

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

جامعة محمد السادس بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة

المسكنية
رقم الجرد : 1878

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes
et Sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie
Moléculaire et cellulaire



جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة
وعلوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire De Fin D'étude Pour L'obtention Du Diplôme D'ingénieur
D'Etat en Biologie

Option : Contrôle De Qualité Et Analyses

Intitulé

*Etude physicochimique et microbiologique
du fromage à pâte fraîche*

Membre de jury :

Président : M^r BOUDJERDA J.

Examinatrice : M^{lle} BOUSSOUF L.

Promotrice : M^{me} Ouazène Née ISSAADI O.

Présenté Par :

BELTAS Ammar

BEZZAZ Tarik

DOUDOU Soulaf



Année universitaire : 2011-2012

Remerciement

Nous remercions d'abord et vivement Dieu , qui nous a donné la volonté, la patience et le courage de réaliser ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements à notre promotrice, pour le temps et l'intention qu'elle a bien voulu consacré au bon déroulement de ce travail.

Nos sincères remerciement vont aussi à :

Mr Boudjarda J. pour l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté de présider le jury d'examination.

M^{me} Boussouf L. pour l'honneur qu'elle nous a accordé en examinant ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères sont adressés à tous les Techniciens du labo.

En fin, nous tenons à remercier tous nos ami (e) s et camarades pour leurs soutiens tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Liste des abréviations

ATP	Adénosine tri phosphate
Cal	Calorie
CT	Coliformes totaux
CTT	Coliformes thermotolérants
ESD	L'extrait sec dégraissé
FTM	Flore totale mésophile
GC	Giolitti-Contoni
Kcal	Kilocalorie
KJ	Kilojoule
MG	Matière grasse
MM	Matière minérale
MO	Matièreorganique
MS	Matière sèche
NaCl	Chlorure de sodium
OGA	gélose glucosée à l'oxytétracycline
PCA	Plate Count Agar
pH	Potentiel d'hydrogène
SFB	Bouillon au sélénite Acide de sodium
ST	Sucres totaux
UFC	Unité formant colonnes
VF	viande foie
VRBL	Lactose Bilié au Vert brillant et au Rouge de phénol

Liste des figures

	Page
Figure01: Composition globale de lait de vache	02
Figure02: Base de technologie du fromage.....	12
Figure 03: Diagramme de fabrication des fromages blancs et des petits suisses.....	16
Figure04: pH des échantillons.....	33
Figure 05: L'acidité titrable des échantillons.....	34
Figure06: Teneur en matière sèche des échantillons analysés.....	35
Figure07: Taux d'humidité des échantillons analysés.....	36
Figure08: Teneur en matière minérale des échantillons analysés.....	37
Figure 09: Teneur en matière organique des échantillons analysés.....	38
Figure10: Teneur en matière azotée des échantillons analysés.....	39
Figure11: Différentes étapes de la méthode de Kjeldahl.....	39
Figure12: Teneur en matière grasse des échantillons.....	40
Figure13: L'extrait sec dégraissé des échantillons analysés.....	41
Figure14: rapport gras/sec des échantillons analysés.....	42
Figure15: Teneur en sucres des échantillons analysés.....	43
Figure16: composition globale des échantillons analysés	45
Figure17 Denombrement de la flore totale aérobic mésophile (FTAM).....	46
Figure 18: Résultat de denombrement des coliformes totaux.....	48
Figure19: Résultat de denombrement des coliformes thermotolérants.....	49
Figure 20: Résultat de recherche des staphylocoques.....	50
Figure21: Résultat de denombrement des levures.....	51
Figure22: Résultat de denombrement des moisissures.....	52
Figure23 : Résultats de l'analyse sensorielle.....	55

Liste des tableaux

Tableau		Page
Tableau I:	Les dérivés azotés du lait.....	03
Tableau II:	Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	04
Tableau III:	Effet des traitements thermique sur la composition vitaminique du lait ...	04
Tableau IV:	Constituants majeurs des matières salines du lait de vache	05
Tableau V:	Caractéristique des principaux enzymes du lait.....	05
Tableau VI:	Composition globale du lait de différents mammifères.....	06
Tableau VII:	La flore microbienne du lait.....	08
Tableau VIII:	Traitement de conservation du lait frais.....	09
Tableau IX:	Incidence du procès en technologie fromagère.....	11
Tableau X:	Caractéristiques des deux modes habituels de coagulation du lait.....	15
Tableau XI:	Problèmes de fabrication.....	17
Tableau XII:	Composition des 4 grandes catégories de fromages blancs en France.....	18
Tableau XIII:	Principales bactéries lactiques.....	20
Tableau XIV:	Rôle des ferments en fromagerie.....	21
Tableau XV:	Les caractéristiques des cinq types du fromage à pâte fraîche.....	24
Tableau XVI :	Résultats de la mesure du pH.....	33
Tableau XVII:	Résultats de la mesure de l'acidité dornic.....	33
Tableau XVIII:	Teneur en matière sèche des échantillons analysés.....	34
Tableau XIX:	Taux d'humidité des échantillons analysés.....	35
Tableau XX:	Teneur en matière minérale des échantillons analysés.....	36
Tableau XXI:	Teneur en matière organique des échantillons analysés.....	37
Tableau XXII:	Teneur en matière azotée des échantillons analysés.....	38
Tableau XXIII:	Teneur en matière grasse des échantillons.....	40
Tableau XXIV:	L'extrait sec dégraissé des échantillons analysés.....	41
Tableau XXV:	Rapport gras/sec des échantillons analysés:.....	42
Tableau XXVI:	Sucres des échantillons analysés.....	43
Tableau XXVII:	Résultats de dénombrement de La flore totale aérobie mésophile.....	45
Tableau XXVIII:	Résultats de dénombrement des coliformes totaux.....	47
Tableau XXIX:	Résultats du dénombrement des coliformes thermotolérants.....	48
Tableau XXX:	Résultats de la recherche des staphylocoques.....	50
Tableau XXXI:	Résultats du dénombrement des levures.....	51
Tableau XXXII:	Résultats du dénombrement des moisissures.....	52
Tableau XXXIII:	Résultats de la recherche des streptocoques.....	53
Tableau XXXIV :	Résultats du dénombrement du Clostridium sulfito-réducteur.....	54
Tableau XXXV:	Résultats de la recherche des salmonelles.....	55
Tableau XXXVI :	Résultats de l'analyse organoleptique.....	57

Sommaire

Introduction	1
Première partie: Synthèse bibliographique	
I. Le lait	2
I-1. Définition du lait	2
I-2. Composition et valeur nutritionnelle.....	2
I-2-1. Composition du lait.....	2
I-2-1-1-Eau.....	2
I-2-1-2- Glucides.....	2
I-2-1-3-Matières azotées	2
I-2-1-4-Matière grasses	3
I-2-1-5- Vitamines.....	3
I-2-1-6-Minéraux.....	4
I-2-1-7-Biocatalyseurs.....	5
I-2-1-8-Autres constituants du lait	5
I-2-2. Valeur nutritionnelle	6
I-2-3-Qualités organoleptiques.....	6
I-2-3-1-La couleur.....	6
I-2-3-2-L'odeur.....	6
I-2-3-3-La saveur	6
I-3-Facteurs influençant la composition du lait	6
I-3-1-Facteurs intrinsèques.....	7
I-3-2-Facteur extrinsèque	7
I-4- Propriétés physicochimique du lait	7
I-4-1. pH.....	7
I-4-2. Acidité.....	7
I-4-3. Masse volumique	7
I-4-4. Densité.....	8
I-4-5. Point d'ébullition.....	8
I-4-6. Point de congélation.....	8
I-5- Flore microbienne du lait	8
I-5-Action de la flore du lait.....	8
I-6-Conservation du lait.....	9

II. Le fromage	10
II-1-1- Définition de fromage	10
II-1-2-Divers types de fromages	10
II-2-1-Fromages à pâte molle.....	10
II-1-2-2-Fromages à pâte pressée.....	11
II-2-3-Fromage fondu.....	11
II-1-2. La base de la Technologie fromagère.....	11
II-2-Fromage frais	13
II-2-1-Définition.....	13
II-2-2-Types du fromage frais.....	13
II-2-3-Fabrication du fromage frais	13
II-2-3-1-La maturation	13
II-2-3-2-Le caillage	14
II-2-3-3-L'égouttage	14
II-2-4-Les problèmes de fabrication.....	16
II-2-5-Valeur nutritionnelle des fromages frais	16
III. Bactéries lactiques.....	17
III-1. Généralités et historique	17
III-2. Définition des bactéries lactiques	18
III-3. Habitat.....	18
III-4. Classification des bactéries lactiques.....	18
III-5. Effet des bactéries lactiques sur les contaminants.....	19
III-5-1. Les acides organiques.....	19
III-5-2. Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	20
III-5-3. Dioxyde de carbone (CO ₂)	20
III-5-4. Le diacétyle	20
III-5-5. Les bactériocines	20
Deuxième partie: étude expérimentale	
I. Matériels et méthodes :.....	22
I-1. Matériels :.....	22
I-1-1. Matériels de laboratoire.....	22
I-1-2. Produits chimiques.....	22
I-1-3.Verrerie	23

I-1-4. Matériels biologiques.....	23
I-1-4-1. Milieux de culture.....	23
I.2. Méthodes	24
I-2-1. Prélèvement des échantillons.....	24
I-2-2. Transport et conservation des échantillons	25
I-2-3. Contrôles physicochimiques.....	26
I-2-3-1. Mesure de pH.....	26
I-2-3-2. Mesure de l'extrait sec	26
I-2-3-3. Mesure de l'acidité dornic.....	26
I-2-3-4. Détermination de la teneur en matière minérale.....	26
I-2-3-5. Détermination de la teneur en matière organique.....	27
I-2-3-7. Détermination de la teneur en matière grasse par la méthode acido-Butyrométrique	27
I-2-3-8. Détermination de la teneur en protéines	27
I-2-3-09- détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD).....	29
I-2-3-10- détermination de rapport gras/sec.....	29
I-2-3-11- Détermination de la teneur en sucres totaux.....	30
I-2-4. Contrôle microbiologique	30
I-2-4-1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales	30
I-2-4-2. Recherche et dénombrement des flores	31
a- Dénombrement de la flore totale mésophile FTAM.....	31
b- Dénombrement des coliformes totaux	31
c- Dénombrement des coliformes thermotolérant.....	
d- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	32
e- Dénombrement des levures et moisissures	32
f- Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur	32
g- Dénombrement des Staphylocoques.....	33
h- La recherche des Salmonelles.....	33
I-2-5. Contrôles organoleptiques.....	34
II-Résultats et discussion.....	34
I. Analyses physico-chimiques	33
I-1. pH.....	33
I-2. Acidité dornic	33
I.3. Matière sèche	34

I-4. Taux d'humidité	35
I-5. Matière minérale.....	36
I-6. Matière organique.....	37
I-7. Matière protéique.....	38
I-8. Matière grasse.....	40
I-9. Extrait sec dégraissé (ESD).....	40
I-10. Rapport gras /sec	41
I-11. Dosage des sucres totaux.....	42
II. Analyses microbiologiques	45
II-1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	45
II-2. Coliformes totaux.....	47
II-3. Coliformes thermotolérants.....	48
II-4. Staphylocoques	49
II-5. Levures et moisissures	51
II-5-1. Levures.....	51
II-5-2. Moisissures	52
II-6. Streptocoques	53
II-7. Clostridium sulfito-réducteur	54
II-8. Salmonelle.....	55
III. Analyse organoleptique.....	57
Conclusion.....	59

INTRODUCTION

Le lait est un aliment de premier choix dans l'alimentation quotidienne de l'homme vu de sa teneur équilibrée en nutriments de base (protides, lipides et glucides), sa richesse en calcium, en vitamines et en divers sels minéraux.

La production du lait doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'ils peuvent menacer la santé humaine. C'est un produit microbiologiquement instable, car il constitue un milieu favorable à la prolifération de plusieurs flores microbiennes. Pour assurer une bonne protection de consommateur, il convient de maîtriser les conditions d'hygiène lors de la traite jusqu'au produit fini.

Le fromage est un produit de transformation du lait, Il existe une très grande variété du ce lui-ci dans le monde, dérivant d'une vingtaine de types élaborés selon la nature du lait et les technologies mise en œuvre (Eck, 1987). Parmi ces types, le fromage à pâte fraîche est considéré comme l'un des fromages les plus consommés et appréciés ; Il constitue une forme ancienne de conservation des protéines, de la matière grasse, ainsi que d'une partie de calcium et de phosphore.

Dans différents pays du monde la caractérisation du fromage est un sujet de pointe. Les études portent sur le plan de leurs caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et sensorielles.

C'est à l'égard de cette vision que s'inscrit notre étude afin d'enrichir les renseignements pratiques à ce sujet.

Notre projet comporte deux parties, une étude bibliographique et une partie pratique, qui englobe les analyses physicochimiques, microbiologiques et organoleptiques de cinq marques du fromage à pâte fraîche les plus consommés dans la wilaya de Jijel. Afin d'évaluer leur qualité nutritionnelle d'une part, et juger d'autre part sa comestibilité et l'efficacité des différents traitements réalisés au cours de la fabrication.

*Synthèse
bibliographique*

I. Le lait

I-1. Définition du lait

Le lait est défini comme « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée ». Il doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation (Romaine *et al.*, 2008).

I-2. Composition et valeur nutritionnelle

I-2-1. Composition du lait

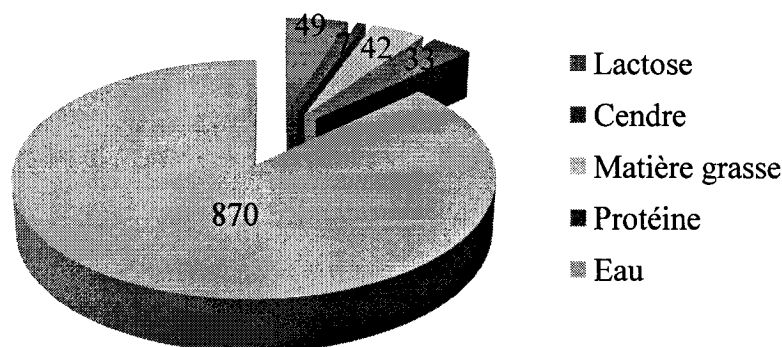


Figure 1 : Composition globale de lait de vache en g/l (Romain *et al.*, 2008).

I-2-1-1-Eau

L'eau représente environ le neuf dixième de la composition totale du lait (Aissaoui, 2004). C'est le composé le plus abondant : 870 g par litre ; dans elle sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche (Jacques, 1998).

Il est le constituant le plus important du lait, en pourcentage (Vignola, 2002).

I-2-1-2- Glucides

Le lactose est le glucide majeur du lait de vache. Il est la principale source d'énergie de la plupart des groupes bactériens du lait (Aissaoui, 2004).

Le lactose est un disaccharide composé de glucose et de galactose, il est présent en quantités importantes (de 45 à 50 g/litre) (FAO, 1985).

D'autres glucides peuvent être présents en faibles quantités, comme le glucose et le galactose qui proviennent de l'hydrolyse du lactose; en outre certains glucides peuvent se combiner avec les protéines (Vignola, 2002).

I-2-1-3-Matières azotées

Les matières azotées, protéides ou protéines du lait constituent un ensemble complexe, dont la teneur totale est voisine de 35 g/litre. Ce taux est élevé en comparaison des quantités présentes dans le lait de femme (environ 12 g/litre) (FAO, 1985).

Le tableau I représente les dérivés azotés du lait.

