) ou en erlenmeyers. Autoclave 20 minutes à 115°C.
- Avant emploi ajouter à chaque tube de milieu 0,1 ml d'une solution de Tellurite de potassium a 0,5% stérilisée par filtration, il existe une formule contenant du nitrate (1g/l)

❖ **Chapman (gélose mannitée de) (=gélose mannitol)**

) Extrait de vainde	1g
) Peptone	10g
) Chlorure de sodium.....	5g
) Mannitol	10g
) Rouge de phénol.....	25g
) Gélose.....	15g
) pH.	7,4

- Autoclaver 15 minutes à 120°C. Répartir en boîtes de pétri.

❖ **Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine (SFB)**

) Peptone de caséine.....	5g
) L-mannitol	0,01g
) Lactose	4g
) Phosphate de sodium.....	10g
) Sélénite de sodium.....	4g
) Eau distillé.....	1000ml

❖ **Milieu culture Hektoen**

) Protéase de peptone	12g
) Extrait de levure.....	3g
) Chlorure de sodium	5g
) Thiosulfate de sodium.....	5g
) Sels biliaires	9g
) Citrate de fermoniacal.....	1,5g

) Salicine	2g
) Lactose	12g
) Saccharose	12g
) Fuschine acide	0,1g
) Bleu de bromothymol	0,065g
) Agar	13g
) Eau distillée.....	1,000ml
) pH	7,5

- Faire dissoudre les ingrédients dans l'eau en chauffant doucement
- Faire bouillir quelques secondes, laisser refroidir à 50°C et couler en boîtes, les boîtes sont à utiliser le jour même, ce milieu ne conserve pas.

❖ **Gélose nutritive**

) Peptone.....	10g
) Extrait de viande	5g
) Chlorure de sodium	5g
) Gélose	15g
) pH	7,

- Autoclaver 20 minutes à 120°C ou répartir en boîtes de pétri contenant éventuellement l'inoculum).
- Conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.

❖ **Sabouraud (bouillon de) (= milieu de sabouraud-glucose)**

) Peptone de viande	5g
) Peptone de caséine	5g
) Glucose	20g
) pH	6,3g

- Autoclaver 20 minutes à 120°C.

ANNEXE 3 :