Tableau I :Les dérivés azotés du lait cru de vache (Fredot, 2006).

Matières azotées			
Protéines(95%)		Azote non protéiques(5%)	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 80% Caséines α, β, κ sous forme de micelles de Caséines. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 20% protéines solubles =protéines du lactosérum - βlactoglobuline : allergisante et non présente dans le lait humain - αlactalbumine -Immunoglobulines -Autres protéines (protéoses-peptones, métalloprotéines). Certains fixent le fer (lactotransferrine et transferrine). 	<ul style="list-style-type: none"> Presque 5%Urée -Acideurique -Acideaminélibres -Nucléotides. -Les lacténines 	<ul style="list-style-type: none"> Inferieur à 1% Divers enzymes : -lipases -plasmine -protéases -oxydase -phosphatases alcalines -lysozyme...etc.

I-2-1-4-Matière grasses

La matière grasse (MG) est présente dans le lait sous forme de globules gras (0,1 à $10 \cdot 10^{-6}$ m de diamètre), elle est essentiellement constituée de triglycérides (98%)(**Jacques, 1998**).

Ces globules sont entourés d'une membrane protectrice faite principalement de phospholipides et de protéines. Cette membrane constitue une barrière naturelle contre l'accès de la lipase naturelle du lait ou d'enzymes étrangères (**Collomb et Spahni, 1995**).

La matière grasse du lait est constituée de 65 % d'acides gras saturés et de 35 % d'acides gras insaturés. Parmi ceux-ci, la proportion d'acides gras polyinsaturés est faible (3 %).

Elle présente: Les phospholipides (phosphatidylcholine, phosphatidyléthanolamine, sphingomyéline), qui représentent moins de 1 % de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés (**Jacques, 1998**).

I-2-1-5- Vitamines

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantités constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) en quantités variables dépendant de facteurs exogènes (race, alimentation, radiations solaires...etc.) (**Jacques, 1998**).

Le tableau II représente les différents types de vitamines avec leur concentration.

Tableau II : Composition vitaminique moyenne du lait cru de vache(Vignola, 2002)

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

D'une manière générale, le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. Cependant, il existe des laits sur le marché à teneur garantie en vitamines pour s'affranchir des facteurs exogènes. Ce sont surtout les vitamines A, B₁ et B₂ qui constituent la valeur nutritive du lait(Jacques, 1998).

Le tableau III représente l'effet du traitement de la pasteurisation sur la composition vitaminique du lait.

Tableau III : L'effet du traitement de la pasteurisation sur la composition vitaminique du lait (en % de perte) (Vierling, 2008).

Vitamines(%) Traitement	B ₁	B ₂	B ₆	B ₁₂	B ₉	C	E
Pasteurisation	<10	0	10	10	5	25	0

I-2-1-6-Minéraux

Les minéraux (ou matière saline) sont présent dans le lait (7,3 g/litre environ), soit en solution dans la fraction soluble. Soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore)(FAO,1985).

Le tableauIVreprésente les constituants majeurs des matières salines du lait de vache.

TableauIV: Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (FAO,1985).

Constituents	Teneurs moyennes (g/l)
Potassium (K)	1.50
Calcium (Ca)	1.25
Magnésium (Mg)	0.12
Phosphore (P)	0.95
Chlore (NaCl)	1.00
Soufre	0.35
Acide citrique	1.80

I-2-1-7-Biocatalyseurs

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes: les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température. En effet, chaque enzyme possède un pH et une température d'activité maximale (Vignola, 2002).

Le tableau V présente les caractéristiques des principaux enzymes du lait.

Tableau V : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 2002).

Groupes d'enzymes		Classes d'enzymes	Activité maximale		
			pH	Température (°C)	Substrats
Hydrolyse	Estérase	Lipases	8,5	37	Acide gras à courte chaîne
		Phosphatases alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
		Phosphatases acide	4,0-5,2	37	Esters phosphoriques
	Protéase	lysosyme	7,5	37	Parois cellulaires microbiennes
		plasmine	8	37	Caséines
Déshydrogénases		Sulphydrioxydase	7	37	Protéines peptides
Oxydases		xanthine oxydase	8,3	37	Bases puriques
Oxygénases		lactoperoxydase	6,8	20	Composés réducteurs et H ₂ O ₂
		catalase	7	20	H ₂ O ₂

I-2-1-8-Autres constituants du lait

Le lait contient toujours des cellules somatiques (globules blancs ou leucocytes). Leur taux est faible dans le lait qui provient d'un pis sain, mais augmente si le pis est infecté.

Le lait contient des gaz 5 à 6 % par volume dans le lait frais du pis, mais à l'arrivée à la laiterie, la teneur en gaz peut atteindre 10% par volume. Les gaz sont constitués essentiellement de dioxyde de carbone, d'azote et d'oxygène (Anonyme, 1995).

I-2-2. Valeur nutritionnelle

Le lait et les produits laitiers sont des excellentes sources de calcium et de protéine. Ces aliments peuvent également être une source de graisse, particulièrement graisse saturée (Museiger, 2011).

Pour le lait, il contient presque tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance du jeune mammifère. Un litre de lait d'origine bovine contient environ 50 g de lactose, 32 g de protéines et 40 g de matières grasses. Le potentiel énergétique d'un litre de lait est respectivement de 2720 kJ, 2090 kJ et 1460 kJ suivant qu'il est entier, demi-écrémé ou écrémé (Romain *et al.*, 2008).

Le tableau VI montre la composition globale du lait de différents mammifères.

Tableau VI : Composition globale du lait de différents mammifères (Romain *et al.*, 2008).

Composition (g/l)	EST	MAT	Protéines	Caséines	Urée	MG	Lactose	Cendres
Lait								
Femme	12,6	-	1,6-1,2	0,5-0,8	-	3,75	6 à 7	0,21
Vache	13,0	3,9	3,2	2,8	0,014	3,9	4,9 (4 à 6)	0,9
Brebis	18,4	5,7	5,5	4,5	0,035	7,19	4,7	0,9
Chèvre	-	3,1	2,8	2,3	0,0385	3,38	4,4 à 4,7	0,5 à 0,8
Jument	-	-	2,0	-	-	-	-	0,4
Chamelle	12,4	-	3,0	-	-	5,38	3,3	0,7

MAT: Matières azotées totales.

EST: Extrait sec total.

MG: Matières grasses.

I-2-3-Qualités organoleptiques

I-2-3-1-La couleur

Le lait est de couleur blanchâtre, qui est due en grande partie à la matière grasse et au pigment de carotène (Fredot, 2006).

I-2-3-2-L'odeur

Le lait grâce à la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation de l'animal et à la conservation du lait (Fredot, 2006).

I-2-3-3-La saveur

Elle varie en fonction de la température de dégustation et de l'alimentation de l'animal (Fredot, 2006).

I-3-Facteurs influençant la composition du lait

La composition du lait est variable : elle dépend bien entendu de génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais aussi de l'âge, la saison, de la durée de lactation, et de l'alimentation, qui sont des facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur le lait.

Certains de ces facteurs peuvent être contrôlés et utilisés pour améliorer la rentabilité laitière d'un animal, alors qu'on ne peut pas agir sur d'autres (Debry, 2001).

Les animaux produisant du lait doivent être en bonne santé et un programme efficace de suivi sanitaire devrait être mis en place (Anonyme, 2004).

I-3-1-Facteurs intrinsèques

I-3-1-1.Stade de lactation

Les teneurs du lait en matière grasse et protéique évoluent de façon inverse à la quantité de lait produit. Elles sont élevées au début de lactation (période colostrale) et chutent jusqu'à un minimum au 2^{ème} mois de lactation ; après un palier de 15 à 140 jours. Les taux croissent plus rapidement dans les trois derniers mois de lactation (Debry, 2001).

I-3-1-2-Age ou numéro de lactation

On peut considérer que l'effet de l'âge est très faible, on observe une diminution du taux butyrique de 1% et du taux protéique de 0,6% (Debry, 2001).

I-3-1-3-Facteurs génétiques

Généralement les races les plus productrices de lait, présentent un plus faible taux de matières grasses et protéiques, or le choix d'une race repose sur un bilan économique global (Debry, 2001).

I-3-2-Facteur extrinsèque

I-3-2-1-Facteur climatique et saisonniers

De façon immuable, le taux butyrique passe par un minimum en Juin-juillet et par un maximum à la fin de l'automne ; la teneur en protéine passe par deux minimums : un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été et par deux maximums : à la mise à l'herbe et la fin de la période de pâturage (Debry, 2001).

I-3-2-2.Facteurs alimentaires

L'alimentation est un des principaux facteurs de variation du lait, elle est importante.

Une réduction courte et brutale du niveau d'alimentation se traduit par une réduction importante de la quantité produite et une modification de la composition du lait (Debry, 2001).

I-4- Propriétés physicochimique du lait

I-4-1.pH

Le pH du lait frais normal est de l'ordre de 6,7. Cette valeur est due en grande partie aux groupements basiques ionisables, acides dissociables des protéines, au groupement esters phosphorique des caséines et aux acides phosphorique et citrique.

Des valeurs inférieures à 6,5 ou supérieures à 6,9, sont anormales pour le lait de vache (Jacques, 1998).

I-4-2. Acidité

Le lait de vache est légèrement acide. Un lait frais, dont le lactose n'a pas encore été transformé en acide lactique, a une acidité de l'ordre de 16°D (Jacques, 1998).

I-4-3. Masse volumique

La masse volumique (le plus souvent exprimée en g/ml ou en kg/l) est une propriété physique qui varie selon la température (Vignola, 2002).

Les valeurs moyennes concernant le lait de vache se situent entre 1,02g et 1,032 g/ml. La masse volumique du lait augmente avec sa richesse en matière sèche dégraissée et diminue pour se rapprocher de 0,926 g/ml lorsque son taux butyreux s'accroît (Jacques, 1998).

I-4-4.Densité

La densité du lait à 20°C est en moyenne environ 1,030 et change normalement dans la marge de 1,027 à 1,033 (Hui, 1993).

I-4-5.Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Le point d'ébullition subit la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 105°C, cette propriété physique diminuant avec la pression, ce principe est appliqué dans le procédé de concentration du lait (Vignola, 2002).

I-4-6.Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence des solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de -0,530°C à -0,575°C avec une moyenne de -0,555 °C. Un point de congélation supérieur à -0,530°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'unecryoscopie (Vignola, 2002).

I-5- Flore microbienne du lait

Les laits crus ont un avantage incomparable par rapport aux laits pasteurisés, thermisés ou microfiltrés par sa richesse en flore microbienne(Arnaud, 2003).

Le Lait obtenu par une traite aseptique n'est pas stérile. Il contient 1000 à 5000 micro-organismes par millilitre, essentiellement des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux du pis et des canaux galactophores.

Le tableau VII illustrela flore microbienne du lait.

Tableau VII :La flore microbienne du lait(Leyral et Vierling,2007).

Flore constante		Flore accidentelle	
Bactéries des canaux galactophores.	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite.	Bactéries d'origine fécale.	Bactéries présentes sur l'animal malade.
<i>Lactobacillus</i> Streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , entérobactéries, microcoques, corynébactéries, <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> , <i>Listeria</i>

La traite devrait être effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène de même que la manipulation et le stockage du lait ensuite. L'équipement de la traite et de stockage du lait devrait être adapté et bien entretenu(Anonyme,2004).

I-5-Action de la flore du lait

I-5- 1.Fermentation homo et hétérolactique du lactose avec acidification du lait

Un tel processus conduit à la précipitation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température ambiante, le phénomène sera plus ou moins rapide et les bactéries intervenantes sont différentes: *Streptococcus lactis* de 10 à 37°C, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* au-dessus de 37 °C.

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 protéolytiques : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, microcoques...etc. (Leyral et Vierling, 2007).

I-5-2.Protéolyse

La conservation du lait cru, de son recueil jusqu'à sa consommation, est assurée par une réfrigération aux environs de +4 °C, cette température sélectionne les groupes bactériens psychrophiles : *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, certains streptocoques...etc, dont l'activité protéolytique peut s'exercer sur la caséine du lait. Il en résulte une altération lente du lait se traduisant par des modifications organoleptiques: saveur amère, saveur de pomme de terre (Leyral et Vierling, 2007).

I-5- 3.Lipolyse

De nombreuses espèces psychrophiles protéolytiques sont aussi lipolytiques et dégradent les globules graisseux du lait. C'est le cas de certains *Pseudomonas* et de *Bacillus cereus*. Les acides gras insaturés résultant de la lipolyse peuvent être oxydés (rancissement) (Leyral et Vierling, 2007).

1-6-Conservation du lait

Le lait est un produit vivant, facilement contaminé, il doit être traité pour pouvoir être transporté et vendu (Roudaut et Lefrancq, 2005). En raison de son instabilité physique et/ou bactériologique et /ou enzymatique, il a une durée de vie limitée et doit être maintenu au froid (Deforges, 1999).

Dans les régions ou les saisons où la température est normalement basse, le lait a spontanément une meilleure aptitude à se conserver. D'autres procédés ont été proposés, notamment l'addition au lait d'eau oxygénée. Malgré les avantages que celle-ci peut présenter dans certains cas et sa décomposition rapide, son emploi est interdit dans divers pays où l'addition de tout conservateur est considérée comme une fraude et aussi parce qu'elle a des conséquences défavorables sur certains constituants du lait (Weber, 1985).

Le maintien du lait au froid a essentiellement pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il ne peut ni améliorer la qualité initiale du lait ni entraîner la mort des bactéries (Weber, 1985).

Le tableau VIII représente le traitement de conservation du lait frais.

Tableau VIII:Traitement de conservation du lait frais (Roudaut et Lefrancq,2005).

	Lait frais	
	Lait cru	Lait frais pasteurisé
traitement	Réfrigération à la ferme	Pasteurisation (75° C pendant 15 secondes)
objectif	Le lait reste intact, avec sa flore d'origine	Destruction totale des germes pathogènes.
Lieu de conservation	réfrigérateur	Réfrigérateur
Durée de conservation	48 H	Une semaine
Le conseil du nutritionniste	Faire bouillir Avant de consommer	Consommer directement sans faire bouillir. Une fois l'emballage est ouvert, ces laits se conservent deux à trois jours au réfrigérateur

II-. Le fromage

II-1- Définition de fromage

La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse, la teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23g pour 100g de Fromage (Jeantet *et al.*, 2007).

C'est une conserve de deux constituants insolubles du lait, la caséine, qui est obligatoirement la charpente, et la matière grasse qui est présentée en proportion variable (Alais *et al.*, 2008).

Les normes du codex alimentaire donnent au fromage la définition suivante : «le fromage est le produit frais ou affiné, de consistance solide ou semi-solide, dont lequel le rapport protéine de sérum/caséines ne dépasse pas celui du lait» (Aissaoui, 2004).

II-2-Divers types de fromages

II-2-1-Fromages à pâte molle

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

Leur humidité est moyenne (50 à 55%). On distingue ;

- Les fromages à pâte molle « moussée », généralement à croûte moisie (camembert, brie, ...etc.)
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée (munster, livarot, Pont-l'Evêque, ... etc.)
- Les fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes) (roquefort et autres « bleus », ...etc.) (Guiraud, 1998).

II-2-2-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). On distingue:

- Les fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) (cantal,...etc.)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (St paulin, reblochon,... etc.)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie (St nectare Tomme de Savoie,... etc.)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (Edam,...etc.)
- Les fromages à pâte pressée cuite avec ouverture (Emmenthal, Comté,...etc.)
- Les fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort,...etc.)
- Les fromages à pâte pressée très dure (très brassé Cheddar,... etc.)(Guiraud, 1998).