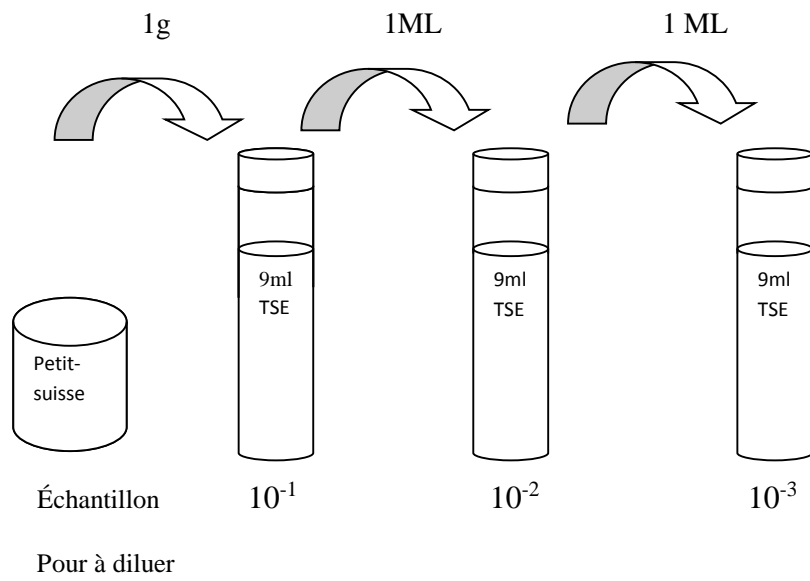


Figure 13 : Préparation dilution décimale

➤ A partir des dilutions décimales

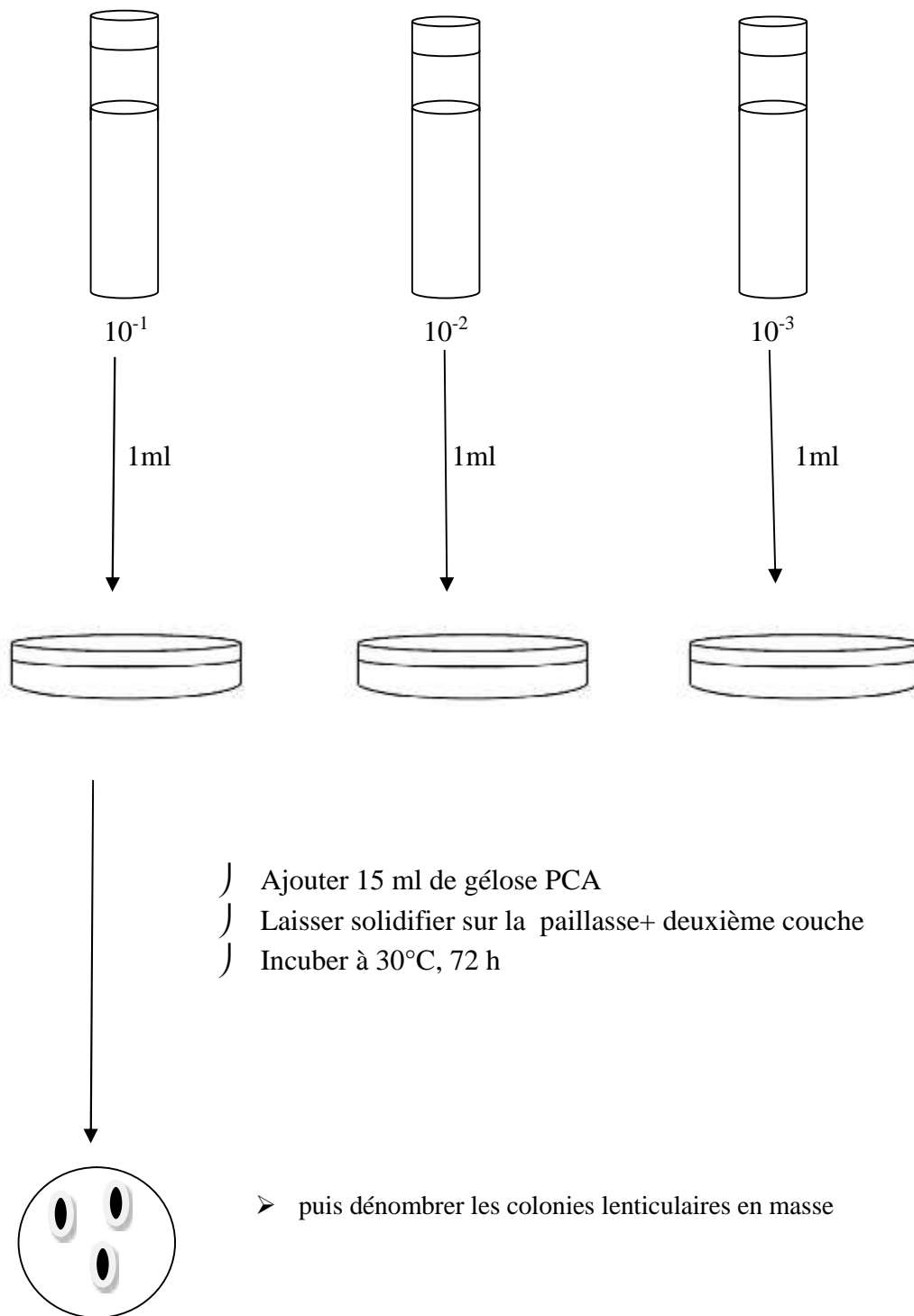