II-2-3-Fromage fondu

Ils sont obtenus par fusion de certaines espèces à pâte dure, auxquelles on ajoute éventuellement du lait en poudre, du beurre, de la crème, de la caséine, et parfois des arômes (Apfelbaumet al., 2004).

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

II-2-5. La base de la technologie fromagère

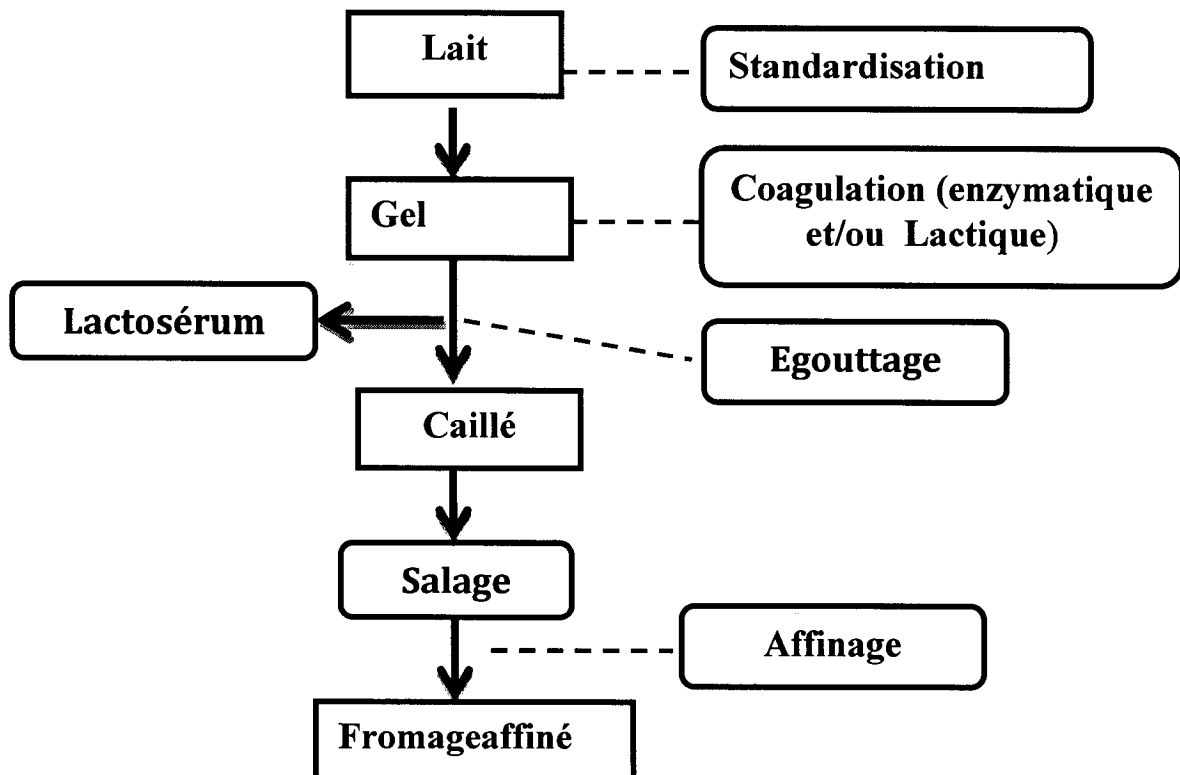


Figure 2 : Base de technologie du fromage (Jeantetetal., 2007).
Le tableauIX représente l'incidence du procès en technologie fromagère.

Tableau IX : Incidence du procès en technologie fromagère (Branger et Roustel, 2007).

Etapes principale du procès de fromagerie	Rôle de l'étape	Incidence fermentaire
Préparation des laits -Standardisation -Traitements thermiques -Homogénéisation	-Correction des concentrations des différents composés chimiques -Réduction des globules gras de la matière grasse	La préparation des laits est très importante puisqu'elle permet d'augmenter leur fermentescibilité (facteur de croissance, maturation...)
Coagulation	Présure et/ou lactique : gel élastique à dominance présure et gel friable à dominance lactique	En technologie de la coagulation du présure, l'acidification au-delà de pH 5 n'est pas souhaitée afin d'éviter une déminéralisation (solubilisation du calcium à pH acide). Le mélange de ferments doit donc être spécifique pour chaque technologie.
Egouttage	-Permet d'éliminer progressivement la phase hydrique (lactosérum). -Les paramètres favorisant l'égouttage sont : La taille du grain de caillé, les effets mécaniques (pressage), les cycles de température.	l'acidification en cuve est déterminante sur la fermeté du gel et donc sur la facilité d'égouttage.
Affinage	Remontée du pH qui permet les réactions de lipolyse et protéolyse (pH 5-6)	Rôle important des levures et des moisissures écosystème complexe et risque d'hétérogénéité dans le fromage.

II-2-Fromage frais

II-2-1-Définition

Selon la norme du *Codex alimentarius* (norme CODEX STAN 221-2001 pour les fromages non affinés y compris les fromages frais) et la norme internationale FAO/OMS A-6 (1978, modifiée en 1990), le fromage frais ou non affiné est le fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication (Luquet et Corrieu, 2005).

Ce sont des fromages à égouttage long qui n'ont subi que la fermentation lactique (Apfelbaumetal., 2004).

II-2-2-Types du fromage frais

- ❖ **Le petit suisse** : est un fromage frais fabriqué avec du lait de vache emprésuré à pâte homogène, mole et non salée. La matière grasse est de 40-60% de l'extrait sec qui lui-même est de 23-30%.
- ❖ **Le demi-sel** : cette dénomination est réservée à un fromage frais fabriqué avec du lait de vache emprésuré, à pâte homogène, ferme, salé à 2%. La matière grasse est à 40% de l'extrait sec qui lui-même doit être égale ou supérieur à 30%.
- ❖ **Fromage blanc** : la dénomination de fromage blanc est réservée à un fromage non affiné que, lorsqu'il est fermenté n'a pas subi d'autres fermentation lactique, la teneur minimale en matière sèche du produit doit être de 23g pour 100g de fromage (Daniel *et al.*, 2002).

II-2-3-Fabrication du fromage frais

Six grandes étapes sont utilisées pour fabriquer les fromages affinés, alors que 3 étapes seulement suffisent pour obtenir des fromages frais (Fredot, 2006).

La pasteurisation du lait n'est pas obligatoire dès que le producteur fermier transforme uniquement le lait de son exploitation et qu'il dispose des certificats sanitaires requis pour son troupeau.

Le lait cru possède naturellement des ferments lactiques qui contribuent à l'arôme unique des produits au lait cru. Cependant une grande vigilance sur l'hygiène, à toutes les étapes de fabrication, depuis la traite jusqu'à la vente au consommateur, est requise.

La pasteurisation détruit les micro-organismes contenus naturellement dans le lait. Apporte une sécurité très importante sur le plan sanitaire, mais au détriment de la typicité des produits puisque les ferments lactiques naturels sont remplacés par des ferments de culture industrielle non liés au terroir d'origine (Daniel *et al.*, 2002).

D'une manière générale, le fromage frais commercialisé est fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles : la maturation, la coagulation et l'égouttage.

II-2-3-1-La maturation

C'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. Le recours à des levains artificiels du commerce n'est cependant pas toujours une nécessité absolue, car le fermier producteur de lait a lui-même la possibilité de cultiver un levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait (Fredot, 2006).

II-2-3-2-Le caillage

Son but est d'assurer la précipitation de la caséine grâce au caillage du lait. Il consiste en la coagulation du lait c'est-à-dire son passage de l'état liquide à l'état solide ce qui forme le caillé. Ainsi, après avoir écrémé partiellement ou non le lait, le fromage la verse dans une cuve en cuivre et le chauffe à environ 30 °C. Il y est ajouté ensuite des agents responsables de la coagulation qui ont lieu au bout d'une demi-heure environ (Fredot, 2006).

II-2-3-3-L'égouttage

Un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé par conséquent a une forte humidité. Cependant, un gel présuré est un gel compact, solide où l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles que les actions mécaniques de pression.

Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (Ouali, 2003).

Le tableau X montre les caractéristiques des deux modes habituels de coagulation du lait.

Tableau X : Caractéristiques des deux modes habituels de coagulation du lait (Ouali, 2003).

	Coagulation par	
	Action des enzymes	Acidification
Processus biochimique	Action enzymatique (lactose non dégradé)	Fermentation lactique
Fermentation de la caséine	Transformation en paracaséine, séparation d'une partie non protéique	Pas de modification chimique de la protéine elle-même.
pH	6,8	Vers 4,6
Composition du coagulum	Phospho-paracaséinate de calcium.	Caséine (démminéralisée)
Nature du coagulum	Gel élastique imperméable	Gel friable sans cohésion
Synérèse (réaction naturelle du gel et expulsion du sérum).	Rapide	Lente

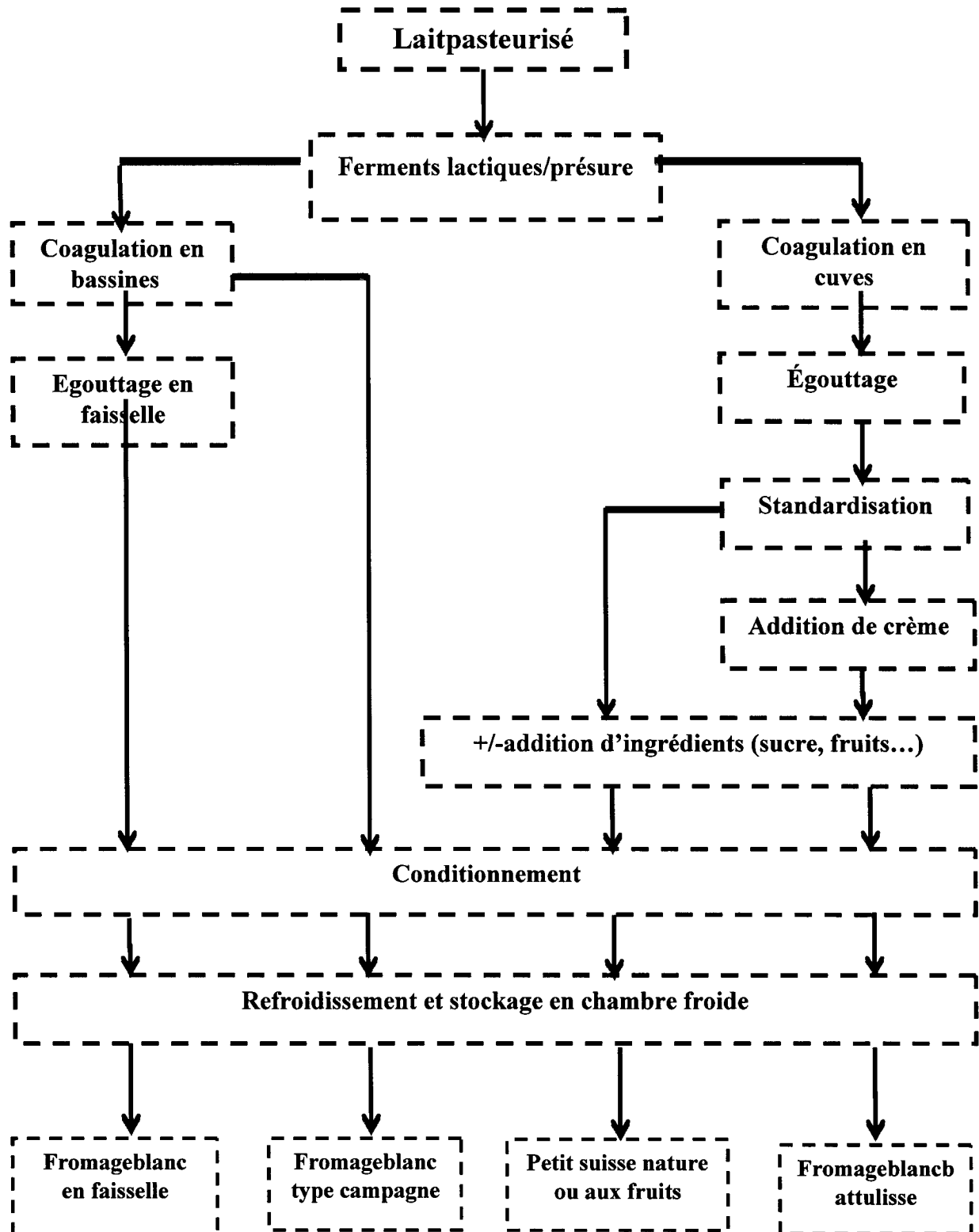


Figure 3: Diagramme de fabrication des fromages blancs et des petits suisses (Fredot, 2006).

II-2-4-Les problèmes de fabrication

Le tableau XI représente les principaux problèmes de fabrication du fromage.

Tableau XI : Problèmes de fabrication du fromage (Daniel *et al.*, 2002).

Nature	Origine possible
Formation d'une peau en surface du lait au moment de la pasteurisation qui se retrouve dans le produit fini.	-Séchage des protéines du lait en surface. -Couvrir la cuve de pasteurisation et agiter tout au long de la pasteurisation.
Texture granuleuse. Le caillé se rétracte beaucoup et se fendille.	-Acidification trop rapide. -Réduire la dose d'ensemencement, la température de coagulation ou changer les ferments.
Texture sableuse.	-Température de maturation/coagulation trop élevée (diminuer dans ce cas de 1 à 2 °C).
Texture molle.	Température de pasteurisation insuffisante, elle doit être comprise entre 80 et 85°C, acidification insuffisante du caillé ou dose de présure trop faible.
Mauvais goût, goût d'amertume au cours du stockage.	-Ajout de crème fraîche rance ou amère. -Mauvaise condition d'hygiène au cours de la fabrication.
Coagulation du lait irrégulière. Le fond de la cuve ou de la bassine est moins ferme que la surface après coagulation.	-Mauvaise répartition de la chaleur (bassine posée sur du carrelage froid). -Mauvaise dispersion de la présure. Il est souhaitable de diluer la présure dans 10 fois son volume d'eau. Le lait doit être agité avec l'ajout de la présure et le reste 20 secondes après.
Montée du caillé à la surface. Le caillé augmente de volume. La coupe du caillé est parsemée de trous et le sérum est gris.	-Contamination par des microorganismes (bactéries coliformes ou levures). -Mauvaise hygiène du lait ou opérations de fabrication.

II-2-5-Valeur nutritionnelle des fromages frais

Les fromages frais peuvent être proposés à l'ensemble des consommateurs ayant un système digestif fragile ou délicat. Pour les enfants, ils peuvent être servis dès le début de la diversification alimentaire (Fredot, 2006).

Les fromages frais présentent des qualités nutritionnelles importantes en tant que concentré de protéine, les produits laitiers apportent les protéines de hautes valeurs nutritionnelles. Elles jouent un rôle important dans le développement et le maintien de la masse musculaire (Fredot, 2006).

Ils présentent aussi une teneur en calcium non négligeable, il est essentiel pour la croissance car il joue un rôle déterminant dans la formation et le développement des os (Fredot, 2006).

Quelle que soit la catégorie du fromage, la teneur en glucides reste sensiblement identique (Michel *et al.*, 2003).

Les produits laitiers contiennent un large éventail de minéraux et oligoéléments ainsi que de nombreuses vitamines.

De plus, il existe actuellement sur le marché, de nombreux produits enrichis tel que les produits:

« **A teneur garantie en** » : les micronutriments sont ajoutés pour compenser les pertes intervenant lors des étapes de fabrication.

« **Enrichi en** » : il y a ajout de certains nutriments ce qui permet de mieux répondre aux besoins spécifiques de certains groupe de consommateurs (exemple : enfants, adolescents et personnes âgées). Ainsi, l'enrichissement peut se faire avec des vitamines mais aussi certains minéraux (fer, zinc, magnésium) ou même de protéines (Fredot, 2006).

En revanche, les laitages sont une source modeste de magnésium et oligo-éléments. Le risque d'anémie ferri-tine est d'ailleurs réel chez les jeunes enfants soumis trop longtemps à une alimentation exclusivement lactée (Ireland *et al.*, 2002).

Le tableau XII montre la composition des 4 grandes catégories de fromage blanc en France.

Tableau XII : Composition des 4 grandes catégories de fromages blanc en France (en g/100g de fromage) (Michel *et al.*, 2003).

Catégorie Composition	Blanc battu			Petit suisse	Campagne	Demi-sel
	G/EST(%)	0	20	40	40	43
Protéines	8,2	7,8	7,3	10	4,0	15
Lipides	0,2	3,4	8,5	9,4	7,1	13,2
Glucides	3,7	3,6	2,7	3	3,2	3
Calcium (mg)	126	117	85	100	109	83
Calorie (KJ)	47	80	117	164	93	192

G/EST : gras /extrait sec totale

III. Bactéries lactiques

III-1. Généralités et historique

L'homme a utilisé depuis des millénaires la fermentation pour conserver ses aliments et leur donner une structure et un gout différent (Martin et Robert, 2001; Tailliez, 2001).

La première bactérie lactique a été isolé en 1878 à partir de lait fermenté par Lister, il a attribué à ces microorganismes le nom de « *Bacterium lactis* » (Cogan, 1980). Au cours de la fermentation, les bactéries se multiplient et produisent des composés conférant à l'aliment ses propriétés organoleptiques comme l'acidité, la saveur, l'arôme et la texture (Yann, 2003).

Les fromages frais résultent d'une fermentation lactique du lait à partir d'une culture mixte de lactocoques et de *Leuconostoc*. Ces bactéries lactiques sont acidifiantes car elles métabolisent le lactose en acide lactique, et elles sont aussi aromatisantes car elles peuvent métaboliser le citrate en divers composés d'arômes (Azari, 1999).

III-2. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des coques ou des bâtonnets, Gram positif, immobiles, non sporulées, catalase négative et généralement nitrate réductase négative. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Lorsque l'acide lactique est le seul produit terminal, il s'agit des bactéries lactiques homofermentaire. Parfois, en plus de l'acide lactique, d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits : c'est le cas des heterofermentaires (Bekhouche, 2006).

Les bactéries lactiques sont aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles. Elles ont des besoins complexes en facteurs de croissance, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques, des vitamines B et des acides gras. C'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (Bekhouche, 2006).

III-3. Habitat

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels (Bekhouche, 2006). Les plantes et la peau des animaux constituent généralement l'habitat naturel de *Lc.lactis*, il est admis que la présence des lactocoques dans le lait cru revient à une contamination pendant la traite par les fourrages. Cependant l'habitat le plus fréquent de *Lc.lactis* demeure le lait, les laits fermentés et les fromages (Castala et Montel, 2008).

III-4. Classification des bactéries lactiques

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone.

Tableau XIII : Principales bactéries lactiques (Boujema, 2008)

Genre	Morphologie	Fermentation	Température d'optimisation	Nombre d'espèce
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaires Ou Hétérofermentaires	Thermophiles ou Mésophiles	Groupe I : 23 Groupe II : 16 Groupe III : 22
<i>Carnobactérium</i>	Bacilles	Hétérofermentaires	Psychrotrophes	6
<i>Lactobacoccus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles ou Mésophiles	19
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	13
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	2
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles	7
<i>Tetragenococcus</i>	Coque	Homofermentaires	Mésophiles	1
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	11
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	1
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

III-5. Effet des bactéries lactiques sur les contaminants

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire lors de leur croissance, des composés actifs à savoir les acides organiques qui acidifient le milieu, des dérivés du métabolisme de l'oxygène (H_2O_2) et des substances naturelles de nature protéique douées d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de germes d'altération (Allouche *et al.*, 2010).

III-5-1. Les acides organiques

L'activité antimicrobienne d'un acide organique dépend de sa nature (acide fort et faible). Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, sont produits par les bactéries lactiques au cours de processus de fermentation alimentaire. Ces acides agissent au niveau de la membrane cytoplasmique en inhibant les systèmes membranaires de transport actif (Baliarda, 2003).

III-5-2. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

L'H₂O₂ est un puissant oxydant produit par de nombreuses espèces de bactéries lactiques tel que les *Lactococcus* (Haines et Harmon, 1973 ; Ito *et al.*, 2003), qui sont dépourvues de catalases ; catalysant la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène (Baliarda, 2003).

Il peut donc s'accumuler dans le milieu dans lequel il est produit. Il inhibe ainsi différents microorganismes par l'oxydation des groupes sulfhydryles de leurs protéines et par dénaturation de leurs enzymes (Dortu, 2008; Yang, 2000).

III-5-3. Dioxyde de carbone (CO₂)

Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone (CO₂) comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui peut être toxique pour les microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Toutefois, le dioxyde de carbone peut aussi, à faible concentration, stimuler la croissance de certaines bactéries (Baliarda, 2003).

III-5-4. Le diacétyle

Le diacétyle est un produit du métabolisme du citrate qui est responsable de l'arôme des produits laitiers. Les bactéries à Gram négatif, les levures et les moisissures sont plus sensibles au diacétyle que les bactéries à Gram positif (Baliarda, 2003).

III-5-5. Les bactériocines

Les bactériocines sont des produits de la synthèse ribosomique bactérienne libérés dans le milieu extracellulaire sous forme naturelle, ou modifiée (Baliarda, 2003). Certaines souches de bactéries lactiques produisent des bactériocines à spectre d'action plus ou moins large comme la nisine et la lactostrepcine produites par *Lc. Lactis*, la diplosine par *Lc. Cremoris*, la mesentérocin et la leucocine produites par *Ln. mesenteroides* (Hélène, 2007).

Le tableau XIV montre le rôle des ferments en fromagerie.

Tableau XIV : Rôle des ferments en fromagerie (Branger et Roustel, 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 de bactéries nuisibles ▪ Modification de la micelle de caséine <ul style="list-style-type: none"> ✓ Modification de structure du caillé ✓ Classification des fromages suivant le niveau de déminéralisation. <p>Solubilisation des minéraux liés à la caséine</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Action sur l'égouttage des caillés (teneur en eau) ▪ Action sur la texture des fromages <ul style="list-style-type: none"> ✓ Si la pâte est minéralisée : texture souple homogène ✓ Si la pâte est déminéralisée : texture cassante, friable <p>Diminution de la concentration en lactose</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Production de lactate <ul style="list-style-type: none"> ✓ Action sur la saveur des fromages ✓ Orientation des fermentations futures (lactates et fermentations propionique et butyriques)
Transformer les sucres en CO₂	<p>Libération du CO₂</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ouverture utile en pâtes molles et pâtes persillées. ▪ Ouverture nuisible en pâtes pressées
Transformer le citrate	<p>Formation de diacétyl (arôme)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Recherché en produits frais
Transformer la caséine	<p>Protéolyse pendant la maturation</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Activation de la croissance (peptides, acides aminés) <p>Protéolyse pendant l'affinage</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Modification de la texture (couleur, saveur)
Produire des polysaccharides	<p>Epaississement du milieu : pâte fraîches</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Augmentation de viscosité par libération de polysaccharides pendant la fermentation lactique

Partie
expérimentale

*Matériel et
méthodes*

I. Matériels et méthodes :

I-1. Matériels :

I-1-1. Matériels de laboratoire

- Etuve de 37° C et de 44°C « Memmert 100-800 »
- Four à moufle réglable de 450°C à 500°C « furnace 6000 »
- Balance électrique « scout pro SPU 202 »
- pH mètre « Hanna »
- Bain marie « Grehardt »
- Four Pasteur réglable à 120°C « Controls ».
- Microscope optique « Olympus »
- Compteur colonie « Funke gerber »
- Etuve de 103+/-2°C «Mamert »
- Agitateur vortex « Heidolph REAX top »
- Réfrigérateur pour la conservation des échantillons
- Appareil à distiller de Kjeldahl
- Rampe de minéralisation
- Une pince de bois
- Spectroscopie
- Butyromètre
- Micropipette.

I-1-2. Produits chimiques

- NAOH (N/9)
- Ethanol (95%)
- Lugol
- Fushine
- Violet de gentiane
- Phénol phtaléine
- Acide sulfurique
- Alcool isoamylique
- Sulfate de potassium
- Catalyseur de minéralisation Prolabo(CUSO₄, K₂ SO₄)
- Bille de verre
- Acide sulfurique titré (titre connu et voisin de 0,05mol/L)
- Solution d'acide borique
- Réactif de Tashiro
- Phénol (80 %)
- Solution de glucose (0,05%)

I-1-3. Verrerie

- Eprouvette de 20ml et 100ml.
- Pipettes graduées de 1,2 et 5ml.
- Pipettes pasteur.
- Pipettes graduées.

- Burettes sur support.
- Bécher.
- Flacons
- Billesdeverre.
- Fioles
- La cuve
- Les tubes à essai.
- Deux matras de minéralisation

I-1-4. Matériels biologiques

I-1-4-1. Milieux de culture

a. Milieux solides

- Gélose PCA.
- Gélose OGA.
- Gélose VRBL.
- Gélose au viande foie (VF).
- Gélose Héktöen.
- Gélose Chapman.

b. Milieux liquides

- Milieux « Rothe ».
- Milieu « Eva-litsky »
- Milieux « SFB »
- Milieux « Giolitti-Contoni »
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée stérile
- Bouillon nutritif
- Milieu kovacs



c. Additifs

- Tellurite de potassium,
- L'alun de fer,
- Sulfite de sodium,
- Additif Hektöen.

I.2. Méthodes

L'objectif de notre étude est de faire l'analyse qualitative et quantitative de quelques types de fromage frais pour déterminer la qualité de ce produit dans le marché à fin d'améliorer la vente.


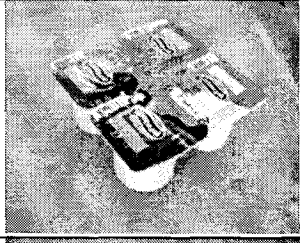
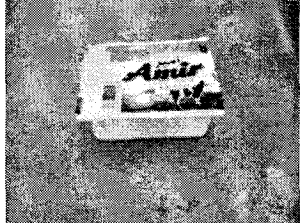

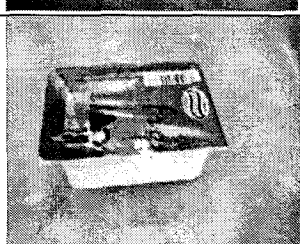
I-2-1. Prélèvement des échantillons

Pour notre étude, nous avons fait un prélèvement à partir de cinq labels du fromage à pâte fraîche écoulés sur le marché Jijilien, le tableau XV résume les informations qui sont représentés sur l'étiquetage de chaque produit.

Les techniques de prélèvement dépendent de la nature de fromage et du but recherché. Elles sont toujours réalisées dans les meilleures conditions d'asepsie (Guiraud et Galzy, 1980).

Le broyage est une étape importante : il doit être suffisamment efficace pour permettre une homogénéisation des aliments (**Bourgeois et Leveau,1991**).

TableauXV:Les caractéristiques des cinq types dufromage à pâte fraîche.

Marques	Laiterie	Poids ou volume	G/S ou MG (%)	Figure
Régime	Setilait	25cl	00	
Petit suisse	Soummam	30g	20	
Amir	GIPLAIT	120g	50(MG)	
Jben	PRILAIT	125g	50	
Soummam	Soummam	90g	20%	

G/S : Rapport gras sur sec.

MG : Matière grasse.

I-2-2.Transport et conservation deséchantillons

Les aliments prélevés sont acheminés au laboratoire dans des glacières (**Leyral et Vierling,2007**).

La conservation à basse température positive (0 et 5°C) stabilise assez bien la microflore ; toute fois elle permet la poursuite ou ralenti la multiplication des psychrotrophes(**Bourgeois et Leveau,1991**).

I-2-3. Contrôles physicochimiques

I-2-3-1. Mesure de pH

Des prélèvements de fromage (environ 10 g) sont malaxés pour obtenir une pâte homogène. Les mesures du pH sont réalisées avec un pH-mètre (Hanna Instruments, France) (Serhane, 2008).

I-2-3-2. Mesure de l'extrait sec

La technique utilisée est la méthode officielle par dessiccation dans un four Pasteur à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à un poids constant, soit environ 15 heures (Bourgeois et Larpent, 1996).

20 g de sable de Fontainebleu sont placés dans une boîte à tare en verre et étuvés pendant 5 heures à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (m_0).

5g de fromage sont broyés dans le sable à l'aide d'une spatule (m_1).

Ils sont placés à l'étuve à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 15 heures jusqu'à poids constant.

Après refroidissement dans un dessiccateur une pesée est à nouveau effectuée (m_2).

L'extrait sec correspond à :

$$E.S = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) \times 100$$

I-2-3-3. Mesure de l'acidité dornic

L'acidité est dosée à l'aide d'une solution de NaOH (N/9) en présence de phénolphthaléine. Un volume de NaOH est ajouté jusqu'à virage persistant au rose de l'indicateur. Le volume ajouté correspond à l'acidité dornic produite (Bourgeois et Larpent, 1996).

Mode opératoire

10g de fromage frais sont ajoutés dans 100ml d'eau distillé. On prend 10ml de cette solution et on ajoute 3 à 5 goutte de phénolphthaléine, on titre avec le NaOH N/9 jusqu'à l'apparition d'une coloration rose.

I-2-3-4. Détermination de la teneur en matière minérale

Détermination de la teneur en matière minérale est effectuée selon la méthode directe par Lecoq (1965).

Un volume de 10g de fromage est mis dans un creuset séché et taré et placé dans le four à moufle où l'incinération se fait à une température voisine de $450-500^{\circ}\text{C}$.

L'incinération est poursuivie pendant 4 heures.

La teneur en matière minérale peut être calculée par la formule suivante :

$$MM(\%) = x / y \times 100$$

MM : matière minérale.

X : poids de l'échantillon en gramme après étuvage.

Y : : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage.

I-2-3-5. Détermination de la teneur en matière organique

La détermination de la teneur en matière organique est effectuée selon la méthode décrite par : Lecoq (1965)

Elle est déterminée à partir des résultats de la matière sèche et minérale en appliquant la formule suivante :

$$MO(\%) = MS(\%) - MM(\%)$$

MO : matière organique.

MS : matière sèche.

MM : matière minérale.

I-2-3-6. Dosage du taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité est déterminée à partir des résultats de solides totaux en appliquant la formule suivante :

$$H(\%) = 100 - ST(\%)$$

H(%) : Taux humidité

ST(%): Solides totaux

I-2-3-7. Détermination de la teneur en matière grasse par la méthode acido-Butyrométrique

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution du produit à doser (excepté la matière grasse) par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux.

Prise d'essai : 3g de fromage sont broyés dans le godet qu'on introduit dans le butyromètre de VAN GULIK :

- Introduire par l'extrémité du butyromètre de l'acide sulfurique jusqu'à ce que le niveau de l'acide dépasse le godet de 2 mm ;
- Placer le butyromètre dans le bain-marie jusqu'à la dissolution totale du fromage.
- Retirer le butyromètre, agiter puis introduire 7ml d'alcool isoamylique.
- Ajouter de l'acide sulfurique jusqu'à l'avant dernière graduation du butyromètre.
- Faire des retournements puis des agitations (2 fois).
- Placer le butyromètre dans la centrifugeuse à 1200 tours / min pendant 6 minutes.
- La teneur en matière grasse exprimée en g/100g de fromage est donnée par lecture directe sur le butyromètre (Serhane, 2008).

I-2-3-8. Détermination de la teneur en protéines

L'azote est dosé selon la méthode de Kjeldahl qui est une méthode de référence (Vignola, 2002). Son principe peut être subdivisé en trois étapes :

- Minéralisation

La minéralisation est effectuée à l'aide d'un excès d'acide sulfurique concentré et chaud, en présence d'un mélange de catalyseurs (K_2SO_4 , $CuSO_4$).

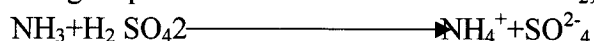
Dans un matras de 100ml on a mis :

- à l'aide d'une spatule 5g du fromage ;
- 2g de sulfate de potassium ;
- 2g de $CuSO_4$;
- Billes de verre ;
- 15ml de l'acide sulfurique.



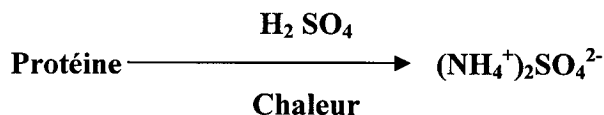
-Ensuite on place le matras sur la rampe de minéralisation, le col placer dans le dispositif d'aspiration des vapeurs.

- ✓ En présence de l'acide sulfurique concentré et chaud, le carbone, l'oxygène, l'hydrogène et l'azote des composés organiques se retrouvent sous formes de CO_2 , H_2O et NH_3 .



On a chauffé doucement puis augmenter le chauffage jusqu'à ce que le liquide est devenue limpide et on a poursuivi le chauffage pendant 15 à 20 minutes.

L'azote total se retrouve sous la forme d'ion d'ammonium (forme minérale):



-Au cours de la minéralisation, l'acide sulfurique est partiellement décomposé et réduit en SO_2 et SO_3 qui forment des fumées blanches irritantes et toxiques.

-L'utilisation d'un mélange de catalyseurs permet d'avoir une minéralisation plus rapide :

- K_2SO_4 permet d'élever la température d'ébullition de l'acide sulfurique de 350 à 400°C ;

On peut effectuer la minéralisation à ces températures sans avoir de pertes trop importantes d'acide sous forme de vapeurs ;

- CuSO_4 est le catalyseur de minéralisation proprement dit : il augmente la vitesse de la minéralisation.

- Distillation

Le dosage de l'azote total est un dosage acido-basique. Les ions d'ammonium du minéralisât se trouvent en excès d'acide sulfurique, on peut les doser directement.

Dans un premier temps on va donc déplacer les ions ammonium du minéralisât sous forme de NH_3 (ammoniac), puis il faudra récupérer l'ammoniac seul pour pouvoir le doser à l'aide d'une solution étalonnée d'acide fort.

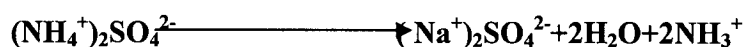
Pour isoler l'ammoniac on procède par distillation.

On a dilué le contenu du matras de minéralisation par addition de 30 à 50ml d'eau distillé ;

Après on l'a transféré vers le ballon de l'appareil à distiller. Joindre les eaux de rinçage (400ml environ).

Puis ajusté l'allonge au réfrigérant pour qu'elle plonge au fond d'une capsule de porcelaine contenant 20 ml d'acide borique à 40g/l et 3 à 4 gouttes d'indicateur de Tashiro ; et placé la burette contenant une solution d'acide sulfurique titré (0,05mol/l).

L'ammoniac (du sulfate d'ammonium) est déplacé par une solution d'hydroxyde de sodium concentré puis entraîné par la vapeur d'eau :



- **Déplacement de NH_4^+ en NH_3**

On a alcalinisé le contenu du ballon à distiller (pour transformer les ions d'ammonium du minéralisât en ammoniac) ; pour cela on a utilisé 65ml de la lessive de soude.

Le minéralisât est ainsi tout d'abord neutralisé puis alcalinisé. On a alors :



La lessive de soude étant en excès, tous les ions ammonium sont transformés en ammoniac et donc d'abord tout l'azote se trouve sous forme de NH_3 . Il faut adapter le ballon à l'appareil de distillation de manière à éviter toute perte d'ammoniac.

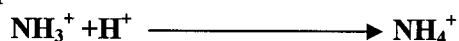
-Isolement de l'ammoniac

Il est réalisé par distillation : on effectue le minéralisât alcalinisé; le NH_3 se dégage sous forme de vapeur que l'on condense et que l'on recueille pour le dosage.

-Le dosage de l'ammoniac

L'ammoniac est dans une solution d'acide borique (acide faible qui ne réagit pas avec l'ammoniac, il sert simplement de piège à l'ammoniac).

L'ammoniac ainsi piégé est neutralisé au fur et à mesure de son arrivée par un acide sulfurique en présence de l'indicateur.



On verse alors la solution étalonnée d'acide fort pour ramener l'indicateur à sa teinte sensible (gris sale).

Lorsque la teinte de virage était stable pendant 5 minutes de distillation on a stoppé le dosage.

La matière azotée totale (P) est ensuite calculée suivant les formules suivantes :

$$P = [C_{\text{H}^+} \cdot 2 \cdot V \cdot N / M] / 100 \text{ g de fromage frais.}$$

C_{H^+} : molarité de la solution d'acide sulfurique titré.

V : volume d'acide sulfurique après titrage en ml.

N : masse molaire d'azote.

M : poids de fromage frais utilisé.

La teneur en protéines (P) du lait est égale à :

$$P' = [p \cdot 100 / 15,6 \text{ g}] / 100 \text{ g de fromage frais.}$$

I-2-3-09- détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD)

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse (Ghaoues, 2011).

$$\text{ESD} = \text{EST} - \text{MG}$$

ESD : extrait sec dégraissée.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

I-2-3-10- détermination de rapport gras/sec

La teneur en matière grasse de la matière sèche totale, exprimé en g pour 100g, est appelé couramment G/S (Jacques, 1998).

Ce rapport s'exprime en pourcentage par la formule suivante :

$$R(\%) = G/S \times 100$$

R: Rapport gras /sec.

G: Matière grasse.

S: Matière sèche.

I-2-3-11-Détermination de la teneur en sucres totaux :

Le principe de la technique est que les sucres totaux sont d'abord extraits avec de l'eau distillée en présence de l'acide sulfurique concentré, les oses sont déshydratés en composés de la famille de dérivés furfuriques. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orangés. L'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490 nm.

La technique utilisée est celle décrite par **Dubois *et al.*,(1956)** : Une gamme étalon a été préparée au préalable à partir d'une solution de glucose à 0.05 %. Pour l'extraction des sucres de fromage frais, 10 g de la matière fraîche a été dissout dans 100 ml d'eau distillée (extrait de fromage frais), puis chaque tube à essai reçoit 2 ml de l'extrait. A chaque tube de la gamme étalon et de l'extrait, 0.05 ml d'une solution de phénol à 80 % et 3 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés, suivi d'une agitation lente et légère.

Le mélange réactionnel est laissé pendant 10 mn à une température de 25 à 30 °C (apparition de la couleur jaune-rouge) puis la réaction a été stoppée par un courant d'eau froide. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm.

I-2-4. Contrôle microbiologique

Le fromage étant un milieu hétérogène du point de vue de la répartition des microorganismes. En effet un très grand nombre de microorganismes appartenant à des espèces variées y vivent et s'y multiplient (**Guiraud,1998**).

I-2-4-1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Chaque fois qu'il est nécessaire de préparer l'échantillon pour l'essai, il est procédé à une homogénéisation du produit à l'aide de technique et d'appareils appropriés par exemple broyeur-homogénéisateur.

Les prises d'essais sont effectuées sur l'échantillon (Fromage à pâte fraîche) homogénéisé en tenant compte de la nature des produits et des opérations analytiques à conduire. Elles sont en principe de 10,25 ou 50 grammes de produit (**Joffin et Joffin,1998**).

a-Préparation de la solution mère

Pour l'analyse microbiologique, l'échantillon est pesé, puis généralement broyé dans un volume connu de diluant (**LeyraletVierling, 2007**).

Dans un flacon contenant 90 ml de diluant qui est l'eau physiologique stérile, on introduit aseptiquement 10 grammes de produit à fin de réaliser des suspensions au 1/10, et on fait l'homogénéisation (**Joffin et Joffin,1998**).

b-Préparation des dilutions décimales

A partir de la suspension mère du fromage à pâte fraîche ainsi obtenu au 1/10, on prépare les dilutions destinées à l'analyse.

Prélever 1ml de dilution au 1/10, à l'aide d'une pipette stérile et l'introduire dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique stérile c'est la dilution 10^{-2} , sans faire rentrer la pipette dans le diluant.

Utiliser une nouvelle pipette dans chaque dilution.

Agiter doucement le tube par mouvement circulaire ou à l'aide d'un appareil à agiter. (**Joffin et Joffin,1998**).

Si nécessaire répéter ces opérations avec le diluant stérile en utilisant la dilution 10^{-2} pour obtenir les dilutions 10^{-3} et 10^{-4} jusqu'à l'obtention du nombre approprié demicroorganismes par millilitre.

I-2-3-2. Recherche et dénombrement des flores

a- Dénombrement de la flore totale mésophile FTAM

Selon **Guiraud, (1998)** et **Guiraud, (2003)** le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile est réalisé comme suivant :

-Fondre la gélose PCA dans un bain marie à 100°C , puis on laisse refroidir à température ambiante.

-A l'aide d'une pipette stérile, prélever 1ml de la solution 10^{-5} et le déposer sous forme de gouttelette au fond de la boîte de pétri.

-Couler aseptiquement la gélose et homogénéiser le tout.

-Laisser la solidification de gélose, puis on incube à 37°C pendant 24h-48h.

On dénombre toutes les colonies apparentes dans les boîtes (dont le nombre des colonies est entre 30 et 300 colonies).

b-Dénombrement des coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes peut se faire, selon les produits par des techniques en milieu liquide ou solides. Pour notre étude, ils sont dénombrés en milieu solide, sur gélose VRBL.

-Introduire au fond des boîtes de pétri 1ml de la dilution (10^{-3}).

-Verser la gélose fondue, mélanger et laisser prendre sa masse.

-Recouvrir les boîtes de pétri par la gélose.

-Incuber les boîtes à 37°C pendant 24h-48h.

Toutes les colonies d'un diamètre de 0,5 mm de couleur rose à violacée sont considérées des coliformes (le nombre des colonies doit être compris entre 15 et 150 colonies)(**JoffinetJoffin,1998**).

c- Dénombrement des coliformes thermotolérant

La même technique en milieu solide VRBL comme pour les coliformes totaux mais l'incubation se fait à 44°C pendant 24h (**Joffin et Joffin,1998**).

d- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Habituellement, la technique comprend deux temps : le premier permet d'enrichir le milieu en streptocoques, le deuxième temps assure une identification grossière à partir d'un milieu riche en bactéries (**Joffin et Joffin,1998**).

1^{er} test(enrichissement ou présomptif)

Ensemencer :

-5 tubes de milieu «Rothe » à double concentration, avec 10ml de solution mère ;

-1 tube de milieu «Rothe » simple concentration, avec 1ml de solution mère ;

-1 tube de milieu «Rothe » simple concentration, avec 0,1ml de solution mère.

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

Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés positifs

2^{eme} test (confirmatif)

A partir des tubes positifs on ensemence quelques gouttes dans le milieu Eva- Litsky.

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

Les tubes positifs présentant un trouble homogène et une pastille violette au fond contiennent au moins un streptocoque fécal.

e- Dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement de la flore fongique se fait toujours sur boîtes de pétri et consiste à ensemercer en surface 1ml de dilution 10^{-3} sur la gélose OGA.

Incubation se fait à température ambiante pendant 3-5 jours à 25°C.

Les levures se distinguent par leur caractère unicellulaire aussi que par l'absence d'une véritable structure mycélienne et de couleur blanche.

Tandis que les moisissures sont facilement repérables par leur mycélium et leur pigmentation (vert ou jaune) (JoffinetJoffin,1998).

f- Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur

Après traitement de 5 tubes contenant 5ml de la solution mère au bain marie à 80°C pendant 10 mn, on coule la gélose viande fois, après refroidissement à 45°C, on ajoute 1,5 ml de sulfite de sodium (5%) et 0,5 ml d'alun de fer, puis on mélange sans faire des bulles et tout cela est solidifié sous l'eau froide.

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

La présence de Clostridium se manifeste par l'apparition de colonies noires (Guiraud, 1998).

g- Dénombrement des Staphylocoques

Le dénombrement des Staphylococcus aureus est réalisé grâce à des milieux sélectifs (Joffin et Joffin, 1998).

Selon Guiraud, (2003) la recherche se fait par :

-Enrichissement

On peut utiliser dans ce cas un enrichissement en milieu sélectif «Gioliti-Contoni » (Joffin et Joffin, 1998).

On ensemence 1ml de solution mère dans un tube contenant 10 ml du milieu «Gioliti-Contoni», puis, on homogénéise.

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

Le noircissement du bouillon témoigne une présence préalable des staphylocoques.

-Isolement

On utilise la gélose Chapman, puis on ensemence les boîtes à partir de la culture de 24h par la méthode d'épuisement. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Les staphylocoques se présentent sous forme de colonies convexes, jaunes, orange ou blanchâtre.

h- La recherche des Salmonelles

➤ Enrichissement

Se fait selon la méthode décrite par JoffinetJoffin (1998) :

Les bouillons d'enrichissement sont ensemencés avec 0,1 ml de la solution mère dans 10ml de bouillon SFB. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

➤ **Isolement :**

A partir de chaque tube de bouillon d'enrichissement qui est trouble, faire l'ensemencement dans la gélose Héктоen.

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

Les bactéries suspectées doivent être vertes avec ou sans un centre noir.

➤ **Coloration de Gram**

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure ;

- Recouvrir le frottis de violet de gentiane; et laisser agir une minute; rincer à l'eau distillée ;

- Verser du Lugol et le laisser agir pendant une minute; rincer à l'eau distillée ;

- Décolorer à l'alcool, entre 15 et 30 secondes; rincer à l'eau distillée ;

- Recolorer avec de la fushine pendant 10 à 30 secondes; rincer à l'eau distillée;

- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen

- Observer au microscope à l'objectif 100 à l'aide d'une huile à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries à Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2007).

➤ **Test de la dégradation de l'urée**

A l'aide d'une anse de platine on ensemence le bouillon urée-indole (de couleur jaunâtre-orange) par des colonies des salmonelles à partir du milieu Héктоen.

Incuber à 37°C pendant 5 à 48 heures et observer le tube de temps en temps.

➤ **Lecture et interprétation**

La présence d'une uréase est traduite par l'apparition d'un anneau rouge.

I-2-5. Contrôles organoleptiques

Les caractères organoleptiques d'un aliment déterminent l'attrait qu'il exerce sur le consommateur. L'aspect d'un fromage, sa consistance et sa flaveur plus ou moins riche et intense stimulent le sens de la vue, du toucher, de l'odorat et du goût et provoquent des réactions plus ou moins vives de désir ou de rejet (Eck, 1987).

Le groupe du dégustateur a une vocation hédonique, c'est-à-dire il doit seulement porter un jugement affectif pour déterminer l'attrait que le produit exerce sur les consommateurs potentiels, les juges ne sont pas entraînés mais sélectionnés de façon à représenter la population visée (Eck, 1987).

Pour éviter les effets rémanents, les juges peuvent se rincer la bouche avec de l'eau (Eck, 1987).

Pour notre test nous avons sélectionnés 10 personnes au hasard parmi les étudiants de fin de cycle option : Contrôle De Qualité, Ecologie Ainsi que Microbiologie.

Plusieurs facteurs ont été pris en considération avant l'évaluation, afin d'obtenir des performances optimales de la part des sujets:

Les sujets ne souffrent d'aucune maladie,

Les sujets sont informés d'éviter l'utilisation des produits fortement odorants tels que parfums,

Les sujets ne peuvent ni fumer, ni manger, ni boire autre chose que de l'eau pendant la dernière demi-heure précédant l'évaluation

Les échantillons sont amenés au laboratoire dans une glacière. Et laisser à température ambiante pendant 15 minutes dans une température ambiante.

Les cinq marques de fromage sont codées avec les lettres A, B, C, D et E:

A: Régime

B: Petit suisse

C : Amir

D : Jben

E : Soummam

Chaque poste de dégustation est muni de:

- Une bouteille d'eau et un verre pour le rinçage de la bouche pendant la dégustation,
- Cinq gobelets contenant les échantillons codés avec les lettres A, B, C, D et E,
- Des mouchoirs en papier,
- Un bulletin (annexe) de réponse et un crayon.

Résultats et discussion

I. Analyses physico-chimiques

I-1. pH

Les résultats du pH sont représentés dans le tableau suivant (tableau XVI).

Tableau XVI : Résultats de la mesure du pH.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
pH	4,47±0,05	4,68±0,03	4,87±0,07	5,28±0,1	4,55±0,07

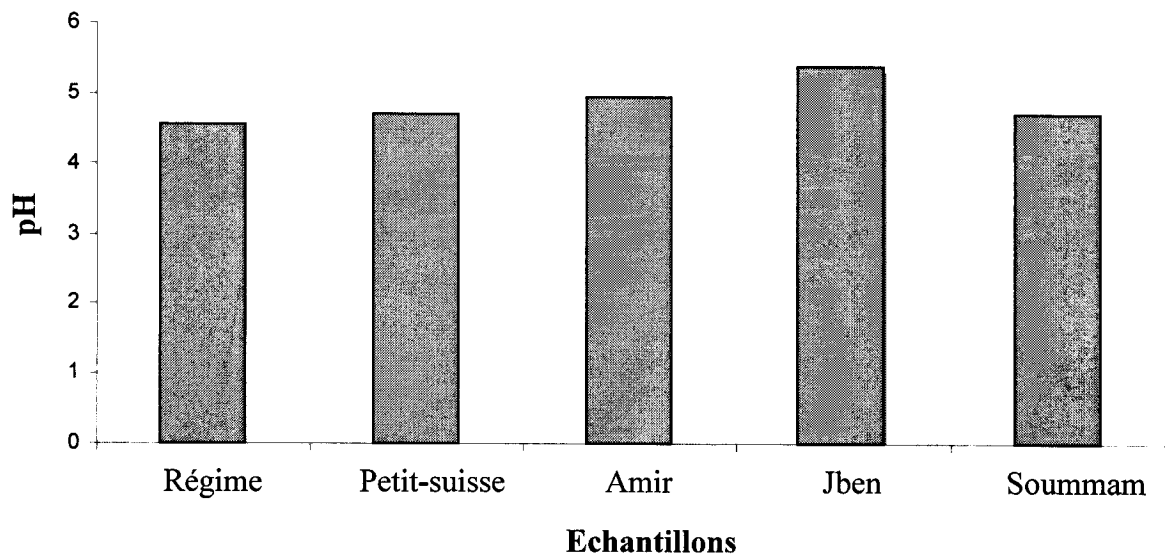


Figure 4 : pH des échantillons analysés.

Les résultats de la mesure du pH des trois échantillons frais nature analysés varient de 4,55 « Soummam » à 4,87 « Amir » avec une moyenne de $4,7\pm 0,16$. Pour « Jben » et « Régime » nous avons noté 5,28 et 4,47 respectivement.

L'étude de **Aissaoui (2004)**, a montré que les valeurs du pH du fromage à pâte fraîche varient entre 4 et 6. En prenant compte de cet intervalle décrit par **Aissaoui (2004)**, on constate que tous les échantillons analysés ont des pH conformes à cet intervalle.

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans l'abaissement du pH, qui inhibe la croissance de la plupart des autres bactéries (**Desmazeaud, 1998**).

I-2. Acidité dornic

Les résultats de mesure de l'acidité titrable de cinq marques du fromage analysées sont représentés dans le tableau XVII.

Tableau XVII: Résultats de la mesure de l'acidité dornic.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Acidité °D	14,33±0,57	11,33±0,57	14,66±0,57	6,66± 0,57	11,33±0,57

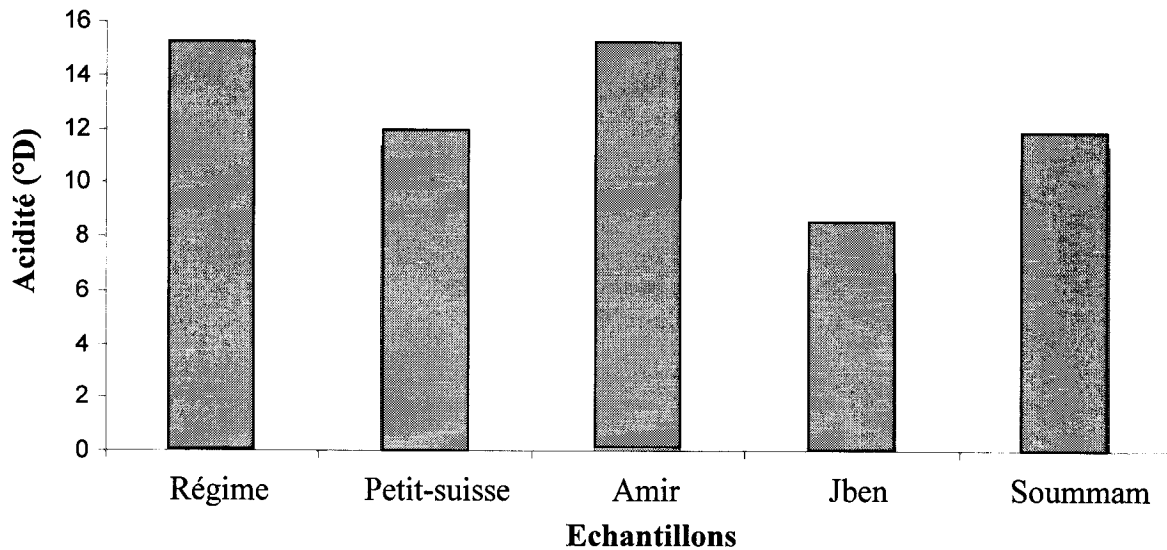


Figure 5: L'acidité titrable des échantillons analysés.

Les résultats de mesure de l'acidité titrable des échantillons du fromage frais nature varient avec une moyenne de $12,44 \pm 1,92^\circ\text{D}$, leur limite maximale est de $14,66 \pm 0,57^\circ\text{D}$ qui est enregistrée avec le fromage « Amir ». Pour les deux autres types de fromage, on note une acidité de $6,66 \pm 1,52^\circ\text{D}$ « Jben », et $14,33 \pm 0,57^\circ\text{D}$ « Régime ».

L'acidité est le premier facteur intervenant dans la saveur du fromage à pâte fraîche (Eck et Claude, 1997).

Le pH et l'acidité dépendent des conditions hygiéniques (lors de la traite), de la flore microbienne totale et son activité métabolique, ainsi que de la manutention du lait (Labio et al., 2009).

L'acidité est un des principaux paramètres qui doit être surveillé, surtout pendant le procédé de fabrication des produits laitiers. L'acidité titrable ne donne pas toutes les informations sur la qualité du produit. Il est aussi important de connaître les valeurs du pH du lait (Avalos de la Cruz, 2007).

I.3. Matière sèche

Les résultats concernant la matière sèche des échantillons analysés sont illustrés dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII : Teneur en matière sèche des échantillons analysés

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Matière sèche (%)	$13,2 \pm 0,7$	$16,25 \pm 1,54$	$27,95 \pm 1,7$	$32,35 \pm 3,47$	$13,90 \pm 2,96$

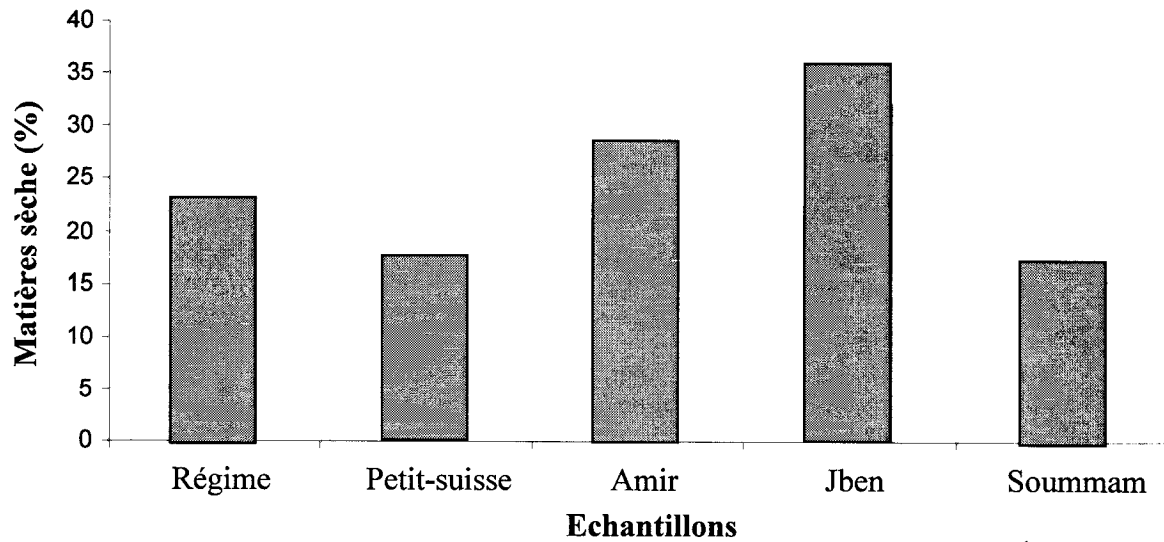


Figure 6 : Teneur en matière sèche des échantillons analysés.

La matière sèche de trois marques nature : « Amir », « Petit-suisse » et « Soummam » varient entre $13,9 \pm 2,96$ et $27,95 \pm 1,7$ avec une moyenne de $19,36 \pm 1,2$. Pour « Jben » on note $32,35 \pm 3,74\%$ et pour « Régime » $13,2 \pm 0,7\%$.

Selon **Ramet (1985)**, la teneur en matière sèche du fromage frais la plus élevée est de 30%, et la plus faible est de 12%. Elle peut être abaissée jusqu'à 15 ou 10 g pour 100 g (**Anonyme, 2009**).

Une étude plus précise de **Luquet (1986)**, a montré que la teneur en matière sèche du fromage frais à 0% de matière grasse est de 13,7g/100g du fromage, et à 20% elle est de 16,3 g/100g du fromage.

Avec des variations plus ou moins faibles, nos résultats sont en accord avec ceux des auteurs cités. La seule exception est que le fromage «Jben » à une teneur en matière sèche de 32,35% qui est supérieure à 30%.

I-4. Taux d'humidité

Les résultats de test d'humidité de cinq marques du fromage analysés sont enregistrés dans le tableau suivant (tableau XIX).

Tableau XIX: Taux d'humidité des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Humidité (%)	$86,8 \pm 0,571$	$83,75 \pm 1,25$	$72,05 \pm 1,38$	$67,65 \pm 3,05$	$86,1 \pm 2,41$

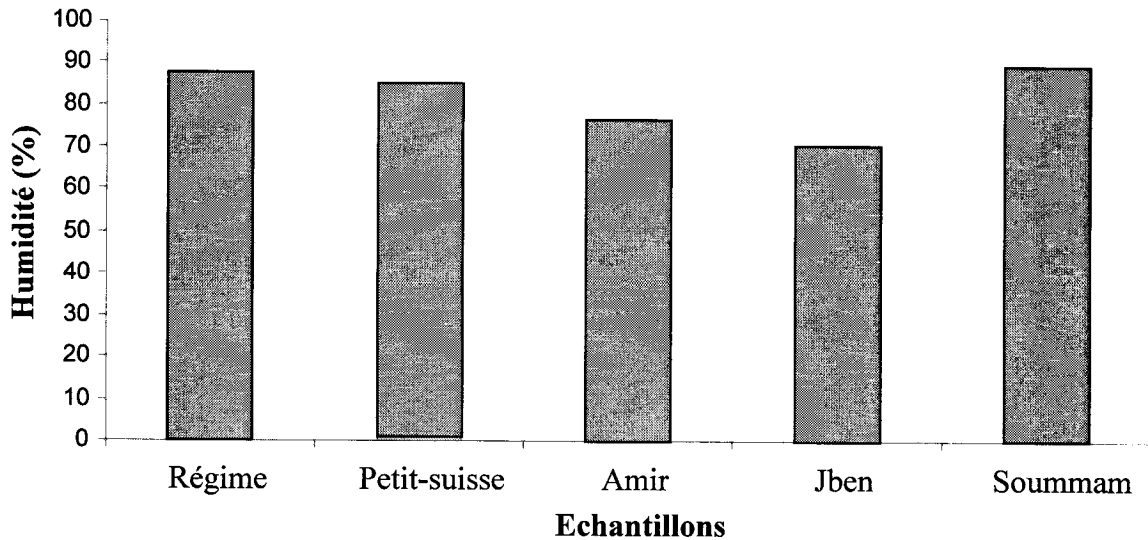


Figure 7: Taux d'humidité des échantillons analysés.

Le taux d'humidité des échantillons du fromage frais nature analysés sont compris entre 72,05% « Amir » et 86,1% « Soummam » avec une moyenne de 80,63%. « Jben » et « Régime » ont des taux d'humidité de 67,65% et 86,8% respectivement.

D'après **Luquet (1986)**, le taux d'humidité du fromage à 0% de matière grasse, est de 86,3%, celui à 20% est de 83,7%. Et selon **Apfelbaum et al (2004)**, le taux d'humidité du fromage à 70% de la matière grasse et salé, est de 48,5 %.

Le taux d'humidité du fromage à faible teneur en matière grasse étaient plus élevé que celui du fromage à matière grasse élevée. Des résultats semblables étaient également observés par **Koca et Metin, (2003)**.

A partir de nos résultats on constate que le fromage « Amir » qui a 70% de matière grasse à un taux d'humidité élevé par rapport à celui qui a été cité par **Apfelbaum et al (2004)**. Pour les fromages à 0% et à 20% de matière grasse, ont des taux similaires avec les teneurs rapportées par **Luquet (1986)**, sauf une petite augmentation concernant la teneur enregistrée pour l'échantillon « Soummam ».

I-5. Matière minérale

La teneur en matière minérale de cinq échantillons est représentée dans le tableau suivant (tableau XX).

Tableau XX: Teneur en matière minérale des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
MM (%)	1,03±0,015	1,13±0,011	1,37±0,020	0,87±0,005	1,03±0,044

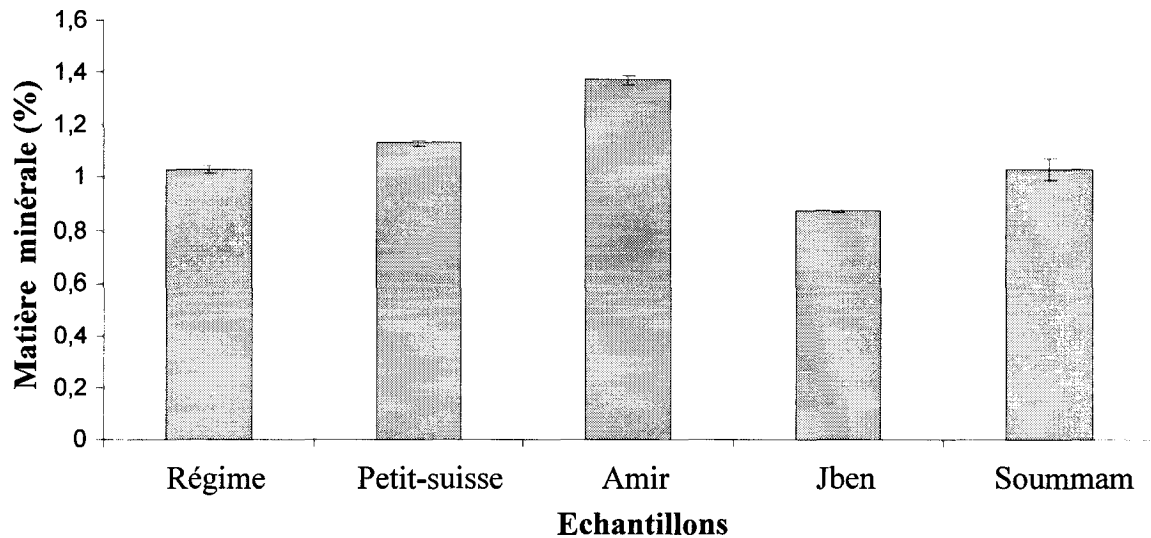


Figure 8 : Teneur en matière minérale des échantillons analysés.

Les résultats de mesure de la matière minérale dans les trois types des fromages frais nature analysés sont compris entre 1,03% « Soummam » et 1,37% « Amir », avec une moyenne de $1,17 \pm 0,17\%$. Pour les deux autres marques on note 0,87% pour « Jben » et 1,03% pour « Régime ».

Les teneurs en sels minéraux pourraient changer en fonction des méthodes analytiques utilisées (Lante *et al.*, 2004).

Selon Gaucheron (2004), la faible concentration en calcium est due à la perte lors de l'égouttage du lactosérum qui est très minéralisé.

I-6. Matière organique

Le tableau XXI représente les résultats de la teneur en matière organique de cinq marques du fromage frais.

Tableau XXI: Teneur en matière organique des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
MO (%)	$12,17 \pm 0,559$	$15,12 \pm 1,24$	$23,58 \pm 1,37$	$31,48 \pm 3,05$	$12,87 \pm 2,14$

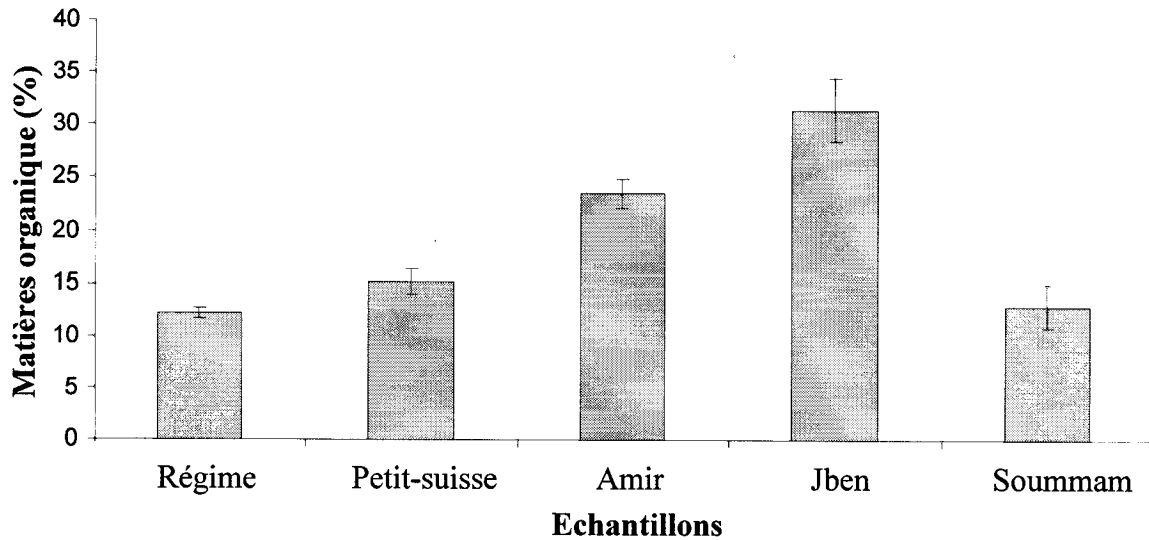


Figure 9: Teneur en matière organique des échantillons analysés.

Les teneurs mesurés pour la matière organique de trois marques natures varient entre 12,87% et 23,58% avec une moyenne de 17,19%. Pour « Jben » on note une teneur de 31,48% et pour « Régime » 12,17%.

I-7. Matière protéique

Les résultats du dosage de la matière azotée pour les cinq échantillons du fromage analysés sont illustrés dans le tableau XXII.

Tableau XXII : Teneur en matière azoté des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Matière azoté (%)	0,36	2,96	5,74	12,64	3,05

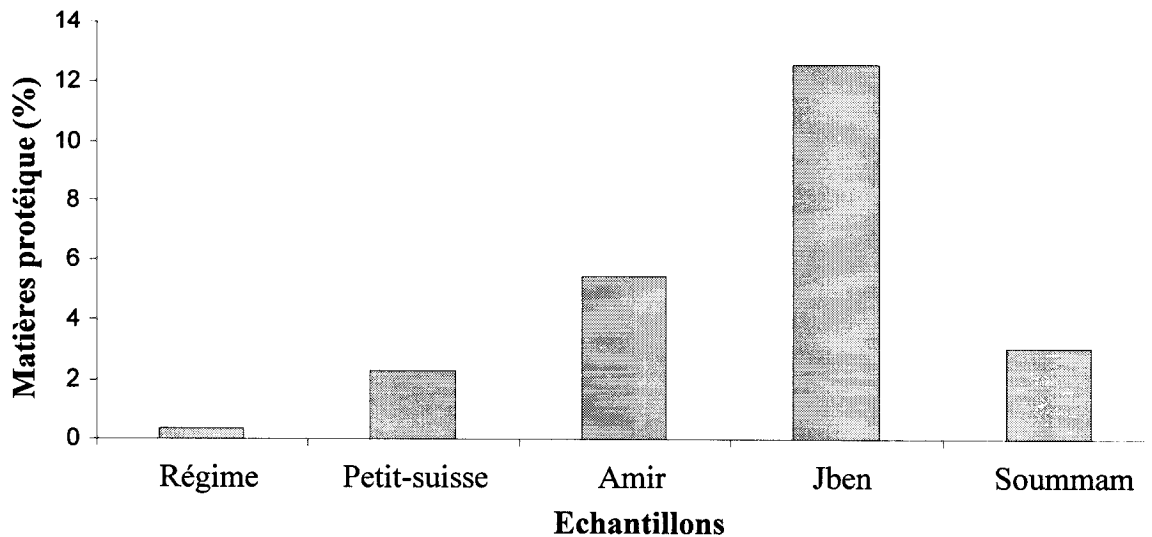


Figure 10: Teneur en matière azotée des échantillons analysés.

En se rapportant aux résultats du tableau XXII, il apparaît que la teneur en matière azotée de trois échantillons du fromage frais nature varient entre 2,96% « Petit-suisse» et 5,74% «Amir », avec une moyenne de 3,91%, pour « Régime» et «Jben », les teneurs sont de 0,36% et 12,64% respectivement.

D'après **Apfelbaum et al (2004)**, la teneur en matière protéique pour un fromage frais à 0% de matière grasse est de 7,5g/100g du fromage. À 20% (de matière grasse), il a une teneur de 8,3g/100g, et concernant le fromage frais à 70% (de matière grasse), la teneur est de 9,8g/100g du fromage.

Les résultats obtenus concernant la teneur en matière protéique sont faibles pour presque tous les échantillons analysés, ce qui est due probablement à une pauvreté en protéine dans la matière première qui est le lait, et cela dépend de la race de l'animal d'où provient ce lait.

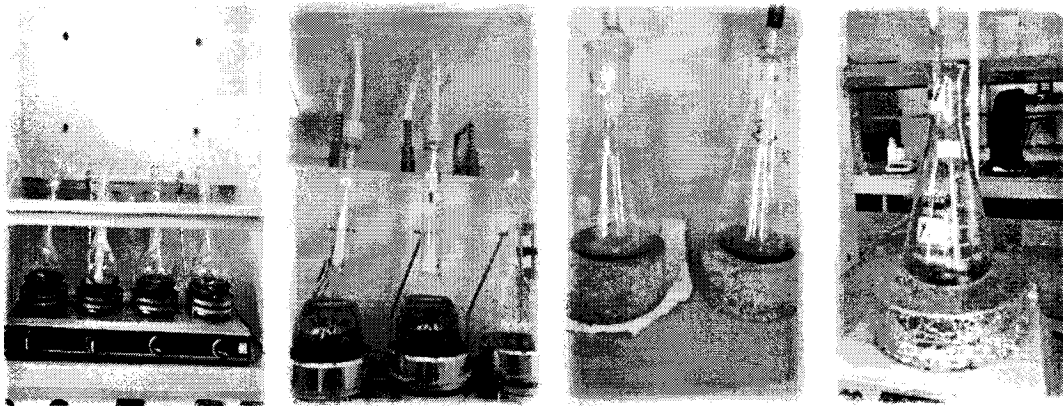


Figure 11 : Différentes étapes de la méthode de Kjeldahl.

I-8. Matière grasse

Les résultats du dosage de la matière grasse dans les échantillons analysés sont représentés dans le tableau XXIII.

Tableau XXIII : Teneur en matière grasse des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Matière grasse (%)	1±00	7±00	19,5±00	15±00	8,50±00

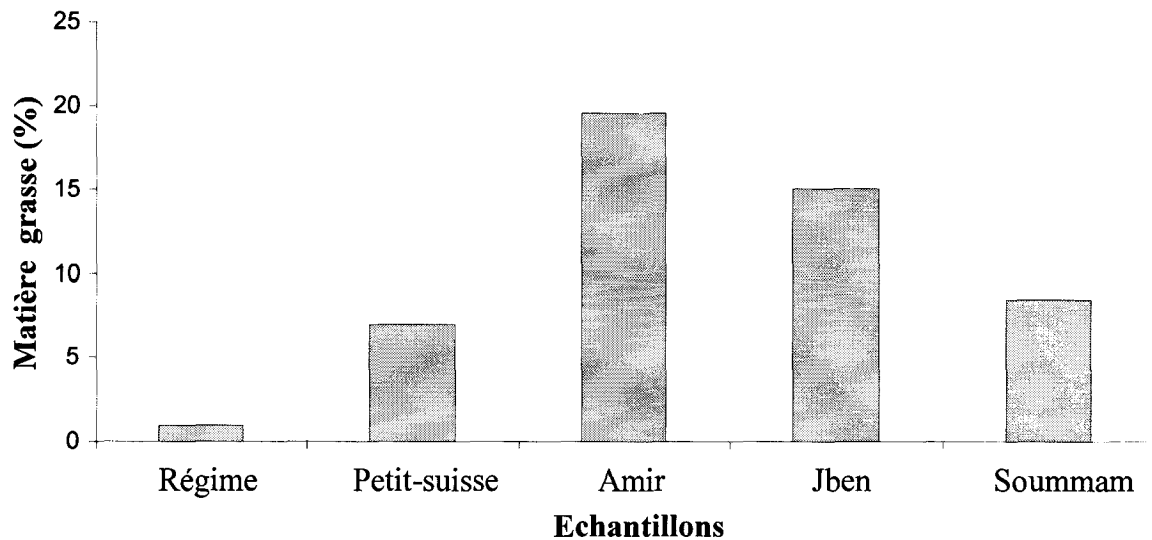


Figure 12 : Teneur en matière grasse des échantillons analysés.

Concernant la matière grasse, les teneurs mesurées pour les trois types de fromages frais nature sont comprises entre 7% « Petit-suisse » et 19,5% « Soummam », avec une moyenne de 11,66%. Pour les deux autres marques on note 15% pour « Jben » et 1% pour « Régime ».

Selon **Luquet (1986)**, la teneur en matière grasse d'un fromage à 0% de matière grasse est de 0,17 g/100 g du fromage, et à 20% elle est de 3,4 g/100 g du fromage, et selon **Apfelbaum et al (2004)**, la teneur en matière grasse d'un fromage frais à 70% (de matière grasse) est de 37,3g/100 g du fromage.

En se rapportant aux résultats du tableau XXIII, et en comparant avec les valeurs citées par les auteurs nous remarquons que les trois marques de fromages frais « Régime », « petit suisse » et « Soummam » ont des teneurs en matières grasses élevées, contrairement au fromage « Amir » qui a une teneur très basse par rapport à celle qui a été rapporté par **Apfelbaum et al. (2004)**.

I-9. Extrait sec dégraissé (ESD)

Le tableau XXIV représente les résultats de l'extrait sec dégraissé dans les cinq échantillons.

Tableau XXIV: L'extrait sec dégraissé des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
ESD (%)	12,20±0,571	9,25±1,125	5,45±1,38	17,37±3,05	5,4±2,41

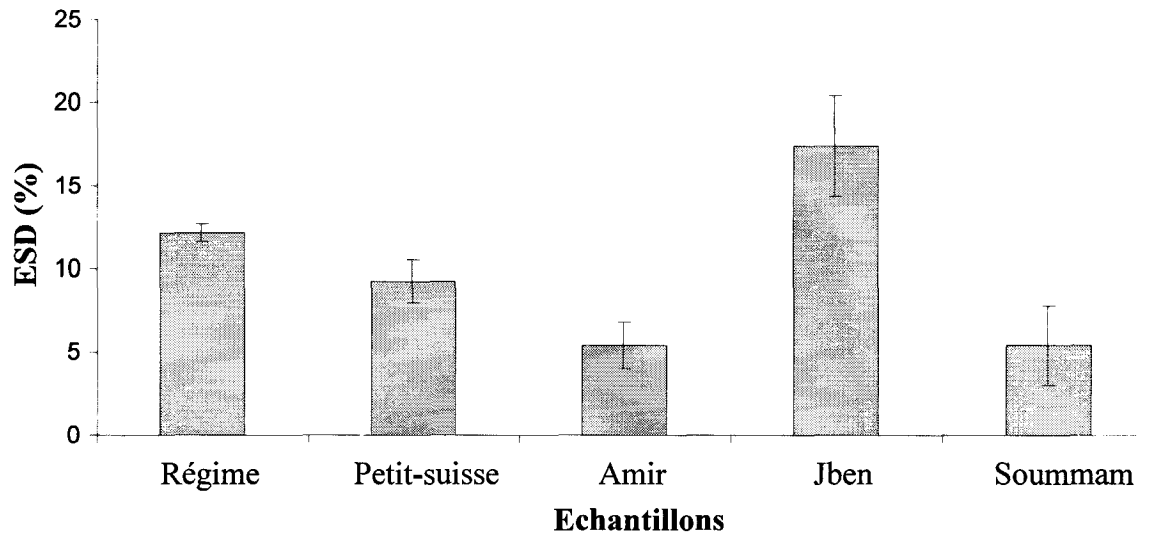


Figure 13: L'extrait sec dégraissé des échantillons analysés

Les résultats de la mesure de l'extrait sec dégraissé des échantillons du fromage frais nature varient entre 5,4% « Soummam » et 9,25% « Petit suisse ». Pour les deux autres types de fromage, on note 17,37% « Jben », et 12,2% « Régime ».

La matière sèche dégraissée est beaucoup plus stable que la teneur en matière sèche totale, puisque le taux de matière grasse est le plus variable d'un échantillon à l'autre. (Mathieu, 1998).

I-10. Rapport gras /sec

Les résultats du rapport gras/sec sont enregistrés dans le tableau XXV.

Tableau XXV: Rapport gras/sec des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
G/S (%)	7,57±0,0036	43,07±0,033	69,79±0,034	46,36±0,044	61,15±0,111

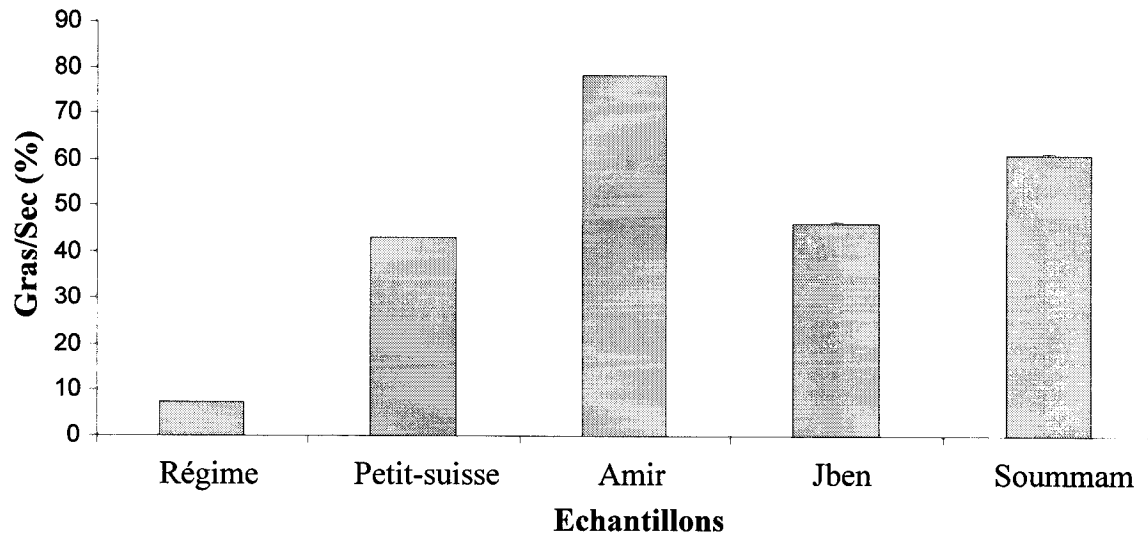


Figure 14: Rapport gras/sec des échantillons analysés.

Pour le rapport gras/sec, les trois types du fromage frais nature présentent des teneurs comprises entre 43,07 % « Petit Suisse » et 78,15% « Amir », avec une moyenne de 60,79%. Pour « Jben » nous avons enregistré une teneur de 46,36%, et pour « Régime » 7,57%.

Selon **Ramet (1986)**, le rapport gras/sec du fromage à pâte fraîche varie de 0% à 75%.

Le rapport gras/sec pour un fromage frais à 0% de matière grasse peut atteindre 1,2%, et pour celui qui a 20%, il peut accéder 21% (**Luquet, 1986**).

Comme on a déjà cité, la teneur en matière grasse est élevée pour les deux types du fromage (à 0% et à 20%), ce qui donne des rapports gras/sec relativement élevés.

I-11. Dosage des sucres totaux

Les résultats du dosage des sucres totaux sont illustrés dans le tableau suivant (tableau XXVI)

Tableau XXVI : Teneur en sucres totaux des échantillons analysés.

Echantillons	Régime	Petit-suisse	Amir	Jben	Soummam
Sucres totaux (%)	0,067	0,082	0,126	0,118	0,08

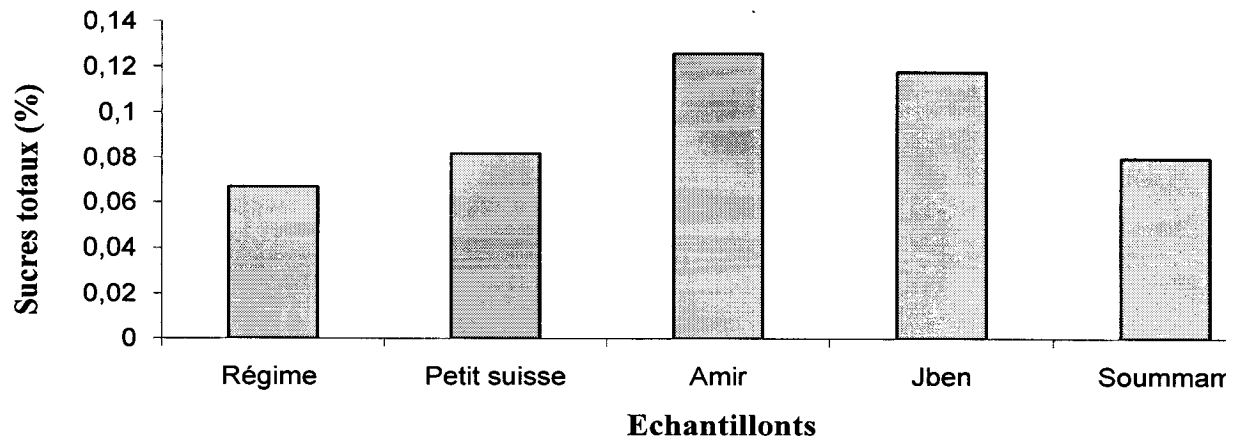
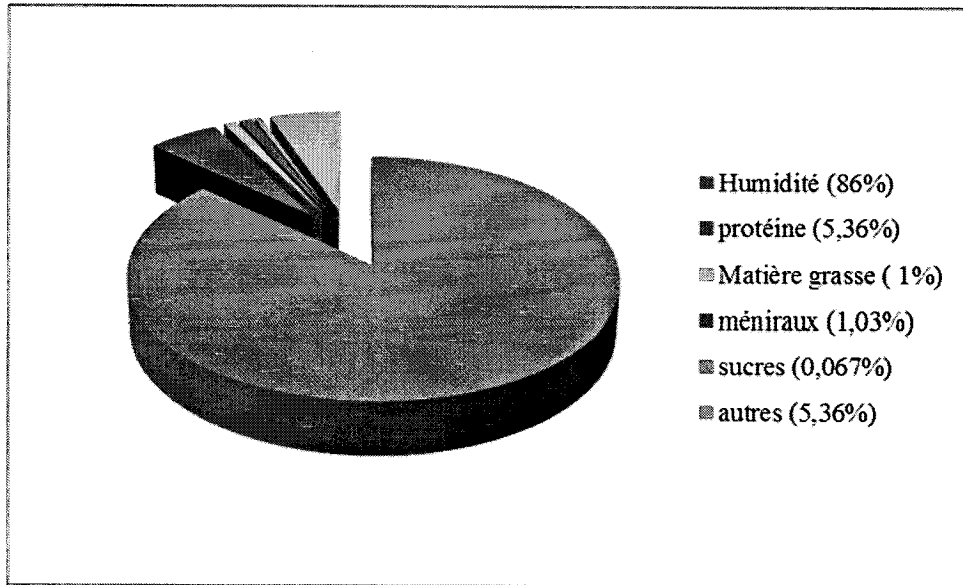


Figure 15 : Teneur en sucres totaux des échantillons analysés

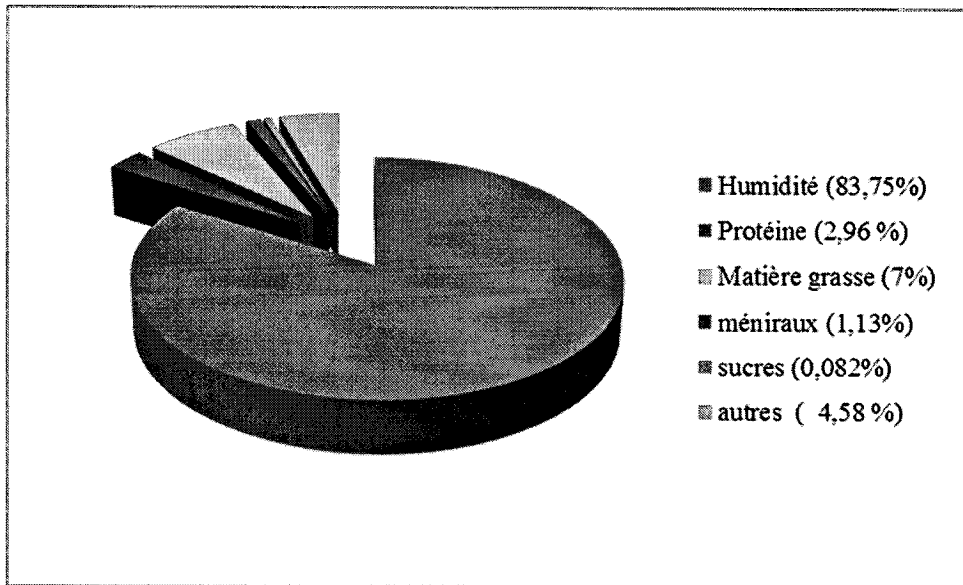
D'après nos résultats, le fromage frais « Amir » apparaît le plus riche en sucres totaux avec une teneur de 0,126%, alors que le fromage « Régime » présente la teneur la plus faible qui est de 0,067%, concernant les autres marques, nous avons noté 0,082, 0,118 et 0,08% pour « Petit suisse », « Jben » et « Soummam » respectivement.

Selon **Luquet (1986)**, la teneur en sucres totaux d'un fromage à 0% de matière grasse est de 3,9g/100 g du fromage, et à 20% elle est de 3,6 g/100 g du fromage, et selon **Apfelbaum et al., (2004)**, la teneur en matière grasse d'un fromage frais à 70% est de 37,3g/100 g du fromage.

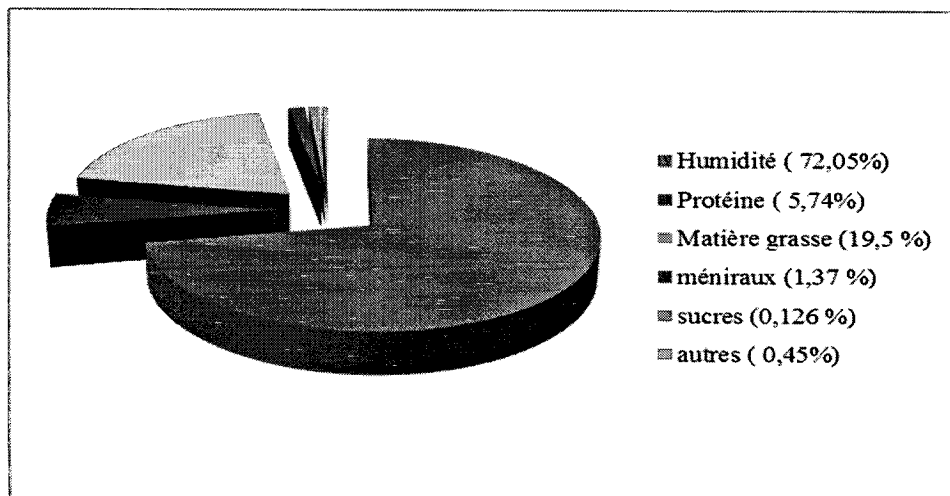
En comparant nos résultats avec ceux des auteurs, on constate que les échantillons analysés montrent des teneurs faibles en sucres.

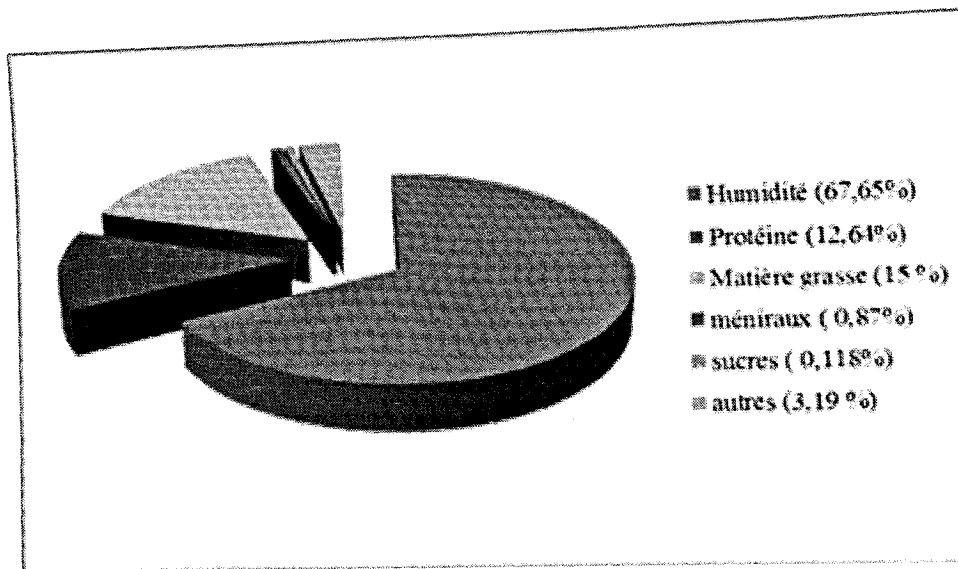


Régime

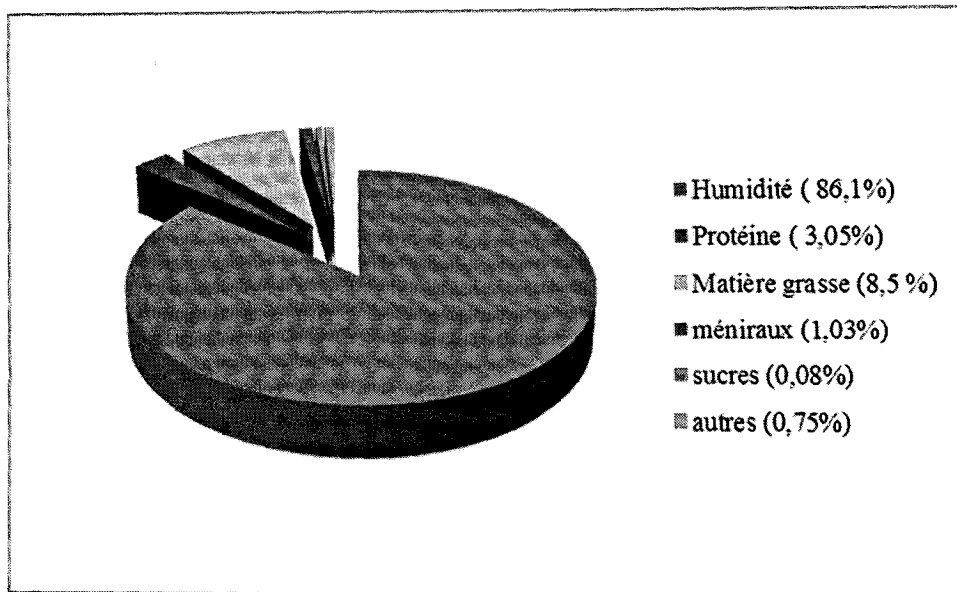


Petit suisse





Jben



Soummam

Figure 16 : Composition globale des échantillons analysés.

II. Analyses microbiologiques

II-1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Les résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sont représentés dans le tableau XXVI.