Figure 14 : Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux

➤ A partir des dilutions décimales

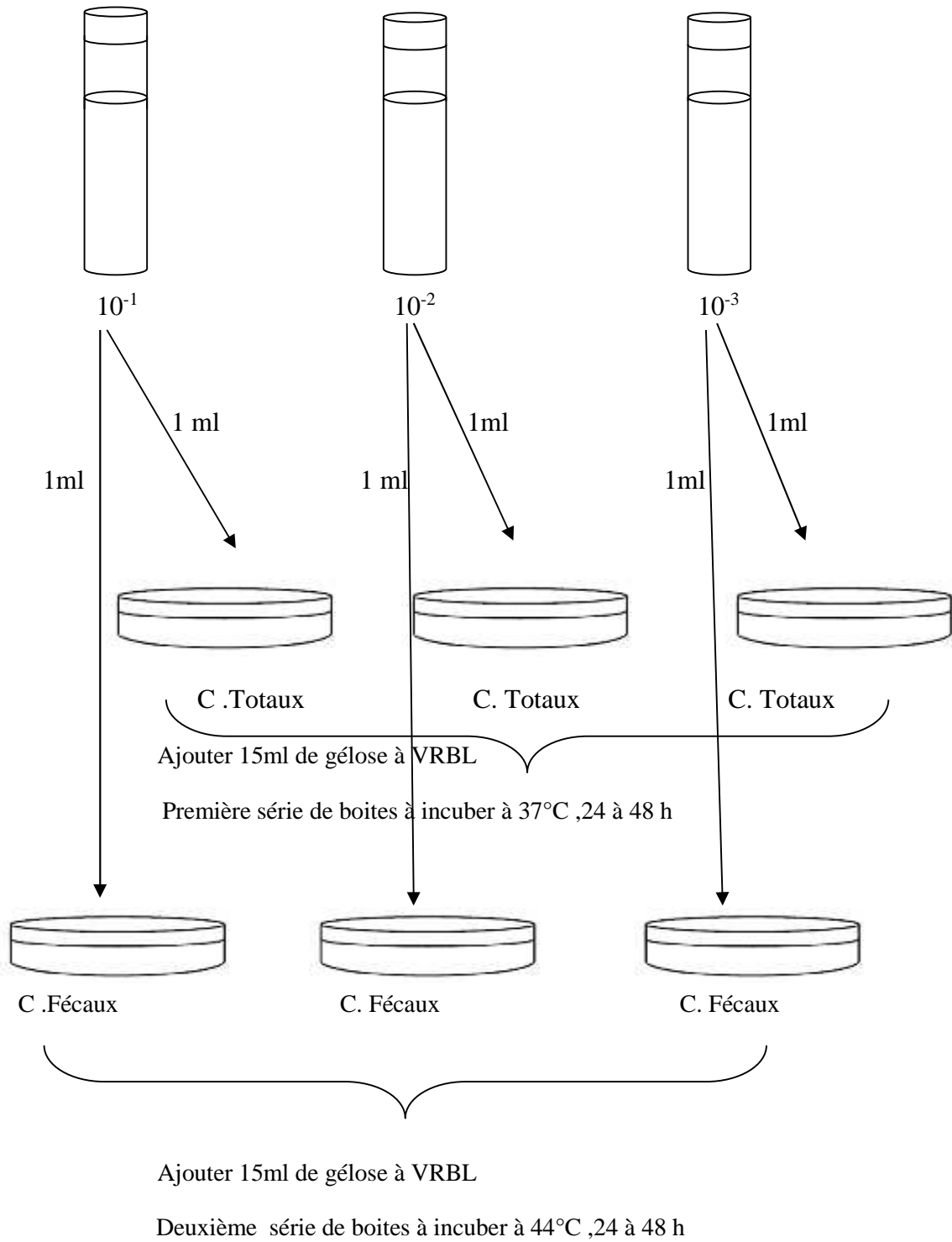
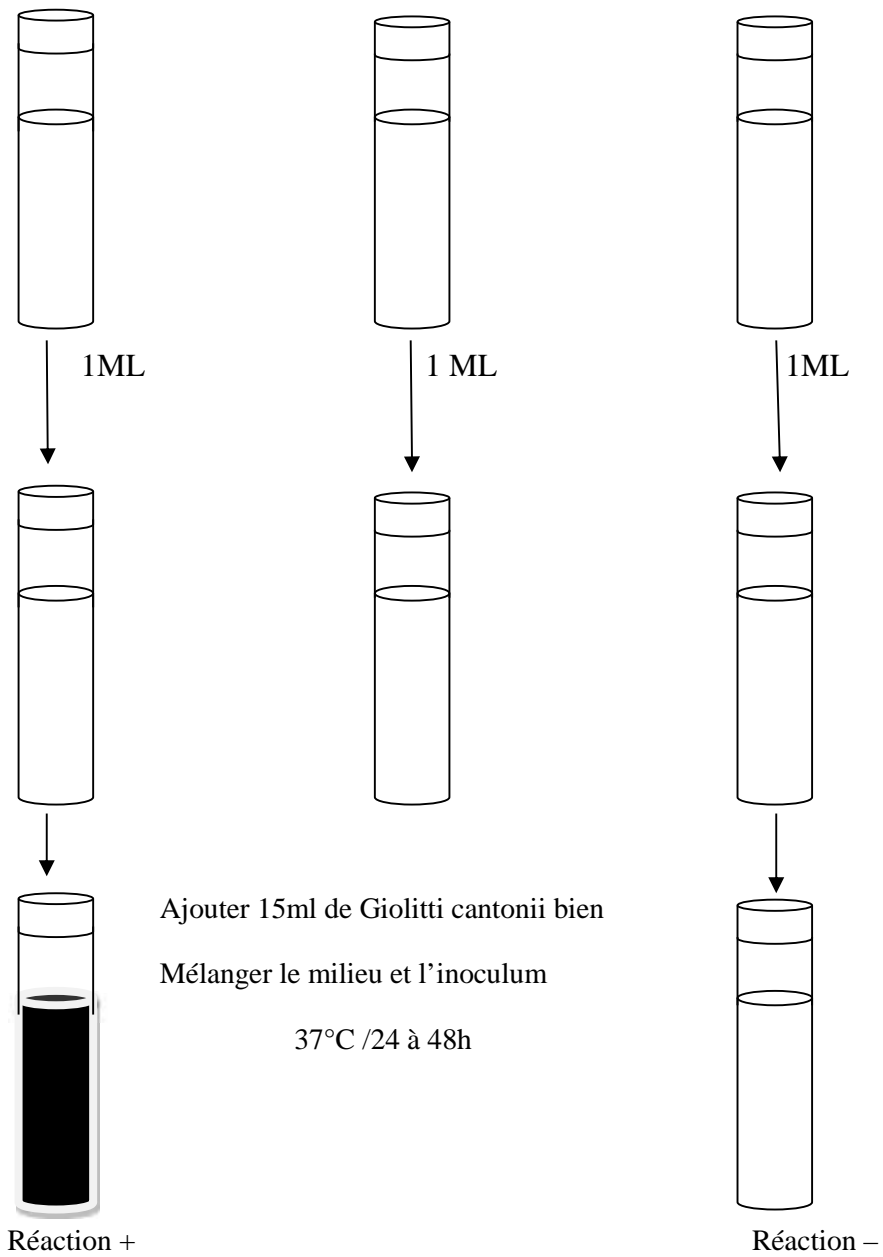


Figure 15 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux en milieu solide.

➤ A partir des dilutions décimales



Isolement sur milieu Chapman

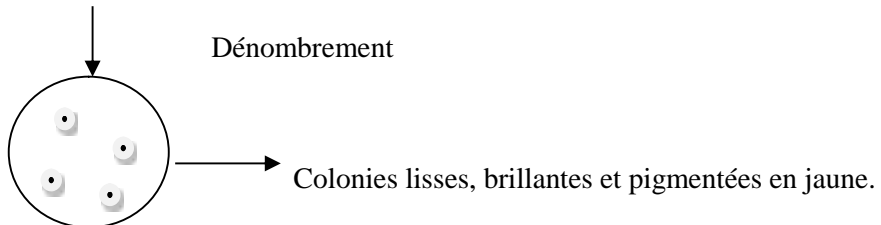
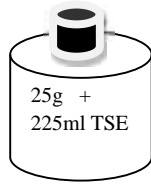


Figure 16 : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* par la méthode de Géolliti Contoni

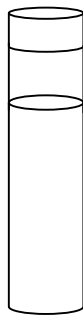
➤ **Jour 1 : pré-enrichissement**



37°C / 18h à 24h

➤ **Jour 2 : enrichissement**

1ML



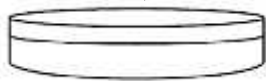
Bouillon Sélénite (SFB)

) **Incubation à 37°C pendant 24 heures**



Tube positif : Virage de la couleur jaune au rouge

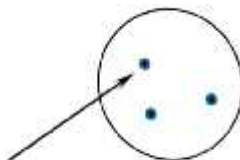
➤ **Jour 3 : Isolement et enrichissement secondaire**



Isolement sur Hektoen

) **Incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures**

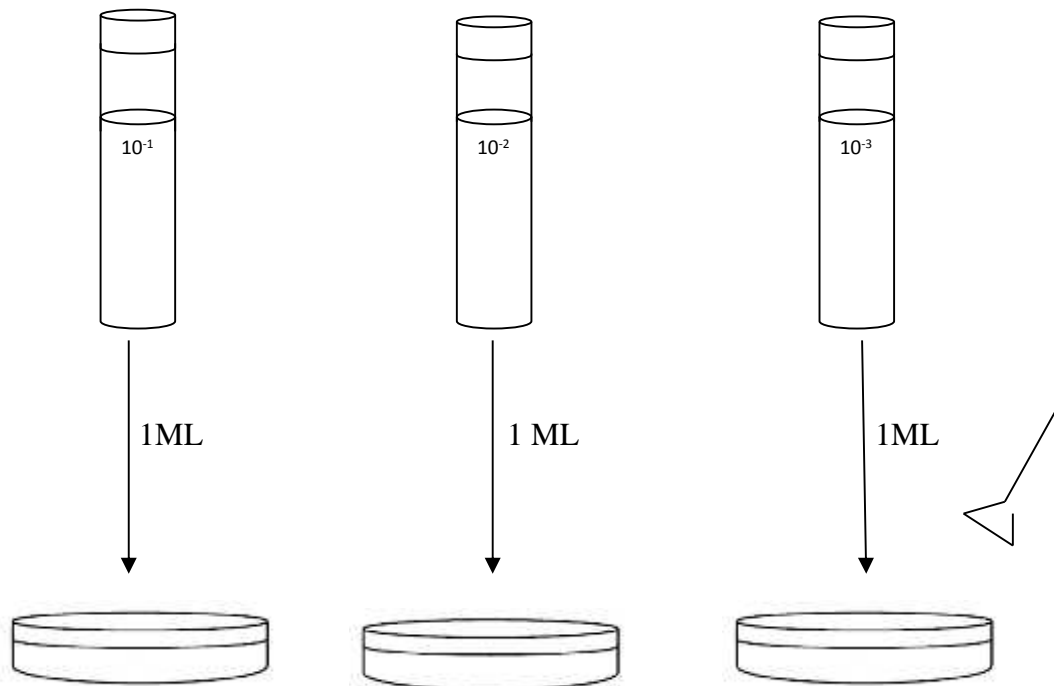
➤ **Jour 4 : Lecture et Identification**



Colonies bleu verdâtres à centre noir sur Hektoen

Figure 17 : Recherche et dénombrement de *Salmonelle*

➤ A partir des dilutions décimales



- Boite de pétrie contient 20 ml de gélose Saboraud solidifiée.
- Etalement à l'aide d'une pipette pasteur sous forme d'un râteau.
- Incubation à 20°C pendant 5 jours, avec lecture tous les jours.

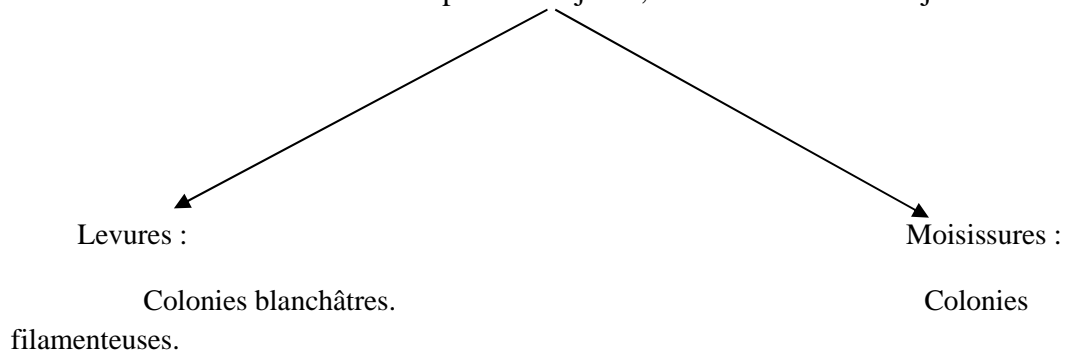


Figure 18 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures.