

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 الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Saddik Ben Yahia - Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Microbiologie Appliquée et  
Sciences alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية  
وعلوم التغذية

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 2351.....

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option** : Contrôle de qualité des produits alimentaires

Thème

**Essai d'optimisation des conditions de fabrication d'un fromage  
traditionnel «le Jben»**

### Membres de Jury

**Président** : M<sup>r</sup> BOUJERDA Djamel.

**Examinatrice** : M<sup>me</sup> AKKOUCHE Zoubida.

**Encadrant** : D<sup>r</sup> IDOUI Tayeb.

**Co-encadrante** : M<sup>elle</sup> AMIMOUR Meriem.

### présenté par :

ACHAB Aziza

ACHAB Chahinez

Année universitaire 2015-2016

Numéro d'ordre (bibliothèque) :



## *Remerciement*



*Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant et le Miséricordieux qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Mr IDOUI Tayeb** (Docteur, maître de conférences A à l'université de jijel), qui fait l'honneur d'avoir guidée et assistées tout au long de ce travail et pour sa compréhension et sa patience.*

*Nous remercions aussi notre Co-encadreuse **M<sup>lle</sup> Amimour M**, pour son aide précieux, ses conseils et ses corrections sans aucune parcimonie.*

*Nos sincères remerciement vont aussi à :*

*A **Mr Boujerda** d'avoir accepté de présider le jury et de juger notre travail.*

*A **M<sup>me</sup> Akouche** Pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'examiner ce modeste travail.*

*A toutes les ingénieures de laboratoire pédagogique (**Asmaà, Moukhtar, Salima, Zinddine, Houria et Nassiha**).*

*A **Mr Chehoub** et **M<sup>me</sup> Hamama** le directeur de la laiterie **IGILAIT**.*

*Nous tenons également à remercier tous ceux qui, à divers titres, nous ont aidés directement et indirectement durant ce travail.*

*En fin nous tenons à remercier tous nos amies et camarades pour leurs soutiens tout au long de l'élaboration de ce mémoire.*

*A vous tous, un grand merci.*

*Merci!*



## *Dédicace*

*Nous dédions ce travail à :*

*“ A nos chers parents hafidahoma allah pour leur patience, leur sacrifice et leur soutien toute au long de nos études ”*

*A nos chères sœurs : Saida, Nadjeh, Ikram*

*A nos tantes et, nos oncles*

*A notre cher grand-père*

*A notre chère grand-mère*

*A nos chères amies : Souhila, Amina, Rima*

☆ *Aziza et Chahinez* ☆

# Liste des abréviations

**Aw** : Water activity

**ANOVA** : Analyse Of Variance

**AFNOR** : Agence Française de Normalisation.

**CMP** : Caséino-Macro-Peptide

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**HPLC** : High Performance Liquid Chromatography

**ISO** : Organisation International de Normalisation

**K** : kappa

**MM** : matière minérale

**MS** : matière sèche

**MG** : matière grasse

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**RSM** : Response surface methodology

**US** : Unité Soxhlet

---

# Liste des tableaux

---

<b>Tableau 01</b> : Plantes locales utilisées pour la coagulation du lait.....	11
<b>Tableau 02</b> : Facteurs et domaine d'étude.....	29
<b>Tableau 03</b> : Matrice des expériences du plan de criblage.....	29
<b>Tableau 04</b> : les facteurs sélectionnés par le model Box Behnken pour l'optimisation de la production du fromage.....	30
<b>Tableau 05</b> : Matrice des expériences du plan Box- Behnken.....	31
<b>Tableau 06</b> : l'activité coagulante, temps de floculation, la force coagulante de l'extrait brut pepsine de poulet.....	37
<b>Tableau 07</b> : Le modèle expérimental du Plackett-Burman évaluant les facteurs qui affectent la production du fromage.....	43
<b>Tableau 08</b> . Analyse de régression des résultats obtenus à partir du modèle Plackett-Burman	44
<b>Tableau 09</b> : Matrice expérimentale du modèle factoriel Box-Behnken représentant l'effet de l'enrichissement du lait, le pH, la dose de présure et la température de coagulation, sur la production du fromage.....	45
<b>Tableau 10</b> : Analyse de régression des résultats obtenus à partir du modèle Box-Behnken...	47
<b>Tableau 11</b> : Analyse de la variance.....	48
<b>Tableau 12</b> : Conditions optimales de la production du fromage.....	52
<b>Tableau 13</b> : Résultats de la description de l'apparence de la croûte du fromage.....	64
<b>Tableau 14</b> : Résultats de la description de texture du fromage.....	64
<b>Tableau 15</b> : Résultats de la description de l'odeur et l'arôme du fromage.....	65
<b>Tableau 16</b> : Résultats de la description de saveur, sensation et le goût finale en bouche du fromage.....	65
<b>Tableau 17</b> : Résultats de classement des fromages fabriqué selon la préférence de dégustateurs.....	66

---

# Liste des figures



<b>Figure 01</b> : Méthode traditionnelle de la préparation de présure traditionnelle.....	10
<b>Figure 02</b> : Complexe stomacal du poulet.....	10
<b>Figure 03</b> : Fleur de cardon.....	12
<b>Figure 04</b> : Méthode traditionnelle d'expérimentation.....	13
<b>Figure 05</b> : Le niveau bas du facteur est noté par - 1 et le niveau haut par +1. Le domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut.....	16
<b>Figure 06</b> : Chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux entre eux. L'espace ainsi défini est l'espace expérimental.....	17
<b>Figure 07</b> : Dans l'espace expérimental, les niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux.....	17
<b>Figure 08</b> : Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur.....	18
<b>Figure 09</b> : Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse.....	18
<b>Figure 10</b> : Proventricule succenturiés de poulet avant et après l'incision.....	20
<b>Figure 11</b> : Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet.....	22
<b>Figure 12</b> : Etapes de mesure du temps de floculation par méthode de Berridge.....	24
<b>Figure 13</b> : Diagramme de fabrication de produit laitier traditionnel « <i>Jben</i> ».....	28
<b>Figure 14</b> : Résultats du pH de différents échantillons de lait.....	38
<b>Figure 15</b> : Résultats du l'acidité de différents échantillons de lait.....	38
<b>Figure 16</b> : Résultats de la densité de différents échantillons de lait.....	39
<b>Figure 17</b> : Résultats de la matière sèche de différents échantillons de lait.....	40
<b>Figure 18</b> : Résultats de la matière minérale de différents échantillons de lait.....	41
<b>Figure 19</b> : Résultats de la matière grasse de différents échantillons de lait.....	42
<b>Figure 20</b> : Effet des différents facteurs sur la production du fromage (g/l).....	44
<b>Figure 21</b> : Effet de quatre facteurs sur la production du fromage.....	47
<b>Figure 22</b> : Corrélation entre X1(enrichissement du lait) et X2 (pH) sur la production du fromage (g/L).....	49
<b>Figure 23</b> : Corrélation entre X1(enrichissement du lait) et X3 (la dose de l'extrait enzymatique) sur la production du fromage (g/L).....	49
<b>Figure 24</b> : Corrélation entre X1 (enrichissement du lait) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).....	50
<b>Figure 25</b> : Corrélation entre X2 (pH) et X3 (la dose de l'extrait enzymatique) sur la	

production du fromage (g/L).....	50
<b>Figure 26</b> : Corrélation entre X2 (pH) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).....	51
<b>Figure 27</b> : Corrélation entre X3 (la dose de l'extrait enzymatique) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).....	51
<b>Figure 28</b> : Aspect des emballages du fromage fabriqué.....	53
<b>Figure 29</b> : pH des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.....	53
<b>Figure 30</b> : pH des échantillons d'optimisation.....	54
<b>Figure 31</b> : pH des échantillons de produit fini.....	54
<b>Figure 32</b> : Acidité titrable des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage..	55
<b>Figure 33</b> : Acidité titrable des échantillons d'optimisation.....	55
<b>Figure 34</b> : Acidité titrable des échantillons de produit fini.....	56
<b>Figure 35</b> : Matière sèche des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage...	56
<b>Figure 36</b> : Matière sèche des échantillons d'optimisation.....	57
<b>Figure 37</b> : Matière sèche des échantillons de produit fini.....	57
<b>Figure 38</b> : Matière minérale des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.....	58
<b>Figure 39</b> : Matière minérale des échantillons d'optimisation.....	58
<b>Figure 40</b> : Matière minérale des échantillons de produit fini.....	59
<b>Figure 41</b> : Matière grasse des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage..	59
<b>Figure 42</b> : Matière grasse des échantillons de produit fini.....	62
<b>Figure 43</b> : Matière azoté et le taux de protéine des échantillons de produit fini.....	61
<b>Figure 44</b> : Chromatogramme de fromage JPA analysé par l'HPLC.....	61
<b>Figure 45</b> : Chromatogramme de fromage JPB analysé par l'HPLC.....	61
<b>Figure 46</b> : Chromatogramme de fromage JPC analysé par l'HPLC.....	62
<b>Figure 47</b> : Chromatogramme de fromage JPD analysé par l'HPLC.....	62
<b>Figure 48</b> : Chromatogramme de fromage JPE analysé par l'HPLC.....	62
<b>Figure 49</b> : Aspect du fromage frais fabriqué.....	63

# *Sommaire*

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction ..... 01

## I : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : fromage

I.1- Définition.....	03
I.2- Différents types (familles) de fromages.....	03
I.2.1- Fromage frais ou à pâte fraîche.....	03
I.2.2- Fromage à pâte molle.....	03
I.2.3- Fromage à pâte pressée.....	03
I.2.4- Les fromages de chèvre.....	04
I.2.5- Les fromages fondus.....	04
I.3- Technologie fromagère.....	04
I.3.1- Standardisation du lait.....	04
I.3.2- Coagulation ou caillage.....	04
I.3.2.1-Coagulation acide ou naturelle .....	05
I.3.2.2- Coagulation par action de la présure.....	05
I.3.2.3- Coagulation mixte.....	05
I.3.3- Egouttage.....	05
I.3.4- Salage.....	06
I.3.5- Affinage.....	06
I.4- Les fromages traditionnels algériens.....	06
I.4.1- <i>Klila</i> .....	07
I.4.2- <i>Bouhezza</i> .....	07
I.4.3- <i>Ighounane</i> .....	07
I.4.4- <i>Takammart</i> .....	08
I.4.5- <i>Aoules</i> .....	08
I.4.6- <i>Jben</i> .....	08
I.4.6.1. Définition et données.....	08

I.4.6.2. Méthodes de préparation traditionnelle du <i>Jben</i> .....	09
I.4.6.3. Les enzymes de coagulation du lait.....	09
a. Les enzymes d'origine animales.....	09
b. Les enzymes d'origine végétale.....	11

## **Chapitre II : Les plans d'expériences et d'optimisation**

II.1- introduction.....	13
II.2- les différents types des plans d'expériences.....	14
II.2.1- Plans de mélanges.....	14
II.2.2- Plans de criblage.....	14
II.2.2.1- Plans factoriels complets à 2 niveaux.....	14
II.2.2.2- Plans fractionnaires à 2 niveaux.....	15
II.2.2.3. Les plans de Plackett-Burman.....	15
II.2.3- Plans de modélisation.....	15
II.3- Notions des plans d'expériences (espace expérimental / surface de réponse).....	16
II.3.1- Notions d'espace expérimental.....	16
II.3.2- Notions de surface de réponse.....	18
II.4- Le modèle Box-Behnken.....	18

### *Etude expérimentale*

## **II : Matériel et Méthodes**

II.1. Matériel biologique.....	20
II.1.1. Le lait.....	20
II.1.2. Les proventricules de poulet.....	20
II.1.3. Les Produits chimiques et réactifs.....	21
II.1.4. Appareillage et autres.....	21
II.2. Méthodes.....	22
II.2.1. Extraction de la pepsine pro-ventriculaire.....	22
II.2.1.1. Le diagramme d'extraction.....	22
II.2.2. Propriétés coagulantes de l'extrait enzymatique.....	23
II.2.2.1. Activité coagulante.....	23
II.2.2.2. Estimation de la dilution coagulante.....	24
II.2.2.3. Détermination de la force coagulante.....	25

II.2.3. Analyses physico-chimiques de la matière première.....	25
II.2.3.1. Détermination du pH et acidité titrable .....	25
II.2.3.2. Mesure de la densité.....	26
II.2.3.3. Détermination de la teneur en matière sèche.....	26
II.2.3.4. Détermination de la teneur en matière minérale.....	26
II.2.3.5. Dosage de la matière grasse.....	27
II.2.4. Fabrication du fromage.....	27
II.2.5. Détermination des facteurs qui influent significativement la production du fromage <i>Jben</i> et domaine d'étude.....	28
II.2.5.1. Démarche expérimentale.....	29
II.2.5.2. Construction du plan de criblage et réalisation des essais.....	29
II.2.5.2.1. Matrice des expériences.....	29
II.2.6. Optimisation de la production de fromage par le modèle de Box-Behnken.....	30
II.2.7. Evaluation de la qualité du fromage.....	32
II.2.7.1. Qualité physico-chimique du fromage.....	32
II.2.7.1.1. Mesure du pH et acidité titrable.....	32
II.2.7.1.2. Détermination de la teneur en matière sèche.....	33
II.2.7.1.3. Détermination de la teneur en matière minérale.....	33
II.2.7.1.4. Mesure de la teneur en matière grasse.....	33
II.2.7.1.5. Dosage de l'azote total.....	34
II.2.7.1.6. Séparation des acides aminés libre.....	35
II.2.8. Analyse sensorielle (test de dégustation) .....	35

### III. Résultats et discussion

III.1. Etude des propriétés coagulantes de l'extrait de pepsine.....	37
III.2. Analyses physico-chimiques de la matière première.....	37
III.2.1 Détermination du pH et acidité titrable.....	37
III.2.2. Mesure de la densité.....	39
III.2.3. Détermination de la teneur en matière sèche.....	40
III.2.4. Détermination de la teneur en matière minérale.....	41
III.2.5. Dosage de la matière grasse.....	41
III.3. Evaluation de l'effet des différents facteurs sur la production du fromage en utilisant le modèle statistique Plackett-Burman.....	42

---

III.4. Optimisation de la production du fromage <i>Jben</i> par le modèle de Box Behnken.....	45
III.4.1. Constitution de la matrice d'expérience.....	45
III.4.2. Analyse par le logiciel.....	46
III.4.3. Optimisation du modèle.....	52
III.4.4. Validation du modèle.....	52
III.5. Fabrication du fromage frais et évaluation de sa qualité physico-chimique.....	52
III.5.1. Fabrication du fromage.....	52
III.5.2. Evaluation de la qualité physico-chimique du fromage.....	53
III.5.2.1. Mesure de pH et acidité titrable.....	53
III.5.2.2. Détermination de la teneur en matière sèche.....	56
III.5.2.3. Détermination de la teneur en matière minérale.....	58
III.5.2.4. Mesure de la teneur en matière grasse.....	59
III.5.2.5. Dosage de l'azote total.....	60
III.5.2.6. Séparation des acides aminés libre.....	61
III.6. Analyse sensorielle (test de dégustation).....	63
<b>Conclusion.....</b>	<b>67</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

---

# *Introduction*



Les produits traditionnels en particulier les fromages font partie du patrimoine national de chaque pays pour lesquels chaque variété apparaît comme le reflet fidèle de la région dont ils sont originaires, avec leurs ressources naturelles et leurs traditions. La grande tradition de la qualité fermière tend malheureusement à disparaître peu à peu. Le monde rural connaît une mutation profonde négligeant ainsi le devenir de ces produits (Mireille, 2008 ; Senoussi, 2013).

En Algérie, les variétés traditionnelles des fromages sont peu nombreux, non entièrement recensés et n'ont pas été étudiés de façon exhaustive. Ils ont été toujours préparés traditionnellement à l'échelle familiale dont environ dix variétés de fromages sont connues dans différentes régions du pays. Certaines de ces variétés sont de bonne qualité et possèdent des propriétés attirantes en ce qui concerne l'arôme et la texture (Aissaoui et al., 2011). Parmi ces fromages, le fromage *Bouhezza*, qui est fabriqué dans la région des *Chaouia* (Nord-Est), *Takammèrite* et *Aoules* dans le Sud, *Igounanes* dans la région de Kabylie (Aissaoui et al., 2011), *Klila* et *Jben* sont connus dans plus d'une région (Hallel, 2001).

Le « *Jben* » est le fromage traditionnel frais le plus connu depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain, c'est le produit de transformation du lait qui est consommé soit tel qu'il est, ou après un séchage afin de prolonger sa durée de conservation (Benkerroum et Tamime, 2004). La préparation du fromage traditionnelle connue sous le nom de « *Jben* », par coagulation du lait cru de vache ou de chèvre et parfois le lait de brebis à l'aide des enzymes coagulants d'origine animale ou végétale constitue une technologie originale spécifique de certaines régions Algériennes (Ensaïd, 2011).

Les travaux présentés dans ce mémoire portent sur l'application de la méthode des plans d'expériences à l'étude des différents facteurs qui affectent la production du fromage traditionnel *Jben*. Les deux principales utilisations de la méthode des plans d'expérience sont la technique du screening qui permet de déterminer parmi les facteurs recensés par l'expérimentateur, ceux qui sont les plus influents sur la variation de la réponse. On procède ainsi implicitement à une simplification du problème et la méthodologie des surfaces de réponses qui consiste à calculer les variations des réponses en fonction des facteurs jugés précédemment influents.

Pour mener cette étude, nous avons fait appel dans un premier temps à un plan de criblage de Plakett-Burman, pour sélectionner les facteurs influents sur la production. Ces facteurs sont par la suite étudiés par la méthodologie des surfaces de réponses (Box-Behnken).

Notre travail est articulé autour des points suivants : l'étude des différents facteurs qui influent la production du fromage frais « *Jben* » puis l'optimisation de ces facteurs sélectionnés dans un but de déterminer les conditions optimales de la fabrication de ce produit afin de transférer sa production de l'échelle traditionnelle à l'échelle industrielle.

Hormis l'introduction et la conclusion, ce manuscrit se compose de trois parties essentielles : une partie bibliographique, une partie expérimentale et une partie résultats et discussion.

Synthèse

bibliographique

Chapitre I: Le  
fromage

## I- Le fromage

### I.1. Définition

La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse (Fredot, 2005). La teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 grammes pour 100 grammes de fromage (Jeantet *et al.*, 2008).

### I.2. Différents types (familles) de fromages

En fonction de diverses opérations, on distingue plusieurs types de fromages.

#### I.2.1. Fromage frais ou à pâte fraîche

Les fromages frais à caillé essentiellement lactique (il y a souvent une légère action de la présure) subissent essentiellement un égouttage obtenus par centrifugation ou filtration et ne sont pas affinés. Produits très humides et périssables (70-75%), ils sont obtenus avec des laits pasteurisés (exemple : petit-suisse, demi-sel, etc.) (Guiraud, 1998 ; Luquet, 2005).

#### I.2.2. Fromage à pâte molle

Ces fromages sont obtenus essentiellement par coagulation présure et 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 (Patrick *et al.*, 2000):

- Les fromages à pâte molle « moussée », généralement à croûte moisie (Camembert, Brie, Carré de l'Est, ... etc.) ;
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée (Munster, Livarot, Pont-l'Evêque, ... etc.) ;
- Les fromages à pâte molle persillés (à moisissures internes) (Roquefort et autres Bleus, ... etc.).

#### I.2.3. Fromage à pâte pressée

Ce sont des fromages obtenus généralement par une coagulation à action présure après la fermentation lactique. Ils subissent essentiellement un affinage et sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression. Les fromages à pâte pressée non cuites sont des fromages ayant une humidité moyenne varie de 45 à 50 %. Pour les fromages à pâte cuite ou très brassée l'humidité varie de 35 à 40 % (Guiraud, 1958). On distingue parmi lesquels:

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

#### **I.2.4. Les fromages de chèvre**

Ce sont des fromages de forme et de poids variable préparés exclusivement à partir du 100% de lait de chèvre (pur chèvre) ou être mélangés à du lait de vache (mi- chèvre s'il contient au moins 25% de lait de chèvre). Ce sont des fromages humides et lisses ; l'intensité de sa saveur dépend de la race et de l'alimentation de l'animal, de la saison et des procédés de fabrication (**Magali, 2012**).

#### **I.2.5. Les fromages fondus**

Ils sont constitués d'un mélange d'un ou de plusieurs fromages avec éventuellement d'autres produits laitiers : du beurre, de la crème, du lait en poudre et parfois des arômes. Il s'agit de préparations issues de la fonte de fromages généralement à pâte pressée (**Fredot, 2005**).

### **I.3. La technologie fromagère**

Le fromage est le produit obtenu par coagulation du lait suivie d'un égouttage du coagulum. La transformation du lait en fromage se fait, généralement, en quatre phases : la standardisation du lait, la coagulation, l'égouttage et l'affinage (**Brulé et al., 1997 ; Jeantet et al., 2008**).

#### **I.3.1. Standardisation du lait**

La standardisation d'un lait de fromagerie consiste à régler la teneur en matière grasse du lait de fabrication de façon à ajuster celle du fromage (**Ramet, 1993**). Son objectif premier est d'éliminer les fluctuations saisonnières afin d'obtenir un même comportement rhéologique des laits à la coagulation et les mêmes rendements fromagers pour une même quantité de lait mise en œuvre toute l'année (**Simon et al., 2002**).

#### **I.3.2. Coagulation ou caillage**

Correspond à un changement d'état physique irréversible dans lequel un lait au repos, initialement liquide, passe à l'état semi-solide généralement appelé gel ou plus spécifiquement coagulum (**Brulé et al., 1997 ; Cecchinato et al., 2012**).

### I.3.2.1. Coagulation acide ou naturelle

La coagulation acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ( $pH_i = 4,6$ ) par acidification biologique. Elle est provoquée par la flore lactique qui transforme le lactose en acide lactique (Gelais et al., 2002) ou par acidification chimique (injection de  $CO_2$  ou de l'acide citrique)(Jeantet et al., 2008 ; Dalgleish et Corredig, 2012). Cette coagulation donne un coagulum ferme, friable, perméable et peu contractile (Ramet, 1985).

### I.3.2.2. Coagulation par action de la présure

Elle consiste à transformer le lait de l'état liquide à l'état de gel par l'action d'enzymes protéolytiques. Elles sont soit d'origine animale (présure, pepsine), soit d'origine végétale (broméline, ficine), soit d'origine microbienne (enzymes de certaines moisissures ou de bactéries). Les enzymes utilisées en fromagerie sont la présure, la pepsine et celles d'origine fongique. La plus ancienne et toujours très employée est la présure constituée d'un mélange de chymosine (80%) et de pepsine (20%) (Jeantet et al., 2008).

La coagulation du lait par la présure comprend trois phases (Brulé et al., 1997):

- L'hydrolyse enzymatique de la caséine  $\kappa$  en para-caséine et caséino-macro-peptide(CMP) ;
- Agrégation des micelles déstabilisées, due à la perte du CMP dans le sérum ;
- Enfin, la réorganisation des liaisons entre les para-caséines des micelles de caséines forme le gel.

### I.3.2.3. Coagulation mixte

La coagulation résulte de l'action conjuguée des enzymes protéolytiques et de l'acidification. C'est la coagulation mixte et généralement le plus souvent. Les propriétés des gels formés et leur aptitude à l'égouttage sont intermédiaires entre celles du coagulum obtenu par voie enzymatique et celle du coagulum obtenu par voie acide (Brulé et al., 1997).

### I.3.3. Egouttage

L'égouttage constitue la deuxième phase de la fabrication fromagère : C'est l'étape de séparation du caillé (phase solide) et du lactosérum (phase liquide) composée d'eau et des matières solubles telles que le lactose, les sels minéraux et les protéines solubles. Ce phénomène est appelé synérèse (Ramet, 1997).

L'égouttage peut être (Fredot, 2005) :

- ✓ Lent ou spontané si l'on veut obtenir des fromages frais et certains fromages à pâtes molles. Dans ce cas, les pertes dans le lactosérum sont particulièrement importantes ;
- ✓ Accéléré pour les autres fromages grâce à différents procédés :

- Découpage : on tranche le caillé à l'aide d'un tranche-caillé (pour les fromages à pâte molle) ;
- Pression du caillé (pour les fromages à pâte pressée) ;
- Eventuellement (pour les fromages à pâte dure), « cuisson » du caillé dans le petit-lait (50-55°C) pendant une heure.

#### I.3.4. Salage

Le salage est réalisé, essentiellement avec du chlorure de sodium, selon deux méthodes :

- Salage à sec par saupoudrage superficiel, frottage ou incorporation dans la masse du caillé broyé avant le moulage (**Mansour et Alais, 1971**).
- Salage en saumure par immersion dans une solution de chlorure de sodium saturée. La différence de concentration entre la phase aqueuse du fromage et la saumure provoque une diffusion du sel dans la pâte et une migration inverse de la phase aqueuse vers la saumure (**Payne et Morison, 1999 ; Simal et al., 2001**).

On reconnaît habituellement au chlorure de sodium incorporé dans le fromage un triple rôle (**Vignola, 2002**) :

- ✓ Il assure un complément d'égouttage et contribue à la formation de la croûte ;
- ✓ Il règle l'activité de l'eau ( $A_w$ ) du fromage et par là, favorise, freine ou oriente le développement des micro-organismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage ;
- ✓ Il relève la saveur du fromage et masque ou exalte le goût de certaines substances formées au cours de l'affinage.

#### I.3.5. Affinage

C'est le procédé du vieillissement du fromage. Celui-ci est placé pendant une durée variable dans une salle ou une cuve spéciale parfois appelée « hâloir », ventilée ou non, dans laquelle la température et l'humidité sont contrôlées. Pendant ce temps, le fromage peut être lavé, retourné, brossé ou déplacé, il devient plus compact, sa croûte se forme et son goût s'affirme (**Bendimerad, 2013**). Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des « fromages frais » consommés après égouttage (**FAO, 1995**).

#### I.4. Les fromages traditionnels Algériens

Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, qui étaient généralement produits dans des conditions artisanales à partir du lait cru sans employer les cultures starter industrielles (**Bencharif, 2001**).



Le fromage est l'un des produits laitiers qui existe depuis des siècles et est encore fabriqué traditionnellement à partir de lait cru de vache, de chèvre, et de brebis au niveau des fermes de plusieurs régions du pays. Les fromages traditionnels ont leur place dans les marchés locaux et sont essentiellement vendus à l'état frais, salé ou demi-salé.

Des variétés des fromages sont confectionnées par les populations rurales. Ils sont destinés à la consommation familiale, et parfois vendue dans les marchés environnants. Les fromages traditionnels sont peu nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés, environ dix types de fromages sont connus dans différentes régions du pays (Aissaoui *et al.*, 2006). Parmi ces fromages on peut citer :

#### **I.4.1. Klila**

Le *Klila* est un fromage traditionnel populaire à la campagne produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie (Mechai *et al.*, 2014 ; Mahamedi *et al.*, 2015), il est fabriqué à partir de *L'ben*. Le *L'ben* est chauffé modérément (55 °C - 75 °C) jusqu'à la séparation du lactosérum et l'obtention d'un caillé (10 à 15 min). Le caillé est ensuite égoutté spontanément ou par pressage à l'aide d'une pierre. Le fromage obtenu est consommé tel qu'il est frais après découpage. Il est aussi séché et utilisé comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaires traditionnelles (Mennane *et al.*, 2007).

#### **I.4.2. Bouhezza**

*Bouhezza* est un fromage traditionnel Algérien fabriqué et consommé depuis l'antiquité dans le territoire *Chaouia* dans la région des Aurès (Nord Est d'Algérie) (Aissaoui *et al.*, 2012). C'est un fromage fermier à égouttage spontané et à pâte épicée, non moulée, Il est fabriqué à partir du lait cru de vache et éventuellement de chèvre ainsi, sa fabrication exige la préparation d'un sac en peau animale entière de chèvre ou de brebis (*Chekoua*) (Zaidi *et al.*, 2000). Mais actuellement, et selon l'élevage des familles, le lait de chèvre, de brebis et/ou de vache peut être employé (Aissaoui *et al.*, 2006).

#### **I.4.3. Ighounane**

Fromage fabriqué en kabylie à partir du colostrum. La préparation d'*Ighounane* se fait dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé puis consommé tel qu'il est (Lahsaoui, 2009).

#### **I.4.4. Takammart**

C'est un fromage de la région désertique du Hoggar (Tamanrasset) (Hellal, 2001). Il est produit par l'introduction d'un morceau de caillette de jeunes chevreaux dans le lait de chèvre. Le caillé obtenu est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte, il est ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une natte à base de tiges de fenouil qui lui transmet un arôme particulier. Les nattes sont, par la suite, exposées au soleil durant deux jours puis placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage (Abd Elaziz et Ait Kasi, 1992).

#### **I.4.5. Aoules**

Il est fabriqué à partir du lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, le fromage obtenu a une pâte dure (matière sèche représente 92%). L'égouttage se fait dans une paille ensuite, il est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil. Ce fromage peut être consommé avec les dates (Gast et al., 1969).

#### **I.4.6. Jben**

Le fromage traditionnel connu sous le nom de « Jben » est préparé par coagulation du lait cru de vache ou de chèvre à l'aide des enzymes coagulantes d'origine animale ou végétale. La technologie originale de fabrication de « Jben » est spécifique à chaque région algérienne.

##### **I.4.6.1. Définition et données**

C'est un fromage frais, traditionnel Algérien. Cette dénomination regroupe des trajectoires technologiques très différentes, aboutissant à des produits aux caractéristiques très variées (Mahamedi, 2015). Traditionnellement, il y a une étape d'acidification spontanée, à température ambiante, pendant 24 h à 72 h selon la température, comme celle conduisant au Rayeb. Le fromage Jben est fabriqué avec du lait cru de brebis ou de chèvre selon l'élevage local, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus L.*), d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut (*Cynara scolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou encore des graines de citrouille (Coagulation par voie enzymatique) (Nouani, 2009). Les fleurs entières sont mises à macérer dans le lait. Le végétal est utilisé pour accélérer la coagulation et pour donner un certain goût au fromage. La variété végétale utilisée varie d'une région à l'autre; elle donne un goût et une texture appréciée par les gens de la région concernée. Le caillé est ensuite égoutté et salé ou non (Bendimerad, 2013).

Le Jben peut aussi être artisanalement fabriqué par l'utilisation des agents coagulants d'origine animale telle que la présure qui est extraite de la caillette du jeune veau ou d'agneau non sevré

séché au soleil. Du gésier et du proventricule de poulets sont aussi utilisés comme agent coagulant d'origine animale dans certaines régions du pays.

#### **I.4.6.2. Méthodes de préparation traditionnelle du *Jben***

Il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «*Jben*», parmi ces méthodes, on peut citer :

- ✓ **Méthode 1** : Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette de veau ou d'agneau est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques (**Abdelaziz et Ait Kaci, 1992**).
- ✓ **Méthode 2** : Dans les hauts plateaux, et plus exactement dans les petits villages qui entourent la région des Aurès, la fabrication de ce fromage se fait essentiellement en utilisant un extrait des fleurs de cardon. Ces fleurs cueillies des capitules de cardon, sont utilisées directement sans être préalablement séchées. Une touffe de fleurs est prise et mise dans un peu de laine lavée, cette touffe est bien écrasée durant quelques minutes à l'intérieur de la laine, pour faire sortir l'extrait enzymatique des fleurs. Le tout est bien essoré au-dessus d'une quantité de lait (1 à 5 litres) et ceci jusqu'à l'obtention de quelques gouttes d'un liquide jaunâtre qui sera ajouté au lait. Le lait est bien mélangé et mis au soleil durant environ 30 min. Le caillé obtenu est débarrassé de son sérum par un égouttage assez poussé à l'aide d'une toile. Le *Jben* obtenu peut être consommé directement ou après salage (**Mennane et al., 2007 ; Nouani et al., 2009 ; Aquilanti et al., 2011**).

#### **I.4.6.3. Les enzymes de coagulation du lait**

##### **a. Les enzymes d'origine animales**

- ✓ **Présure traditionnelle** : La dénomination présure est réservée à l'extrait coagulant provenant de la quatrième poche de l'estomac appelée caillette de jeunes ruminants abattus avant sevrage (**Veisseyre, 1979 ; Andren, 2002**). Elle renferme deux enzymes actives la chymosine est la protéase majeur qui représente 75-85% de l'activité coagulante totale et l'autre mineur qui est la pepsine (**Dalgleish, 1993**). La chymosine est sécrétée principalement dans le fœtus et l'estomac des nouveaux nés, et son taux diminue graduellement jusqu'à ce qu'elle devienne absente chez l'adulte (**Foltmann, 1992**).

La présure de la caillette de veau est la préparation coagulante traditionnelle la plus utilisée pour la coagulation du lait (**Alais, 1984 ; Claverie et Hernandez, 2007**).

Pour faire de la bonne caillette, il faut prélever la 4<sup>ème</sup> poche de l'estomac du veau. La faire nettoyer puis la sécher au soleil.

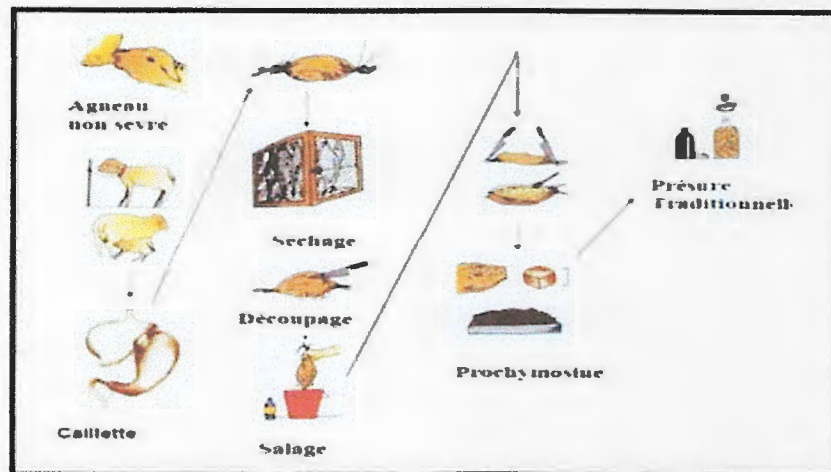


Figure 01 : Méthode traditionnelle de la préparation de présure traditionnelle (ECK, 1987).

✓ **Pepsine du poulet** : La pepsine du poulet est extraite du proventricule succenturié des volailles qui est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne, situé au-dessus du gésier et de nature glanduleuse, il est bordé des cellules spécialisées sécrétant une pro-enzyme protéolytique : le pepsinogène. Ce dernier est un agent coagulant des laits utilisés pour la fabrication de la majorité des fromages. En plus de la pepsine du poulet, il existe d'autres pepsine telles que : pepsine porcine et pepsine bovine (Benyahia, 2013).

Pour la préparation du proventricule succenturié : Après abattage, plumage et éviscération, les proventricules succenturiés sont récupérés du tube digestif de poulets par incision au niveau de la partie supérieure reliée au jabot et au niveau du col inférieur relié au gésier. La matière grasse couvrant le pro ventricule est complètement éliminée. Les proventricules succenturiés sont ouverts par incision longitudinale et rincés à l'eau courante pour éliminer les particules d'aliments adhérentes. Les proventricules succenturiés sont laissés s'égoutter puis conservés à -18°C jusqu'à leur utilisation (Benyahia, 2013).

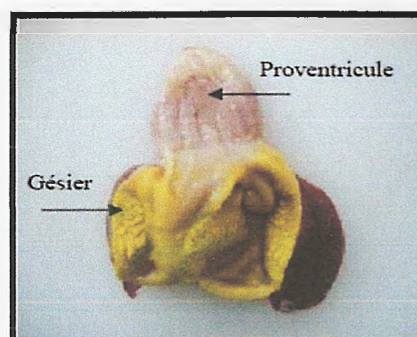


Figure 02 : Complexe stomacal du poulet (Benyahia, 2013).

Pour la préparation du gésier : Après abattage, plumage et éviscération, les gésiers sont récupérés du tube digestif de poulets. La matière grasse couvrant les gésiers est complètement éliminée. Les gésiers sont ouverts par incision longitudinale et les côtés sont écartés puis on retire la poche jaune orangé. Cette dernière est vidée de son contenu puis rincée par l'eau courante pour éliminer les particules d'aliments adhérentes puis laissé s'égoutter et broyé après leur séchage au soleil.

#### b. Les enzymes d'origine végétale

Plusieurs préparations coagulantes sont issues du règne végétal et sont obtenues par macération de différentes parties de plantes supérieures telle que l'artichaut et le cardon qui sont encore utilisés dans des fabrications traditionnelles (Ramet, 1997). L'utilisation de la fleur de cardon comme agent coagulant a été considérée comme l'une des facteurs déterminants de la qualité des fromages (Zhao et al., 2003) et dont l'extrait coagulant du *Cynara cardunculus* a fait l'objet de nombreuses études (Macedo et al., 1993; Martin et al., 1996 ; Vioque et al., 2001).

D'autres variétés des végétaux tropicaux fournissent des coagulases telles que les ficines extraites du latex du figuier, la papaine du papayer, la bromélaïne de l'ananas (Sardinas, 1968).

D'une façon générale, ces diverses préparations végétales se caractérisent par une activité protéolytique excessive ce qui confère un goût amer au fromage. L'activité coagulante de ces préparations végétales est très variable car elle est fortement influencée par l'état de maturité de la plante et par les conditions de collecte et de stockage (Lopez et al., 1996).

Le tableau suivant regroupe les différentes plantes utilisées pour la coagulation du lait en Algérie.

**Tableau 01 : Plantes locales utilisées pour la coagulation du lait ( Talantikite, 2015).**

Nom scientifique	Nom vulgaire	
	Français	Algérien
<i>Cynara scolymus</i> L.	Artichaut	Karnoune
<i>Cynara cardunculus</i> L.	Cardon	Thaga/ khorchef
<i>Cucurbita pépo</i> L.	Citrouille	Takhiart/ Garâa Kabouïa
<i>Ficus carica</i> L.	Figuier	Taguérourt/ Kerma

Pour l'obtention d'une activité coagulante optimale, les fleurs du cardon (*Cynara cardunculus*) doivent être récupérées à un stade avancé de floraison (violet foncé), à partir de capitules frais et bien développés (Roseiro et al., 2003). Traditionnellement, elles sont utilisées soit directement sans

être préalablement séchées ou bien après conservation dans une toile par un séchage à température ambiante et à l'abri des rayons solaires, dans un endroit bien aéré durant 10-20 jours (Roseiro et al., 2003 ; Aquilanti et al., 2011).



Figure 03 : Fleur de cardon ([www.naturamundi.com](http://www.naturamundi.com)).

Chapitre II: Les  
plans d'expériences et  
d'optimisation

## II. Les plans d'expériences et d'optimisation

### II.1. introduction

Un plan d'expériences est une méthode permettant d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles dans le but de retirer l'information correspondante à l'objectif fixé préalablement (Pierre, 2005 ; Pierre, 2008).

Les plans d'expériences forment un outil de pré-optimisation puissant (Ait ouahman, 2010), pour trouver une ou des solutions au problème posé, mais aussi comme une étape préliminaire à l'optimisation et a alors pour objectif le choix des variables à optimiser et des fonctions à prendre en compte dans une formulation mathématique classique pour résoudre le problème par une méthode de gradient par exemple.

Dans toutes les disciplines, il est fréquent de souhaiter d'étudier un phénomène dépendant de différents paramètres. La méthode intuitive n'est pas toujours la meilleure. Elle consiste généralement à fixer le niveau de toutes les variables sauf une et de mesurer la réponse pour plusieurs valeurs de la variable mobile (figure 4) (Kara, 2013).

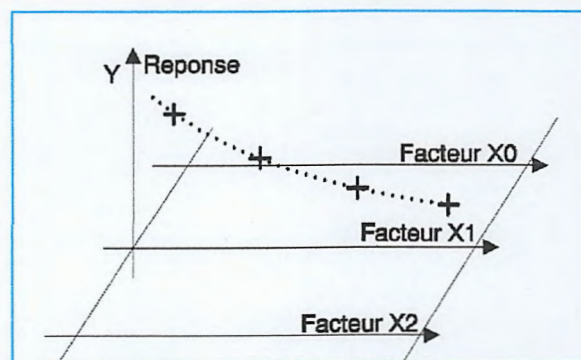


Figure 04 : Méthode traditionnelle d'expérimentation (Kara, 2013)

La variable  $X_1$  prend des niveaux différents, les autres variables sont fixées (Gilon, 1997).

Si plusieurs paramètres doivent être étudiés, il faut répéter cette technique pour chaque paramètre. Par exemple, si l'on souhaite étudier 7 paramètres à 4 niveaux, il faut donc réaliser 16384 ( $4^7$ ) expériences. Ce nombre d'expériences représente un travail gigantesque et souvent irréalisable. Pour résoudre ce problème, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse (Box et al., 2005). Deux solutions sont alors envisageables :

- Réduire le nombre de niveaux ou, et ;
- Réduire le nombre de paramètres.



La méthode des plans d'expériences repose sur des bases statistiques. La différence principale avec la méthode intuitive vient du fait que l'on fait varier tous les niveaux à la fois à chaque expérience. Avec cette méthode on obtient le maximum de précisions dans les résultats avec le minimum d'expériences (Gilon, 1997).

## II.2. Les différents types des plans d'expériences

Trois grandes familles de plans d'expériences sont présentes, plans de mélange, plans de criblage et plans de modélisation (surfaces de réponses) (Goupy, 2006).

### II.2.1. Plans de mélanges

Les plans de mélange sont des plans d'expériences particuliers adaptés à l'étude des facteurs qui ne sont pas indépendants. Ils sont principalement utilisés pour l'étude de l'influence des proportions des compositions d'un produit sur une réponse donnée (Goupy, 2005).

### II.2.2. Plans de criblage

L'objectif de ces plans est de repérer les facteurs les plus influents sur une réponse donnée avec un minimum d'essais. Parmi les plans proposés il y a : plans factoriels complets à deux niveaux, plans factoriels fractionnaires et plans de Plackett-Burman (Angellier, 2005).

#### II.2.2.1. Plans factoriels complets à 2 niveaux

Les plans factoriels complets en tant que plans d'expériences sont issus des travaux de Ronald Aylmer Fisher (Fisher, 1926). Pour ces plans le nombre de niveaux de chaque facteur est restreint à deux et le nombre des essais réalisés est égal à  $2^k$  ( $k$  représente le nombre de facteurs). Un plan factoriel permet d'estimer, non seulement les effets des facteurs ( $A, B, C, \dots$ ), mais également toutes leurs interactions deux à deux, trois à trois, ..., jusqu'à  $A.B.C.D.E, \dots$ , qui fait intervenir les  $k$  facteurs de l'étude (Goupy, 1990).

Les avantages des plans factoriels complets sont nombreux, dont les principaux sont (Goupy, 1990) :

- ✓ Comme chaque facteur ne prend que deux niveaux les essais sont faciles à contrôler et les risques d'erreurs sont minimisés ;
- ✓ Les plans factoriels complets sont faciles à construire ;
- ✓ Les plans factoriels complets sont des plans d'expériences optimaux qui étudient toutes les combinaisons possibles des niveaux des facteurs traités et qui nous garantissent les meilleurs résultats ;

- ✓ Les résultats obtenus avec un premier plan peuvent être utilisés en partie ou en totalité soit, pour explorer une zone du domaine expérimental soit, pour établir un modèle mathématique de degré plus élevé.

Le seul inconvénient de ces plans est que le nombre des essais à réaliser devient rapidement important en augmentant le nombre de facteurs. Par exemple, pour étudier simplement 7 facteurs il faut réaliser 128 expériences. Cependant, de nombreuses interactions sont nulles et certains facteurs sont sans influence (Kimouche, 2008).

### II.2.2.2. Plans fractionnaires à deux niveaux

Les plans factoriels fractionnaires sont des plans factoriels permettant d'étudier tous les facteurs avec un nombre d'essais réduits par rapport aux plans factoriels complets en focalisant l'attention sur les effets les plus intéressants (Goupy, 2006).

Lorsque le nombre de facteurs augmente, la solution proposée par les plans fractionnaires, consiste à utiliser pour l'étude de  $k$  facteurs les matrices des effets des plans complets  $2^{k-1}$ , ou  $2^{k-2}$ ... ou  $2^{k-p}$ . Les plans fractionnaires sont appelés pour cette raison plans  $2^{k-p}$  (Goupy, 1990). Les plans fractionnaires sont alors indispensables pour réduire le nombre d'essais.

### II.2.2.3. Les plans de Plackett-Burman

Plackett et Burman ont publié leur étude en 1946 dans *Biometrika* où ils ont expliqué comment construire des plans permettant d'étudier un grand nombre de facteurs avec peu d'essais. Ils attribuent deux niveaux à chaque facteur et supposent que toutes les interactions entre les facteurs sont négligeables devant les effets principaux (Goupy, 1990 ; Lewis et al., 1999). Le plan de Plackett-Burman est basé sur la matrice d'Hadamard qui présente les propriétés suivantes (Deming et Morgan, 1988 ; Chagnon, 2005) :

- ✓ les éléments sont +1, -1 ;
- ✓ les matrices sont carrées et possèdent un nombre de ligne (ou de colonne) égale à 2 ou un multiple de 4.

L'inconvénient remarquable concernant les plans fractionnaires est la faiblesse dans l'hypothèse de linéarité des variables (la variation de la réponse est linéaire lorsque le facteur passe du niveau -1 au niveau +1) (Goupy, 1990).

### II.2.3. Plans de modélisation

L'objectif de ce plan est de trouver la relation mathématique du second degré qui lie les réponses mesurées aux facteurs.

Les plans factoriels complets sont également utilisables pour la modélisation mais, étant donné qu'il n'y a que deux niveaux par facteur, seuls des modèles du premier degré peuvent être utilisés. L'intérêt de ces plans est de faciliter le développement séquentiel d'une étude. On peut commencer par un plan factoriel et poursuivre l'expérimentation par un plan étoile. On aboutit alors à un plan composite interprétable à l'aide d'un modèle du deuxième degré (Angellier, 2005).

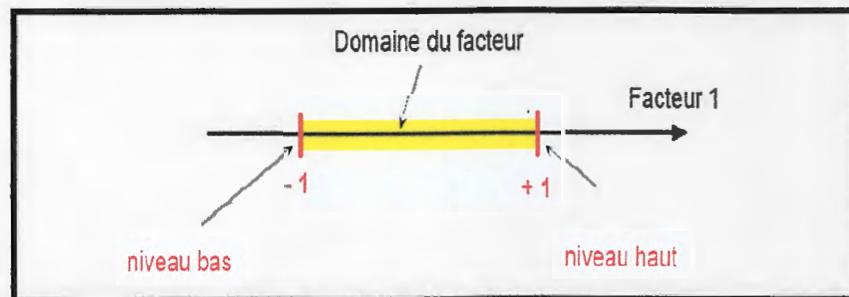
Il existe plusieurs types de plans du second degré, les plus importants sont :

- ✓ les plans composites centrés ;
- ✓ Les plans de Box-Behnken ;
- ✓ Les plans de Doehlert.

### II.3. Notions des plans d'expériences (espace expérimental / surface de réponse)

#### II.3.1. Notions d'espace expérimental

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la réponse, c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables. Au lieu du terme «variable» on utilisera le mot facteur. La réponse dépend donc de un ou de plusieurs facteurs. Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (Figure 05). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas. La borne supérieure est le niveau haut.



**Figure 05 :** Le niveau bas du facteur est noté par - 1 et le niveau haut par +1. Le domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut (Goupy, 2006).

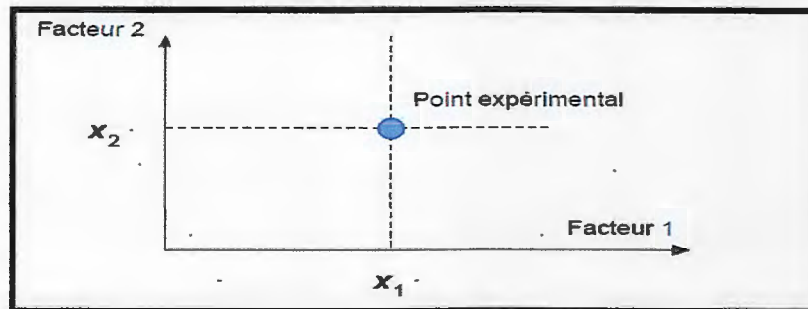
L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur. On a l'habitude de noter le niveau bas par -1 et le niveau haut par +1 (Goupy, 2009).

S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé l'espace expérimental (Figure 06) (Goupy, 2006).



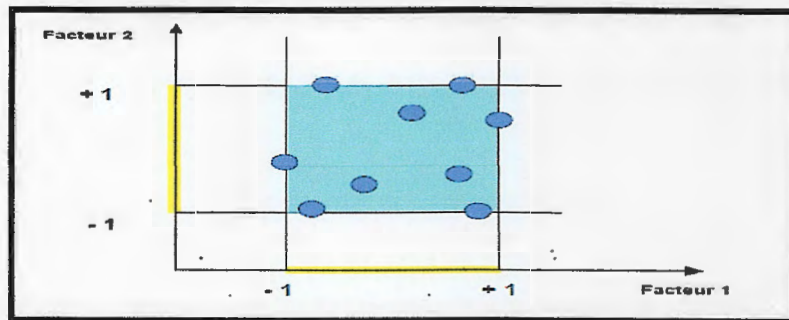
**Figure 06** : Chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux entre eux. L'espace ainsi défini est l'espace expérimental (Amirouche, 2011).

Le niveau  $x_1$  du facteur 1 et le niveau  $x_2$  du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental (Figure 07). Une expérience donnée est alors représentée par un point dans ce système d'axes. Un plan d'expériences est représenté par un ensemble de points expérimentaux (Ouali, 2008).



**Figure 07** : Dans l'espace expérimental, les niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux (Goupy, 2001).

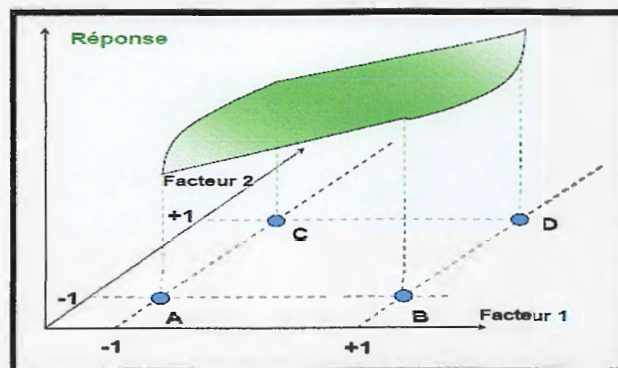
Le regroupement des domaines des facteurs définit le «domaine d'étude». Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (Figure 08) (Goupy, 2006).



**Figure 08 :** Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur (Amirouche, 2011).

### II.3.2. Notions de surface de réponse

Les niveaux  $x_i$  représentent les coordonnées d'un point expérimental et  $y$  est la valeur de la réponse en ce point. On définit un axe orthogonal à l'espace expérimental et on l'attribue à la réponse. La représentation géométrique du plan d'expériences et de la réponse nécessite un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs. A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponses (Figure 09). Le nombre et l'emplacement des points d'expériences est le problème fondamental des plans d'expériences. On cherche à obtenir la meilleure précision possible sur la surface de réponse tout en limitant le nombre d'expériences (Goupy, 1999).



**Figure 09 :** Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse (Goupy, 2006).

### II.4. Le modèle Box-Behnken

Le modèle Box-Behnken est un modèle factoriel fractionnaire à trois niveaux développée par Box et Behnken (Box et Behnken, 1960). Le modèle peut être considéré comme une combinaison entre un

modèle factoriel à deux niveaux et un modèle à blocs incomplets. Dans chaque bloc, certains facteurs sont soumis à toutes les combinaisons du modèle factoriel, tandis que les autres facteurs sont maintenus à leurs niveaux centraux.

Le Box-Behnken est un bon modèle pour la méthodologie nommée « surface de réponse », il permet (Ferreira *et al.*, 2007):

- ✓ L'estimation des paramètres du modèle quadratique ;
- ✓ La détection des lacunes d'ajustement du modèle ;
- ✓ L'utilisation des blocs.

Le modèle Box-Behnken offre une alternative économique par rapport au modèle composite centrale (modèle factoriel fractionnaire à cinq niveaux développé par Box et Wilson (1951), se compose généralement d'une conception factorielle complète  $2n$  (Kuehl, 2000)), car le nombre des niveaux des facteurs est inférieur à celui de la composite centrale et ne contient pas des niveaux extrêmement hauts ou des niveaux extrêmement bas. Cette approche a été largement utilisée dans les processus d'optimisation des conditions de fermentation, il a été aussi utilisé pour la production des enzymes, la production d'autres métabolites, la production de spores et la production de biomasse, (Yu *et al.*, 1997 ; Sunitha *et al.*, 1998 ; Sadhukan *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2002).

# *Matériels et Méthodes*

## II. Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau des laboratoires du département de microbiologie appliquée et des sciences alimentaires de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Jijel, durant la période Avril -juin de l'année 2016.

### II.1. Matériel biologique

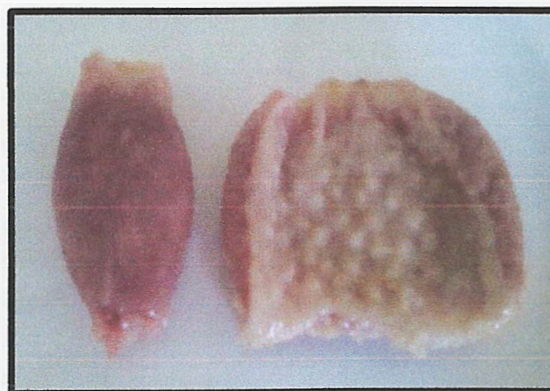
#### II.1.1. Le lait

Au cours de notre étude, nous avons utilisé deux types de lait :

- ✓ **Le lait cru de vache** : des échantillons du lait cru de vaches ont été collectés auprès d'une petite ferme située dans la région de Taher à Jijel. Les échantillons ont été maintenus sous froid dans un système réfrigérant (une glacière iso-thermique) et rapidement transférés au laboratoire dans un délai ne dépassant pas les 24 heures ;
- ✓ **Le lait écrémé en poudre de type « Low Heat »** : fourni gracieusement par l'unité laitière IGILAIT de Jijel, utilisé pour la préparation du substrat de Berridge et pour l'enrichissement du lait de vache.

#### II.1.2. Les proventricules succenturiés de poulet

Les proventricules succenturiés ont été prélevés, au niveau de "l'abattoir LAOUAR", wilaya de Jijel. Après abattage et éviscération, les proventricules succenturiés ont été récupérés du tube digestif de poulets âgés entre 55 et 60 jours. La matière grasse couvrant le proventricule succenturié a été complètement éliminée, les proventricules succenturiés ont été rincés à l'eau courante pour éliminer les particules d'aliments adhérentes. Après égouttage, les proventricules succenturiés ont été acheminés au laboratoire dans une glacière. Une fois arrivés au laboratoire, ils ont été conservés à 4°C jusqu'à utilisation. La figure suivant illustre la forme externe et interne du proventricule succenturié.



**Figure 10** : Proventricule succenturiés de poulet avant et après l'incision.



### **II.1.3. Les Produits chimiques et réactifs**

Lors de la réalisation de cette étude, les produits et réactifs suivants ont été utilisés :

- Acide chlorhydrique (3N) ;
- Alcool iso-amylique ;
- Acide sulfurique (0,1N) ;
- Acide borique ;
- Bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ )
- Chlorure de calcium (0,01N) ;
- Chlorure de sodium (NaCl) ;
- Chlorure de potassium (KCl) ;
- Eau distillée ;
- Hydroxyde de sodium (0,1N et 1N) ;
- Phénolphtaléine ;
- Réactif de Tashiro ;
- Soude Dornic ;
- sulfate de cuivre ;
- sulfate de potassium.

### **II.1.4. Appareillage et autres**

Nous nous servons au cours de notre étude des appareils suivants :

- Agitateur électrique avec barreau magnétique ;
- Appareil Kjeldahl ;
- Autoclave (Shiavax- Electronic) ;
- Bain-marie (Memmert);
- Balance analytique de précision (Kernals 220.4N), balance(Denver) ;
- Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) ;
- Etuve électrique de séchage maintenue à 30°C-50°C et 103±2°C (Memmert);
- Four à moufle maintenue à 550°C ;
- Hachoir à viande ;
- Mortier ;
- pH-mètre(Hanna) ; Thermomètre ;
- Réfrigérateur, congélateur ; Plaque chauffante.

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction de la pepsine pro-ventriculaire

II.2.1.1. Le diagramme d'extraction

La pepsine a été extraite à partir des proventricules du poulet selon la méthode de **Bohak (1970)**. Après récupération des proventricules, ils ont été broyés et macérés dans une solution contenant du NaCl et du NaHCO<sub>3</sub> pendant trois heures. Par la suite, le pepsinogène contenu dans l'extrait brut (filtrat) a été converti en enzyme active en abaissant le pH à pH 2,0 par addition d'une solution d'HCl 3N. Après activation, un ajustement du pH à pH 6,6 a été réalisé pour tester l'activité enzymatique par l'utilisation d'une solution de NaOH à 1N (Annexe IV).

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 11.

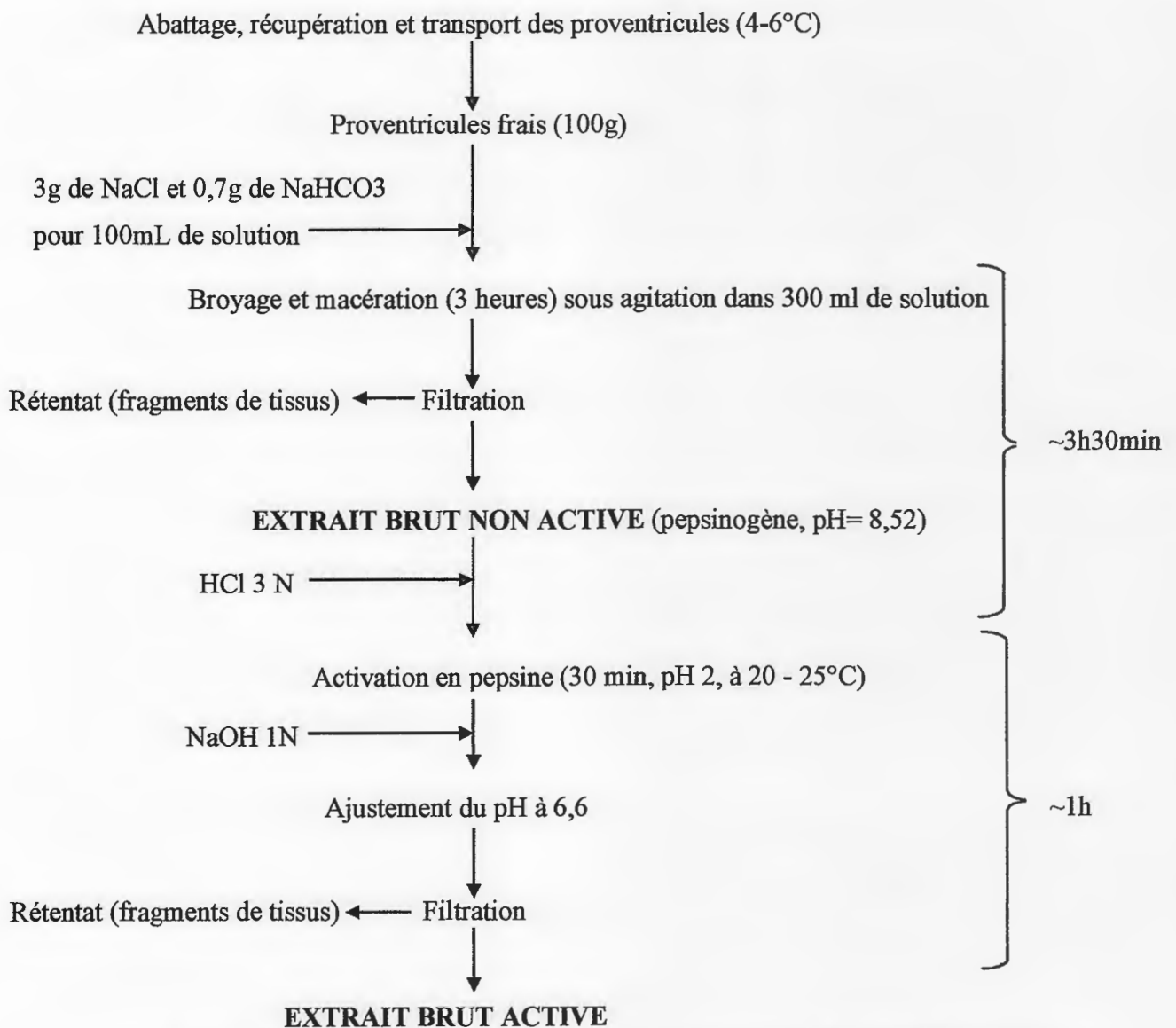


Figure 11 : Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet selon BOHAK (1970).

## II.2.2. Propriétés coagulantes de l'extrait enzymatique

### II.2.2.1. Activité coagulante

L'activité coagulante est représentée par un rapport de quantité, entre un certain volume d'enzyme et un certain volume de lait amené à coaguler dans des conditions fixées arbitrairement.

Le procédé consiste à ajouter 1 ml d'extrait coagulant à 10 ml de substrat standard préparé par la dissolution du lait de type « low heat » à 12% (P/V) dans une solution de CaCl<sub>2</sub> (0.01M) et ajustement du pH à pH6.5 par une solution de NaOH 0.1N (Annexe III). Cette préparation a été effectuée à température ambiante avec agitation magnétique pendant 15mn suivi d'un repos pendant 60mn. Le substrat standard a été réparti dans des tubes à essais, à raison de 10ml/tube, suivi d'une incubation dans le bain Marie à 30°C pendant 15mn. L'addition d'extrait enzymatique a été réalisée à raison de 1ml/10ml de substrat standard. Une homogénéisation immédiate et rapide a été nécessaire. Dans le bain Marie, les trois retournements successifs du mélange après 30 secondes correspondent au temps zéro (Berridge, 1955 ; Allais, 1974). L'observation des premiers flocons correspond au temps de coagulation (Figure 12).

L'unité d'activation coagulante (U.A.C) ou «unité de présure » (UP) est définie comme étant la quantité d'enzyme par millilitre d'extrait enzymatique qui provoque la floculation de 10 ml de substrat en 100 sec à 30 °C et elle est calculé comme suit (Berridge, 1955) :

$$UP=100 \times V/10 \times Tc \times Q$$

Avec :

**UP** : unité présure ;

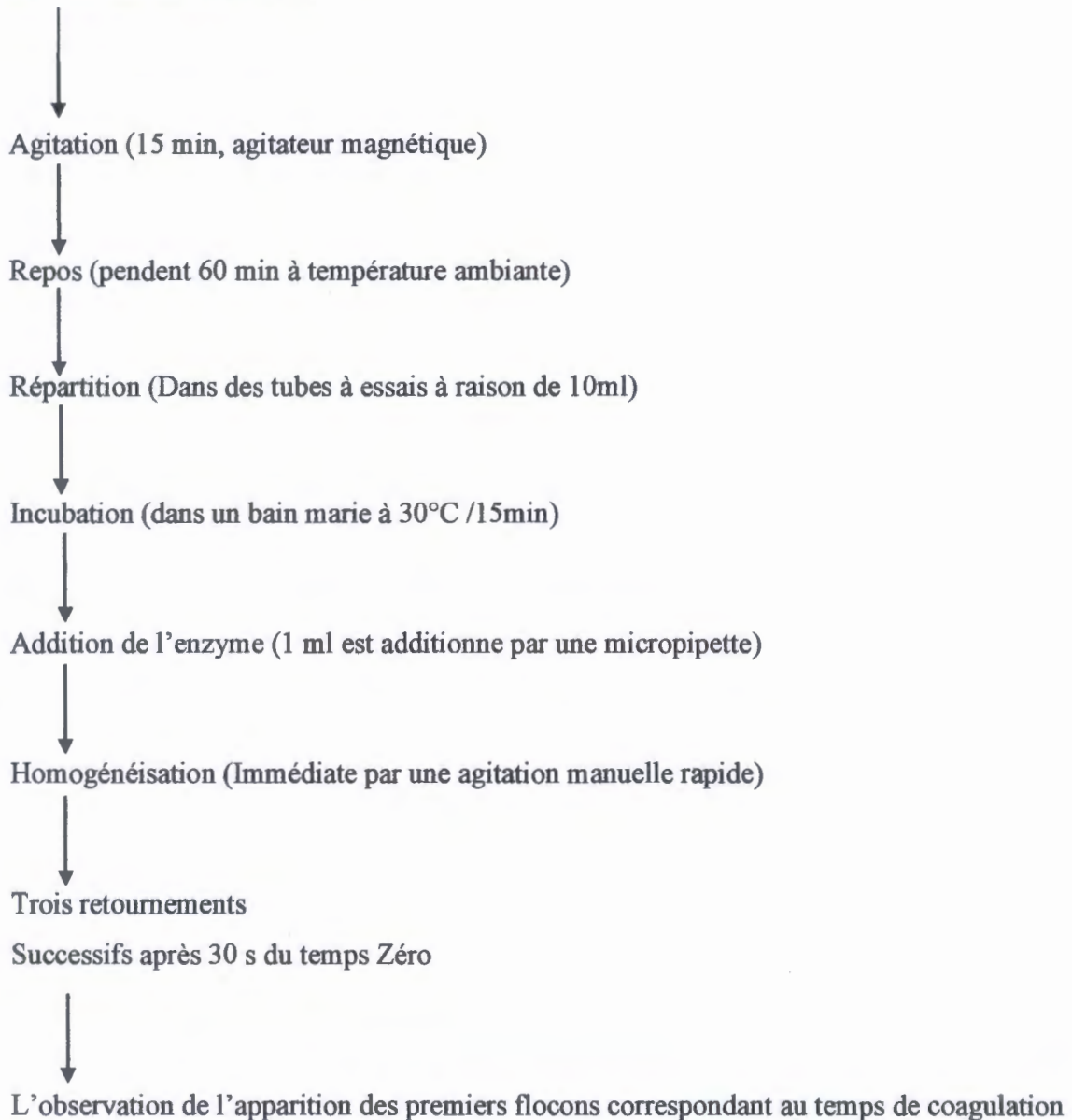
**V** : volume de substrat standard utilisé (ml) ;

**Q** : volume d'extrait coagulant (ml) ;

**Tc** : temps de coagulation (seconde).

L'activité coagulante, donnée en U.A.C/ml, pour un même échantillon est exprimée par la moyenne arithmétique de trois essais répétés.

Lait écrémé en poudre « Low heat » ( $12 \text{ g} \pm 0,02$ ) dissous dans 100 ml d'une solution aqueuse de  $\text{CaCl}_2$  (0,01M)



**Figure 12 :** Etapes de mesure du temps de floculation par méthode de **Berridge (1955)**.

#### **II.2.2.2. Estimation de la dilution coagulante**

Le pouvoir coagulant des protéases est déterminé par mesure de l'activité coagulante. Cette activité s'exprime par la rapidité avec laquelle l'enzyme employé coagule le lait. L'activité coagulante a été testée sur du lait écrémé comme substrat par mesure du temps de floculation à 30°C selon la méthode de **Berridge (1955)**. Le procédé consiste à ajouter 1 ml d'extrait coagulant dilué à 10 ml de substrat standard préparé, suivi d'une incubation dans le bain Marie à 30°C. Le temps de floculation correspond à la durée s'écoulant depuis l'addition de l'extrait enzymatique jusqu'à

l'apparition de fins flocons sur la paroi interne du tube à essai et le temps de floculation est noté (Gordin et Rosenthal, 1978). L'extrait enzymatique testé a été dilué pour donner un temps de floculation entre 300 sec et 360 sec (Annexe I, Annexe II) (Green *et al.*, 1984).

### **II.2.2.3. Détermination de la force coagulante**

La force de présure ou l'unité soxhlet (US) correspond au nombre d'unités de poids ou de volumes de lait coagulable en 40 min par une unité de poids ou de volume de préparation enzymatique à 35 °C. Ainsi, un extrait de force 1/10 000 signifie qu'un litre de l'extrait enzymatique provoque la coagulation de 10 000 litres de lait à 35 °C pendant 40 min (Alais, 1974).

Le procédé consiste à ajouter 1 ml d'extrait coagulant à 10 ml de substrat standard préparé, suivi d'une incubation dans le bain Marie à 35°C. Le temps de floculation correspond à la durée s'écoulant depuis l'addition de l'extrait enzymatique jusqu'à l'apparition de fins flocons sur la paroi interne du tube à essai.

Elle est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Force} = 2400 \times V / T \times V'$$

Avec :

**2400** : 40min × 60sec ;

**V** : volume du lait en ml ;

**V'** : volume de l'extrait enzymatique en ml ;

**T** : temps de floculation en secondes.

La force mesurée pour un même échantillon est la moyenne issue de trois essais répétés.

### **II.2.3. Analyses physico-chimiques de la matière première**

#### **II.2.3.1. Détermination du pH et l'acidité titrable**

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné (Vignola *et al.*, 2002). Le principe de détermination consiste en la mesure directe du pH juste après la traite et dès l'arrivée des échantillons au laboratoire à une température de 20°C à l'aide d'une électrode du pH-mètre (HI 2210 pH meter HANNA Instruments) étalonné. Ce dernier a été plongé dans un volume de lait placé dans un Becher et la valeur du pH a été enregistrée directement sur l'écran (Labioui *et al.*, 2009).

Pour la détermination de l'acidité titrable, chaque échantillon de lait (10ml) a été placé dans un bécher. L'échantillon a été titré par une solution de soude Dornic (N/9) placée dans une burette en

présence de quelques gouttes de phénol-phtaléine à 1% jusqu'à l'apparition d'une couleur rose très pâle persistante (10 secondes environ) (Larpen, 1997).

Les résultats sont exprimés en degré Dornic ou en pourcentage de l'acide lactique (AFNOR, 1993).

L'acidité est déterminée par la formule :

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

Avec :

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

Les mesures sont faites en triple.

#### **II.2.3.2. Mesure de la densité**

Chaque échantillon du lait a été homogénéisé par transvasement en évitant la formation de la mousse. Le lait a été versé dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse. Le thermo lactodensimètre a été plongé doucement dans le lait en le retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre. Il doit flotter librement dans le lait (ne toucher ni le fond ni les parois de l'éprouvette). Dès que l'équilibre a été établi la lecture de la densité brute a été faite au niveau supérieur du ménisque d'affleurement du lait sur la tige (Bouichou, 2009).

#### **II.2.3.3. Détermination de la teneur en matière sèche**

Pour la réalisation de cette manipulation, un volume de 10 ml de chaque échantillon du lait prélevé à l'aide d'une pipette graduée a été introduit dans un creuset séché et préalablement peser. Ce dernier a été placé dans une étuve réglée à la température  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 3heures, jusqu'à l'évaporation totale de l'eau. La matière sèche a été déterminée par des pesées répétées jusqu'à avoir un poids constant du lait à sécher.

Le résultat est exprimé de la manière suivante (Lecoq, 1965) :

$$\text{MS (\%)} = X/Y \times 100$$

Avec :

**MS** : matière sèche ;

**X** : poids de l'échantillon en gramme après étuvage ;

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

#### **II.2.3.4. Détermination de la teneur en matière minérale**

La teneur en cendres a été déterminée après incinération de 10 ml de chaque échantillon du lait placé dans un creuset déjà séché et taré. Cette préparation a été placée dans un four à moufle réglée

à la température de 530 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le résultat est calculé de la manière suivante (Lecoq, 1965) :

$$\text{MM (\%)} = \text{X/Y} \times 100$$

Avec :

**MM** : matière minérale ;

**X** : poids de l'échantillon en gramme après incinération ;

**Y** : poids de l'échantillon en gramme avant incinération.

#### **II.2.3.5. Dosage de la matière grasse**

La teneur en matière grasse a été déterminée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber (AFNOR, 1993), qui consiste en une attaque du lait par l'acide sulfurique et séparation par centrifugation en présence d'alcool iso-amylique de la matière grasse libérée (AFNOR, 2001).

11 ml de chaque échantillon du lait homogénéisé ont été introduits à l'aide d'une pipette dans le butyromètre. 10 ml d'acide sulfurique ont été ajoutés dans le butyromètre d'une façon à éviter de mouiller les bordures. Le butyromètre a été bouché après l'addition de 1 ml d'alcool iso-amylique. Une agitation a été réalisée jusqu'à ce que la caséine soit entièrement dissoute. Le butyromètre par la suite a été centrifugé à 1000-1200 tours pendant 5 à 6 minutes à une température de 65°C.

Deux phases apparaissent l'une foncée, l'autre claire. C'est la phase claire qui représente le pourcentage de matière grasse dans le lait et qu'on peut lire sur l'échelle graduée du butyromètre (Abi azar, 2007).

#### **II.2.4. Fabrication du fromage**

Au niveau du laboratoire de microbiologie, 74 échantillons d'un produit laitier traditionnel « *Jben* » ont été préparés à partir du lait cru de vache. L'échantillon « *Jben* » a été conservé dans un réfrigérateur au laboratoire jusqu'à utilisation (72h au maximum).

Le diagramme de fabrication est indiqué dans la figure 13.

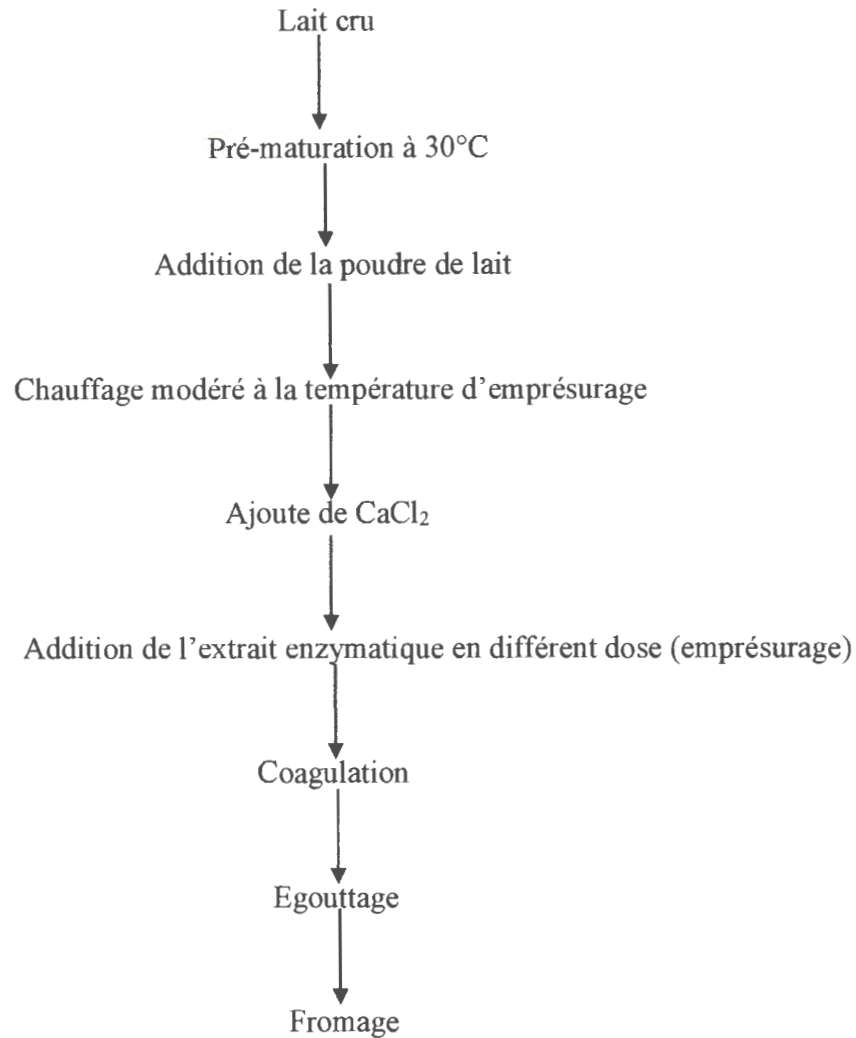


Figure 13 : Diagramme de fabrication de produit laitier traditionnel « Jben ».

### II.2.5. Détermination des facteurs qui influent significativement la production du fromage Jben et domaine d'étude

La fabrication du fromage traditionnel Algérien *Jben* passe par trois étapes principales: la pré-maturation du lait; l'emprésurage et la coagulation. Ces différentes étapes sont influencées par plusieurs facteurs. Dans un but de sélectionner les facteurs qui influent le plus la fabrication de ce fromage traditionnel, 5 facteurs ont été étudiés où chaque facteur a été représenté par deux niveaux ; le niveau (-1) représente la valeur minimale du facteur étudié et le niveau (+1) représente la valeur maximale). Les facteurs examinés lors de cette étude ainsi que le domaine de variation sont précisés dans le tableau 2.



**Tableau 2 : Facteurs et domaine d'étude.**

Facteur	Unité de mesure	Niveau -1	Niveau +1
Enrichissement de la matière première	g	0	15
pH	/	5	6.5
CaCl <sub>2</sub>	g	0.01	0.075
Dose de l'enzyme coagulant	ml	0.08	1
Température d'emprésurage	°C	30	50

### II.2.5.1. Démarche expérimentale

Dans un premier temps nous avons décidé de faire appel à un plan de criblage. C'est un plan de premier degré permettant de trouver les facteurs les plus influents sur une réponse. Il est également utile pour évaluer la pertinence d'un modèle de premier degré.

Nous avons choisi le plan de Plackett-Burman car c'est généralement le plus employé dans les études d'optimisation en raison de sa minimisation de nombre d'essais.

### II.2.5.2. Construction du plan de criblage et réalisation des essais

#### II.2.5.2.1. Matrice des expériences

La matrice d'expérience est un objet mathématique qui représente, sous forme codée ou non codée, l'ensemble des expériences à réaliser. C'est un tableau constitué de **n** lignes correspondant aux **n** expériences à réaliser et de **k** colonnes, correspondant aux **k** variables étudiées. Le plan de Plackett et Burman pour 5 facteurs, comprend 12 essais. Il a été obtenu à l'aide du logiciel JMP (Version10) (tableau3).

**Tableau 3 : Matrice des expériences du plan de criblage.**

Essai	X1	X2	X3	X4	X5	Y
1	+1	+1	+1	+1	+1	
2	-1	+1	-1	+1	+1	
3	-1	-1	+1	-1	+1	
4	+1	-1	-1	+1	-1	

5	-1	+1	-1	-1	+1
6	-1	-1	+1	-1	-1
7	-1	-1	-1	+1	-1
8	+1	-1	-1	-1	+1
9	+1	+1	-1	-1	-1
10	+1	+1	+1	-1	-1
11	-1	+1	+1	+1	-1
12	+1	-1	+1	+1	+1

X1 : Enrichissement    X2 : pH    X3 : Chlorure de calcium    X4 : Dose d'extrait enzymatique  
X5 : Température de coagulation    Y : réponse

### II.2.6. Optimisation de la production de fromage par le modèle de Box-Behnken

Après sélection des facteurs qui affectent la production du fromage, le modèle de Box-Behnken a été appliqué afin d'optimiser les principales variables. Ces facteurs ont été présentés par trois niveaux codés par -1, 0 et +1 pour le minimum, le moyen et le maximum respectivement. Le tableau 04 regroupe les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux.

**Tableau 04:** les facteurs sélectionnés par le model Box Behnken pour l'optimisation de la production du fromage.

Facteur	Unité de mesure	Niveau -1	Niveau 0	Niveau +1
Enrichissement de la matière première	g	10	15	20
pH	/	5.75	6.25	6.75
Dose de l'enzyme coagulant	ml	0.5	1	1.5
Température d'emprésurage	°C	40	50	60

Le plan de Box-Behnken pour 4 facteurs comprend 27 essais, il a été obtenu à l'aide du logiciel JMP (Version 10) (tableau 5).

**Tableau 5 : Matrice des expériences du plan Box- Behnken.**

Essai	X1	X2	X3	X4	Y
1	-1	-1	0	0	
2	-1	+1	0	0	
3	+1	-1	0	0	
4	+1	+1	0	0	
5	0	0	-1	-1	
6	0	0	-1	+1	
7	0	0	+1	-1	
8	0	0	+1	+1	
9	-1	0	0	-1	
10	-1	0	0	+1	
11	+1	0	0	-1	
12	+1	0	0	+1	
13	0	-1	-1	0	
14	0	-1	+1	0	
15	0	+1	-1	0	
16	0	+1	+1	0	
17	-1	0	-1	0	
18	-1	0	+1	0	
19	+1	0	-1	0	
20	+1	0	+1	0	
21	0	-1	0	-1	
22	0	-1	0	+1	
23	0	+1	0	-1	
24	0	+1	0	+1	
25	0	0	0	0	
26	0	0	0	0	
27	0	0	0	0	

X1 : Enrichissement    X2 : pH    X3 : Chlorure de calcium    X4 : Dose d'extrait enzymatique  
 X5 : Température de coagulation    Y : réponse

Afin de prédire le point optimal, une fonction polynomiale de second ordre a été élaborée.

Elle permet d'étudier la relation entre les variables indépendantes et la réponse (la production du fromage). La forme générale de l'équation polynomiale du second ordre est la suivante :

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

Avec :

$Y_i$  est la réponse ;

$\beta_0$  est la constante du modèle ;

$X_i, X_j$  sont les variables indépendantes ;

$\beta_i$  est le coefficient linéaire ;

$\beta_{ij}$  est le coefficient d'interaction ;

$\beta_{ii}$  est le coefficient quadratique.

L'analyse statistique du modèle est exécutée en analysant la variance (ANOVA). Cette analyse inclut le test du Fischer (signification du modèle globale), sa probabilité associée  $p(F)$ , le coefficient de corrélation  $R$  et le coefficient de détermination  $R^2$  qui mesure la qualité d'ajustement du modèle de régression. Pour chaque variable, les modèles quadratiques sont représentés par les contours plot et les courbes de la surface de réponse (3D). Cette analyse est réalisée par le logiciel JMP (Version 10).

## **II.2.7. Evaluation de la qualité du fromage**

### **II.2.7.1. Qualité physico-chimique du fromage**

#### **II.2.7.1.1. Mesure du pH et acidité titrable**

Chaque échantillon de fromage (10 g) a été homogénéisé avec 50 ml d'eau distillée à l'aide d'un appareil Stomaker. Le pH de l'échantillon a été déterminé en utilisant un pH-mètre où l'électrode a été insérée directement dans le mélange à une température de 20 à 25°C (**Owusu-Kwarteng et al., 2012**).

Pour la détermination de l'acidité titrable, chaque échantillon de fromage (10 g) a été pesé et broyé puis mis dans une fiole jaugée, pour obtenir un volume égale à 105ml, ce dernier a été ajusté jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée chauffée à 40°C. Cette solution a été agitée vigoureusement puis filtrée. 25 ml de la solution filtrée a été utilisée pour le titrage en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine à 1% comme indicateur coloré. La titration a été réalisée avec une solution de NaOH (0,1 N) jusqu'à apparition d'une couleur rose permanente (**AOAC, 1980**). Les mesures sont faites en triple.

Le résultat est exprimé en pourcentage d'acide lactique dans 100g de fromage. 1ml de NaOH correspond à 0,0090g d'acide lactique.

$$\% \text{ d'acide lactique} = (V_{\text{NaOH } 0,1 \text{ N}} (\text{ml}) \times 0,009 \times 100) / \text{Fromage (g)}$$

Avec :

$V_{\text{NaOH } 0,1 \text{ N}}$  : le volume en ml de la solution de NaOH utilisée.

#### **II.2.7.1.2. Détermination de la teneur en matière sèche**

Une prise d'essai de 3 g de chaque échantillon de fromage a été étalée sur toute la surface d'une capsule en aluminium préalablement tarée. Cette préparation est placée dans une étuve à 103°C (AOAC, 1980). La valeur de l'extrait sec en pourcentage (%) est déterminée par la relation suivante:

$$\%MS = m_{\text{sec}} / m_i \times 100$$

Avec:

$m_i$  : masse de l'échantillon initial (g) ;

$m_{\text{sec}}$  : masse de l'échantillon sec (g) après passage dans l'étuve à 103 °C.

#### **II.2.7.1.3. Détermination de la teneur en matière minérale**

Pour la réalisation de cette manipulation, 5 g de chaque échantillon de fromage ont été calcinées dans un creuset à une température de 550°C dans un four à moufle pendant 4 heures, par la suite les cendres contenues dans les creusets ont été transférées dans un dessiccateur puis pesées par une balance de précision (AOAC, 2002).

La teneur en cendre est déterminée par la formule suivante :

$$MM(\%) = (M_f - M_0 / 5) \times 100$$

Avec :

$M_f$  : masse à vide du creuset plus celle des cendres.

$M_0$  : masse à vide du creuset.

#### **II.2.7.1.4. Mesure de la teneur en matière grasse**

La matière grasse a été déterminée par la méthode de Gerber ou méthode acido-butyrométrique de VAN GULIK (ISO : 3433-2002).

Dans un contenant en verre préalablement taré, 3 g de chaque échantillon de fromage ont été introduits. Par la suite, le gobelet a été introduit dans la panse du butyromètre et le bouchon a été fixé au col. De l'acide sulfurique a été ajouté par l'ouverture de la tige jusqu'à ce que le niveau d'acide dépasse le gobelet de 2 mm environ.

Après avoir bouché l'ouverture de la tige, le butyromètre a été placé dans un bain d'eau à 65°C. Le butyromètre a été agité de temps en temps dans un plan horizontal jusqu'à dissolution complète de la prise d'essai. Ensuite, de l'acide sulfurique a été ajouté jusqu'au trait 35 ml de la graduation en présence d'1 ml d'alcool iso-amylique. Le butyromètre a été agité énergiquement dans un agitateur vortex pour rendre le liquide homogène et placé ensuite dans le bain d'eau pendant 5 min. Après

centrifugation pendant 10 min, le butyromètre a été placé de nouveau dans le bain d'eau pendant 5 min. La teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur la graduation du butyromètre.

#### **II.2.7.1.5. Dosage de l'azote total**

La détermination de l'azote total a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1997). Cette dernière s'effectue en trois principales étapes qui sont (Kjeldahl, 1883) :

- ✓ **La minéralisation** : Dans un matras de Kjeldahl, 1 g de chaque échantillon du fromage a été introduit avec 2 g du catalyseur (mélange de sulfate de cuivre et sulfate de potassium) et 25 ml de d'acide sulfurique concentré à 97%. Le mélange a été porté au chauffage jusqu'à ce que la couleur devienne limpide, à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral. Après refroidissement, le contenu du matras a été transféré dans une fiole de 100 ml, le matras a été lavé avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.
- ✓ **La distillation** : 10 ml du contenu de la fiole ont été introduits dans un matras avec 20 ml d'eau distillée et 30 ml de la soude à 35 %. En parallèle, une solution d'acide borique à 0,1N avec 10 gouttes d'indicateur de Tashiro (de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin) a été ajoutée. La distillation s'est déroulée dans un appareil spécifique, elle a été arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition.
- ✓ **Titration** : L'excès des anions de borate a été titré avec la solution de HCl à 0,1N jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de Tashiro.

L'azote total est calculé selon la formule suivant :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = \frac{14,007 (V_E - V_B) \times M_{\text{HCl}} \times 100}{M \times 1000}$$

Avec :

$V_E$  : Volume en ml d'HCl nécessaire pour le titrage de l'échantillon

$V_B$ : Volume en ml d'HCl nécessaire pour le titrage banc

$M_{\text{HCl}}$ : Molarité de l'acide chlore hydrique utilisé pour le titrage

**1000** : Facteur de conversion du millilitre vers le litre

$M$ : masse en g de la prise d'essai.

Le contenu en protéines totales exprimé en gramme par cent grammes de fromage brut est obtenu en multipliant la teneur en azote total par 6.38 (Barbano, 1990).

#### **II.2.7.1.6. Séparation des acides aminés libre**

L'HPLC est sans doute la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés d'un mélange (Yost *et al.*, 1980).

Avant l'injection des échantillons dans la colonne, le système HPLC doit être préalablement équilibré. La seringue est lavée automatiquement avant et après chaque injection par la phase mobile utilisée en élution.

1g de chaque échantillon de fromage a été diluée dans 10ml d'eau bi-distillée puis filtré par un papier filtre. 20 $\mu$ l de filtrat ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à 125 x 4.6 mm. La phase mobile est constituée de deux éluants : méthanol 74%, acétate de sodium 26%. Le gradient d'élution appliqué est de type isocratique étalé sur 10 min. Le débit est de 0.5 ml / min.

La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 280 nm.

Il est a noté que des étalons d'acide aminés utilisés sont, à savoir : D-L proline, D-L arginine, D-L phényle alanine, tyrosine, tryptophane, cystéine, glycine (Annexe XVI).

#### **II.2.8. Analyse sensorielle (test de dégustation)**

La séance de dégustation des cinq échantillons de fromages frais préparés s'est déroulée dans des conditions normales dans une salle de laboratoire pédagogique de la faculté science de la nature et de la vie Université de Jijel.

Notre panel de dégustation est constitué de 15 sujets ils sont étudiants en post-graduation et ingénieurs dans la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université Jijel, ils sont habitués à faire ce genre d'analyse et certains d'entre eux ont fait une formation dans ce sens, ils sont recrutés selon leurs motivation et leur disponibilité pour participer aux tests. Il leur a été recommandé d'éviter l'utilisation de produits à l'odeur prononcée, comme les savons, les lotions et les parfums; avant de participer à un panel et d'éviter de manger, de boire ou de fumer au moins 30 minutes avant de procéder aux essais.

Tous les échantillons sont retirés du réfrigérateur une heure avant l'analyse, chaque fromage est étiqueté avec un code de trois lettres JPA (fromage amélioré), JPB (fromage de gésier) (Annexe XVII) JPC (fromage de chardon) (Annexe XVII), JPD (fromage amélioré épicé par la menthe) et JPE (fromage: de la caïllette) (Annexe XVII).

Des fiches à remplir ont été distribuées au panel de dégustation (**Annexe XIV**) pour juger la qualité sensorielle des échantillons de fromage selon leur acceptabilité. La note globale intègre l'odeur du produit, l'aspect de la croûte et de la pâte, la texture en bouche de la pâte ainsi que la flaveur (goût et saveur). Les fiches de dégustation permettent de porter un jugement qualitatif sur les fromages en notant différents descripteurs. Une note globale a été finalement attribuée au fromage.

Les échantillons de fromage ont été présentés en même temps et déposés dans un ordre aléatoire. Les dégustateurs ont évalué individuellement chaque fromage selon les caractères prédéfinis. Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent mâcher un morceau de pain et rincer la bouche avec de l'eau minérale afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent (**Edima, 2007**).



Résultats et

Discussion

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Etude des propriétés coagulantes de l'extrait de pepsine

L'extrait enzymatique de pepsine de poulet obtenu après extraction est caractérisé par l'activité coagulante, temps de floculation et la force coagulante dont les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 06.

**Tableau 06** : Activité coagulante, temps de floculation et force coagulante de l'extrait brut de pepsine de poulet.

propriétés coagulantes	Extrait enzymatique de pepsine de poulet
Activité coagulante (U.A.C / ml)	1.38 ± 1
Temps de floculation (sec)	72 ± 1
Force coagulante (US)	333.33 ± 1

L'unité d'activité coagulante (U.A.C.) qui représente la quantité d'enzyme contenue dans 1ml de la solution enzymatique, qui peut coaguler 10ml de lait en 100 sec à 30°C, est de 1.38 ± 1 unité/ml pour l'extrait enzymatique de la pepsine de poulet. Nous pouvons remarquer aussi que l'extrait enzymatique de la pepsine du poulet donne un temps de floculation à 30°C d'environ 72 ± 1 sec. Nous avons choisi le taux de dilution ( $5 \times 10^{-1}$ ) après plusieurs essais, pour obtenir un temps de floculation compris entre 300 et 360 comme indiqué par Green (1984).

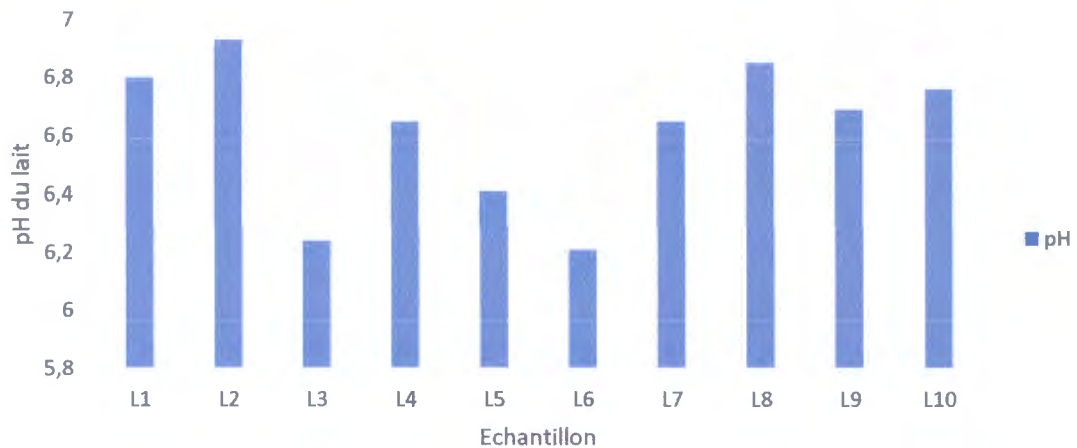
La préparation de la solution de pepsine à partir d'une poudre lyophilisée augmenté la concentration en pepsine qui accompagné la diminution du temps de floculation. Le temps de floculation est inversement proportionnel à la concentration en pepsine. Nous observons que la force coagulante de l'extrait enzymatique issu des proventricules succenturiés du poulet est de 333.33±1 US. Benyahia (2013), a rapporté que la force coagulante est de 13142 ± 1498 US pour l'extrait brut de pepsine de poulet. D'après Moschopoulou (2004), l'extraction de présure d'agneau à partir d'un ratio de caillette à la solution de macération de 1/3, pendant 24 h de macération, a donné un extrait brut de force 3340 US. Par comparaison, nous constatons que nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par ces auteurs.

#### III.2. Analyses physico-chimiques de la matière première

##### III.2.1 Détermination du pH et l'acidité titrable

Le pH et l'acidité titrable sont deux concepts liés à l'acidité, mais déterminés de façon différente et chacun a sa propre incidence sur la qualité du lait (Vignola, 2002). Les valeurs du pH représentent

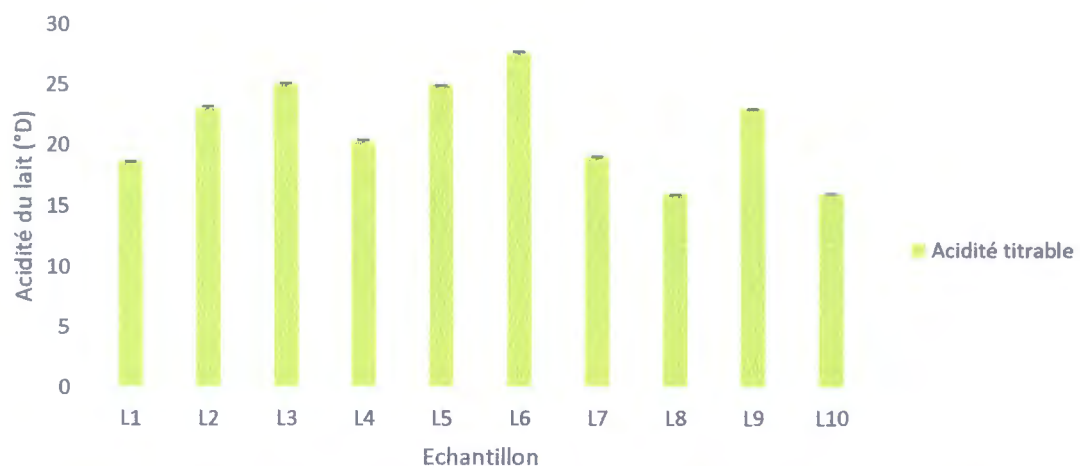
l'état de fraîcheur du lait, plus particulièrement en ce qui concerne sa stabilité. Les résultats de la mesure de pH des différents échantillons de lait sont résumés dans la figure 14.



**Figure 14 :** Résultats du pH des différents échantillons de lait

D'après la figure 14, on constate que les valeurs du pH varient de 6.21 à 6.93 avec une moyenne de pH 6.57. Les valeurs moyennes du pH des laits étudiés sont inférieures à celles trouvées par **Mathieu (1998)**, pour quinze échantillons de lait de vache et dans des conditions de traite traditionnelle. En revanche ces valeurs sont presque proches de celles rapportées par **Vignola (2002)** (pH entre 6.6 et 6.8) et par **Cazet (2007)** (pH entre 6.5 et 6.7 à 20°C). Les variabilités sont liées au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire (**Labioui, 2009**). La variation des valeurs du pH sont du aussi probablement au climat, l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite.

Les résultats de la mesure de l'acidité des différents échantillons de lait sont illustrés dans la figure 15.



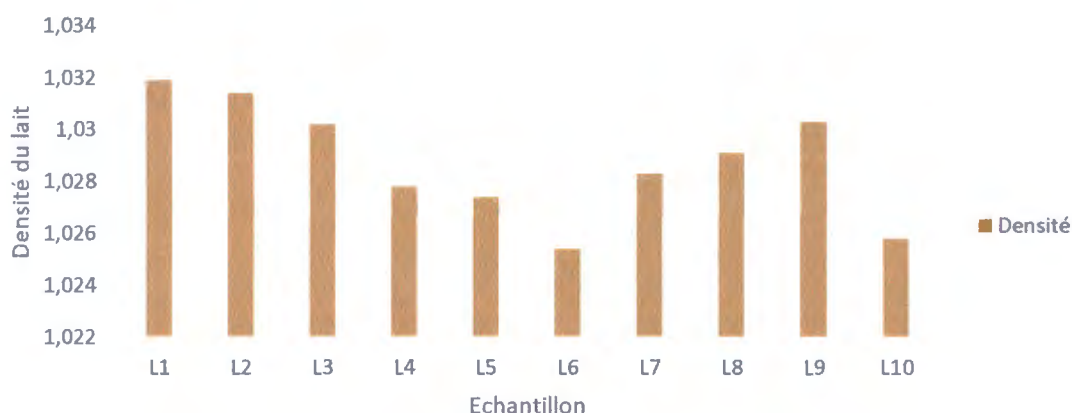
**Figure 15 :** Résultats de l'acidité des différents échantillons de lait.

Les valeurs de l'acidité titrable de l'ensemble des échantillons du lait varient entre 16 à 27.6 °D avec une moyenne de 21.61°D. Toutefois, de nombreux auteurs ont trouvé des valeurs supérieures ou égales à 15°D, tels que **Abu-Lehia (1994)**, 15°D± 4 ; **Kamoun (1994)**, 15.6°D ±1.4 et **Elamin et Wilcox (1992)**, 15°D ; Les valeurs d'acidité titrable trouvées sont aussi supérieures à celles trouvées par **Labioui et al. (2009)** et **Bennacir (1980)**. La moyenne de 16,75 °D reste néanmoins dans l'intervalle de 15-17,5 °D d'un lait frais.

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions (**Alais, 1984**), des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique et de la manutention du lait (**Mathieu, 1998**). Les variations de la teneur en acidité sont généralement aussi dues à la variation de l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales ainsi qu'à la période de lactation (**Abu-Tarboush, 1996**).

### III.2.2. Mesure de la densité

Les résultats de la mesure de la densité des différents échantillons de lait sont résumés dans la figure 16. D'après les résultats obtenus à 20°C, la valeur de la densité moyenne des échantillons de lait de vache est égale à  $1.0287 \pm 0.002$ . Elle est comparable à celles rapportées par **Kamoun (1995)** et **Siboukeur (2007)**, soient respectivement  $1.028 \pm 0.002$ ,  $1.023 \pm 0.0045$ .



**Figure 16** : Résultats de la densité de différents échantillons de lait.

Selon **Cazet (2007)**, la densité varie dans le même sens que la richesse en matière sèche du lait, c'est-à-dire qu'un lait plus riche sera a priori plus lourd, même s'il faut considérer le fait que les lipides, dont la présence peut augmenter la proportion de matière sèche, sont eux moins denses que l'eau donc diminuent la densité globale du lait. C'est pourquoi on évalue d'abord la teneur en

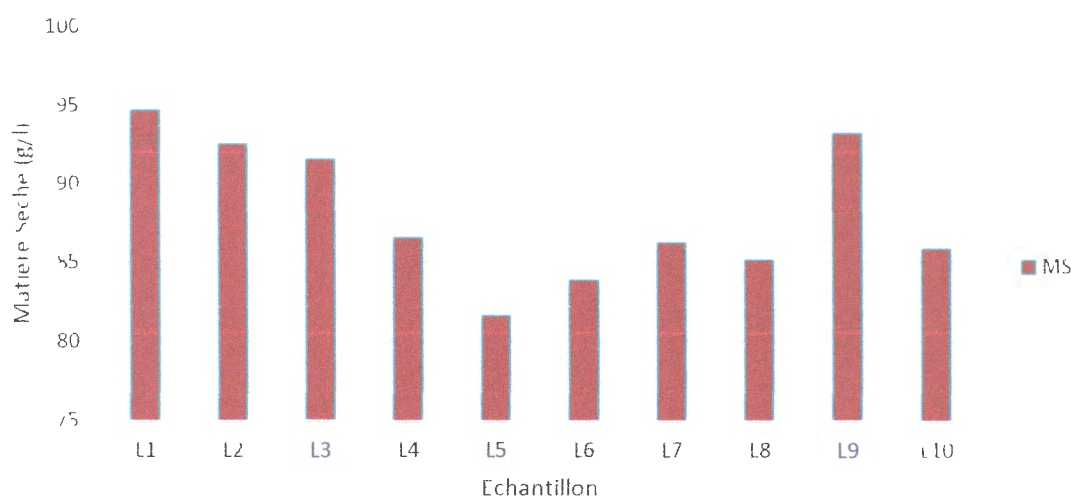
matière grasse par détermination de la masse volumique. Un lait écrémé pourra donc avoir une densité supérieure aux valeurs usuelles et l'adjonction d'eau fait tendre la densité vers 1. Cependant, un lait écrémé mouillé n'aura pas une densité normale.

D'après **Siboukeur (2007)**, la densité dépend directement de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et du régime alimentaire de l'animal, ce qui peut expliquer la variabilité des résultats obtenus.

### III.2.3. Détermination de la teneur en matière sèche

Les résultats de la détermination de la matière sèche des différents échantillons de lait sont illustrés par la figure 17. La teneur moyenne en matière sèche des échantillons analysés est égale à  $8.808\% \pm 0.44$  (88.08g/l). Ces résultats semblent être faibles par rapport à ceux rapportés par **Zeller (2005)**, qui indique un taux de 12% (120g/l) pour le lait de vache et 11.27% (112.7g/l) pour le lait de chèvre.

**Wolter (1997)** et **Vignola (2002)** ont rapporté que la teneur en MS est située entre 125g/l et 135g/l, de ce fait la MS de nos échantillons est inférieure à cet intervalle.

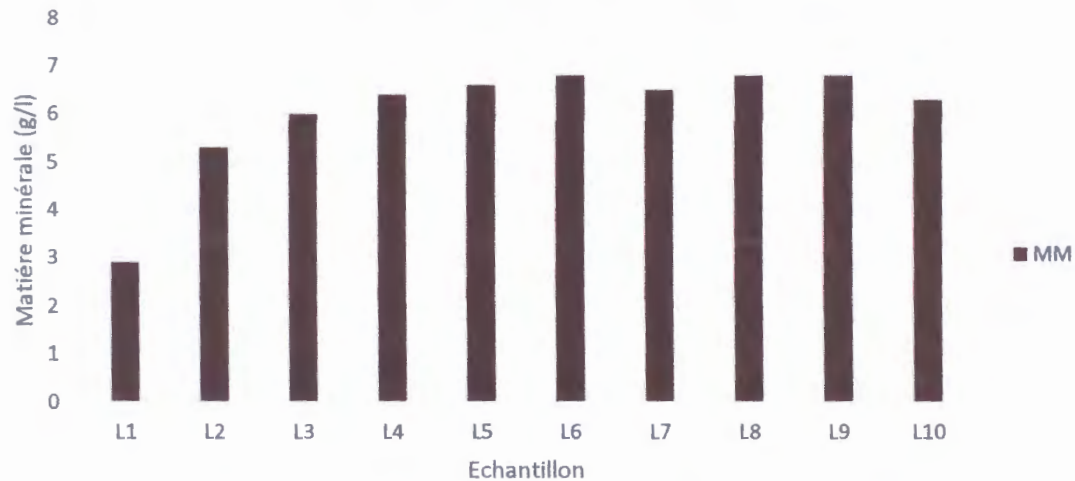


**Figure 17** : Résultats de matière sèche de différents échantillons de lait.

La teneur en matière sèche du lait varie en fonction du stade de lactation (**Bengoumi et al., 1994**), ainsi, elle diminue durant le mois suivant le vêlage, puis augmente suite à l'accroissement de taux de matière grasse. La pauvreté en matière sèche peut être liée aussi au facteur d'alimentation (**Wolter, 1997**) ou d'un éventuel mouillage. De plus, la teneur en protéines peut influencer en particulier la caséine.

### III.2.4. Détermination de la teneur en matière minérale

Les résultats des teneurs en matière minérale des différents échantillons de lait sont résumés dans la figure 18. A partir des résultats obtenus, on remarque que les valeurs de la matière minérale sont comprises entre 0,22% (2.2g/l) et 0.68% (6.8g/l) avec une moyenne de  $0.57 \pm 0,17\%$  ( $5.7 \pm 0.17\text{g/l}$ ). D'une manière générale, la valeur moyenne des cendres est inférieure à celle obtenue par **Wolter (1997)** ; soit de 8 g/l, et **Vignola (2002)** ; soit de 6 g/l à 9 g/l.



**Figure 18** : Résultats de la matière minérale de différents échantillons de lait.

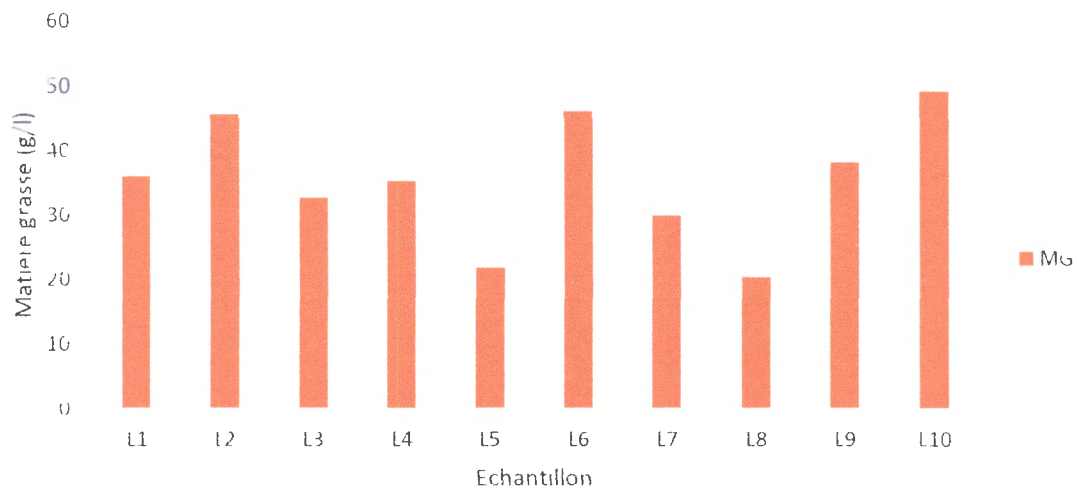
Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'étude des minéraux du lait (**Gueguen, 1971** ; **Mahieu, 1976** ; **Brulé, 1984** ; **Gueguen, 2001**), d'après eux, les variabilités de la teneur en minéraux du lait des différents animaux pourraient être attribuées à des facteurs génétique ou physiologique (stade de lactation) mais relativement peu à des facteurs nutritionnels ou écologiques.

La teneur en minéraux peut être aussi modifiée sensiblement par les affections mammaires (**Brulé, 1987**). La composition minérale est variable selon les espèces, les races, le moment de lactation et les facteurs zootechniques (**Debry, 2001**). D'après **Yagil (1985)**, le taux de sels minéraux du lait varie dans une large gamme de mesure, selon l'apport alimentaire, il est plus faible dans le lait déshydratés.

### III.2.5. Dosage de la matière grasse

Les résultats du dosage de la matière grasse des différents échantillons de lait sont illustrés dans la figure 19. La teneur moyenne en matière grasse de différents échantillons de lait se situe autour de  $35.4 \pm 0.976$  g/l (3.54 %). Les résultats obtenus montrent que la teneur en matière grasse est supérieure à celle trouvée dans les documents **AFNOR (2001)**, qui donnent des valeurs comprises

entre 28,5 à 32,5 g/l. **Vignola (2002)** a rapporté que la teneur en MG du lait de vache est de 40g/l. D'autre part les résultats obtenus sont proche de ceux rapportés par **Siboukeur (2007)** pour le lait de vache (37g/l).



**Figure 19** : Résultats de la matière grasse de différents échantillons de lait.

Les lipides sont les composants du lait les plus variables quantitativement et qualitativement, ils dépendent de la race et du rang de la traite, qui influe sur le taux de matière grasse (**Debouz et al., 2014**). En effet, la traite du matin donne une quantité plus importante de lait mais relativement pauvre en matière grasse (**Kamoun, 1994**).

### III.3. Evaluation de l'effet des différents facteurs sur la production du fromage en utilisant le modèle statistique Plackett-Burman

Cette partie consiste à l'utilisation du modèle statistique Plackett-Burman afin d'étudier les facteurs qui affectent significativement la production du fromage, le *Jben*. Le modèle Plackett-Burman a été appliqué afin de déterminer l'importance des différents facteurs. A travers notre recherche, 5 facteurs (**X1** : Enrichissement ; **X2** : pH ; **X3** : Chlorure de calcium ; **X4** : Dose de présure ; **X5** : Température de coagulation) ont été choisis dans ce processus d'optimisation ou chaque facteur a été représenté par deux niveaux. On appliquant le modèle sur ces 5 facteurs, on a obtenue une matrice de 12 expériences groupées dans le tableau 07. Ces expériences ont été réalisées en discontinue et pour chaque expérience, le rendement du fromage correspondante à chaque expérience est calculée (tableau 07). En effet, les données du tableau 07 montrent une grande variation, la réponse du rendement varie de 138.4 à 384.8g/l. Cette variation montre la nécessité d'optimisation des conditions de fabrication afin d'atteindre une production plus élevée. Suite à

l'analyse des résultats obtenus, en utilisant le logiciel de JMP (Version 10), l'intervalle de confiance ainsi que l'effet des différents facteurs sur la production du fromage ont été calculés et présentés dans le tableau 08 et illustrés par la figure 20.

Il faut noter que l'analyse des résultats est basée sur les points suivants :

- Lorsque l'intervalle de confiance d'un facteur est  $> 95\%$  et son effet est positif ; le facteur mérite une optimisation, sinon il sera utilisé à une production maximale.
- Lorsque l'intervalle de confiance est  $> 95\%$  et son effet est négatif ; le facteur mérite une optimisation, sinon il sera utilisé à une production minimale.
- Lorsque l'intervalle de confiance est  $< 95\%$  et son effet est positif ; le facteur sera utilisé à une production maximale.
- Lorsque l'intervalle de confiance est  $< 95\%$  et son effet est négatif ; le facteur sera éliminé des prochaines expériences.

Il ressort de ces résultats que l'intervalle de confiance est inférieur à 95% pour les éléments suivants : pH, CaCl<sub>2</sub>, la dose d'extrait enzymatique et la température de coagulation. Ces éléments sont considérés comme des éléments non significatifs. L'élément qui reste est l'enrichissement de lait qui possède un intervalle de confiance supérieur à 95%, il est considéré comme un élément significatif.

Parmi les facteurs qui ont un effet significatif : l'enrichissement de lait est considéré comme l'élément le plus significatif et qui affecté le plus la production du fromage avec un intervalle de confiance de 99,99%. Il sera pris en considération dans le prochain processus d'optimisation.

Le pH, la dose d'extrait enzymatique et la température de coagulation ont un effet positif sur la production de fromage avec un intervalle de confiance de 72.39%, 72.19%, 85.17% respectivement. Ces facteurs seront utilisés à une production maximale. La concentration en CaCl<sub>2</sub> a un effet négligeable sur la production du fromage donc, facteur à éliminer des prochaines expériences.

**Tableau 07 :** Le modèle expérimental du Plackett-Burman évaluant les facteurs qui influencent la production du fromage.

Essai	X1	X2	X3	X4	X5	Y
1	+1	+1	+1	+1	+1	384.8
2	-1	+1	-1	+1	+1	190.8
3	-1	-1	+1	-1	+1	186.2
4	+1	-1	-1	+1	-1	317



5	-1	+1	-1	-1	+1	171.6
6	-1	-1	+1	-1	-1	138.4
7	-1	-1	-1	+1	-1	186.4
8	+1	-1	-1	-1	+1	318.4
9	+1	+1	-1	-1	-1	338.4
10	+1	+1	+1	-1	-1	328.4
11	-1	+1	+1	+1	-1	155.6
12	+1	-1	+1	+1	+1	334.8

X1 : Enrichissement    X2 : pH    X3 : Chlorure de calcium    X4 : Dose d'extrait enzymatique  
 X5 : Température de coagulation    Y : réponse

Tableau 08. Analyse de régression des résultats obtenus à partir du modèle Plackett-Burman.

Terme	Coefficient	Erreur standard	Rapport t	Prob.>  t	Intervalle de confiance (%)
Constante	254.23333	6.149676	41.34	<.0001*	<99.99
X1(0.15)	82.7333333333	6.149676	13.45	<.0001*	<99.99
X2(5.6.5)	7.3666666667	6.149676	1.20	0.2761	72.39
X3(0.01.0.075)	0.4666666667	6.149676	0.08	0.9420	5.8
X4(0.08.1)	7.3333333333	6.149676	1.19	0.2781	72.19
X5(30.50)	10.2	6.149676	1.66	0.1483	85.17

X1 : Enrichissement    X2 : pH    X3 : Chlorure de calcium    X4 : Dose d'extrait enzymatique  
 X5 : Température de coagulation

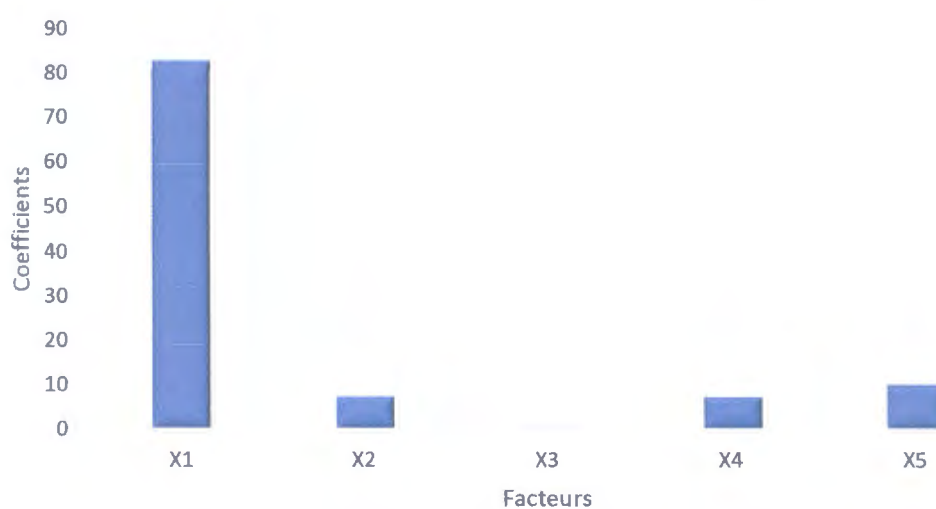


Figure 20 : Effet des différents facteurs sur la production du fromage (g/l).

**X1** : Enrichissement    **X2** : pH    **X3** : Chlorure de calcium    **X4** : Dose d'extrait enzymatique  
**X5** : Température de coagulation

### III.4. Optimisation de la production du fromage *Jben* par le modèle de Box Behnken

Le modèle de Box-Behnken est important pour la détermination des interactions entre les différents facteurs étudiés ainsi que la détermination de leurs concentrations optimales. Ce modèle est très utile dans différents domaines, en effet, **Hou et al. (2011)** ont réalisé une optimisation des conditions de la production de polygalacturonase par *Bacillus licheniformis* en utilisant ce modèle. D'autre part, **Narkprasom et al. (2013)** ont utilisé ce plan d'expérience pour l'optimisation de la production de sucre réducteur à partir d'hydrolyse acide de bagasse de canne à sucre.

#### III.4.1. Constitution de la matrice d'expérience

Dans notre étude, le modèle de **Box Behnken** a été appliqué pour l'optimisation des conditions de production du fromage traditionnel Algérien *Jben* dont la détermination des interactions entre les quatre facteurs à savoir l'enrichissement du lait, le pH, la dose de l'extrait enzymatique et la température de coagulation, nous a permis d'obtenir une matrice composée de 27 expériences. Les résultats obtenus ont été traités par l'analyse de régression dont le tableau 09 regroupe les conditions expérimentales ainsi que la réponse mesurée et celle prédite pour chaque expérience.

En analysant les résultats de ce tableau, il ressort que les réponses obtenues variées de 262.8 à 492g/l, la plus faible réponse a été observée lorsque nous avons utilisé 10% de lait en poudre et un pH de 6.25 avec une dose de l'extrait enzymatique de 0.5ml et une température de coagulation de 50°C.

D'autre part, la réponse la plus élevée a été obtenue avec un pourcentage de 20% de lait en poudre et un pH de pH 5.75 avec une dose de l'extrait enzymatique de 1ml et à la même température de coagulation (50°C).

**Tableau 09** : Matrice expérimentale du modèle factoriel Box-Behnken représentant l'effet de l'enrichissement du lait, pH, dose de présure et la température de coagulation, sur la production du fromage.

Essais	X1	X2	X3	X4	Y	Prévue Y
1	-1	-1	0	0	275.6	284.78958333
2	-1	+1	0	0	321.6	320.32291667
3	+1	-1	0	0	492	493.68125
4	+1	+1	0	0	397.6	388.96458333
5	0	0	-1	-1	349.8	357.65625

6	0	0	-1	+1	370.4	368.73125
7	0	0	+1	-1	365.6	370.82291667
8	0	0	+1	+1	396.8	390.24791667
9	-1	0	0	-1	370.1	334.025
10	-1	0	0	+1	308	295.975
11	+1	0	0	-1	427.8	419.49166667
12	+1	0	0	+1	477.8	488.04166667
13	0	-1	-1	0	382.3	366.38333333
14	0	-1	+1	0	405.3	387.05
15	0	+1	-1	0	335.6	335.11666667
16	0	+1	+1	0	349.6	349.13333333
17	-1	0	-1	0	262.8	296.18541667
18	-1	0	+1	0	309.6	329.90208333
19	+1	0	-1	0	452.4	451.32708333
20	+1	0	+1	0	449.6	452.29375
21	0	-1	0	-1	347.4	371.76041667
22	0	-1	0	+1	377.4	385.58541667
23	0	+1	0	-1	321.5	335.74375
24	0	+1	0	+1	326	352.41875
25	0	0	0	0	385	377.1
26	0	0	0	0	388.4	377.1
27	0	0	0	0	387.5	377.1

X1 : Enrichissement X2 : pH X3 : Dose d'extrait enzymatique X4 : Température de coagulation.

### III.4.2. Analyse par le logiciel

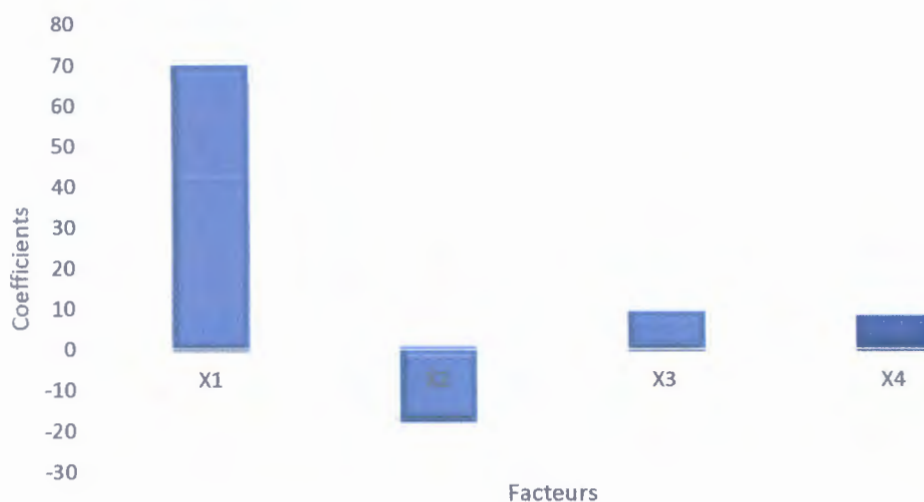
L'analyse de régression a été réalisée par le logiciel JMP (Version 10). Les coefficients de régression ainsi que les valeurs de probabilité correspondantes ( $P$ ) sont regroupés dans le tableau 10. À partir de ces valeurs, on peut conclure que les coefficients linéaires ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ), les coefficients quadratiques ( $X_2 \times X_2$ ) et les coefficients d'interactions ( $X_1 \times X_2$ ,  $X_1 \times X_4$ ) sont significatifs ( $P < 0.05$ ). En effet, l'équation (1) montre que la production de fromage est influencée par les interactions entre les variables indépendantes du premier ordre ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ), ( $X_1 \times X_2$ ,  $X_1 \times X_4$ ) et du second ordre polynomial ( $X_1 \times X_2$ ) et ( $X_1 \times X_4$ ).

$$Y = 377.1 + 69.383 X_1 - 17.295 X_2 + 8.670 X_3 + 7.625 X_4 + 8.922 X_1^2 - 14.083 X_2^2 - 3.595 X_3^2 - 1.639 X_4^2 - 35.062 X_1 X_2 - 8.187 X_1 X_3 + 26.65 X_1 X_4 - 1.662 X_2 X_3 + 0.712 X_2 X_4 + 2.087 X_3 X_4 \dots \dots \dots (1)$$

$Y$  est la réponse,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  et  $X_4$  sont des variables indépendantes.

Avec :

$X_1$  :Enrichissement du lait     $X_2$  :pH     $X_3$  :Dose d'extrait enzymatique     $X_4$  :Température de coagulation.



**Figure 21** : Effet des quatre facteurs sur la production du fromage.

La figure ci-dessus montre l'effet de chaque facteur sur la production du fromage. On remarque que le facteur enrichissement du lait a l'effet le plus significatif sur la réponse, concernant le pH, il affecte négativement cette réponse.

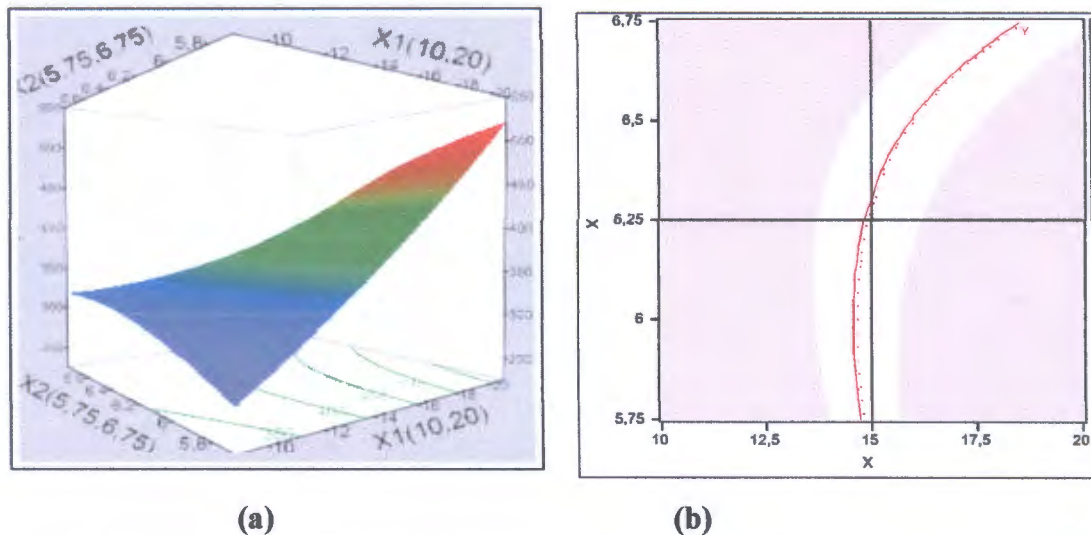
La valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) montre la bonne concordance entre les données expérimentales et celles prévues pour toute la régression. Dans cette étude, la valeur du  $R^2$  est 0.91, indiqué que le modèle de réponse a pu expliquer 91% des variations totales, et par conséquent, il reste 9% des variations qui ne sont pas expliqués par ce modèle (**Annexe XVI**).

**Tableau 10** : Analyse de régression des résultats obtenus à partir du modèle Box-Behnken.

Terme	Coefficient	Erreur standard	Rapport t	Prob.>  t
Constante	377.1	7.992829	47.18	<.0001***
X1(10.20)	69.38333333	3.9964143807	17.36	<.0001***
X2(5.75.6.75)	-17.29583333	3.9964143807	-4.33	0.0001***
X3(0.5.1.5)	8.670833333	3.9964143807	2.17	0.0362*
X4(40.60)	7.625	3.9964143807	1.91	0.0638

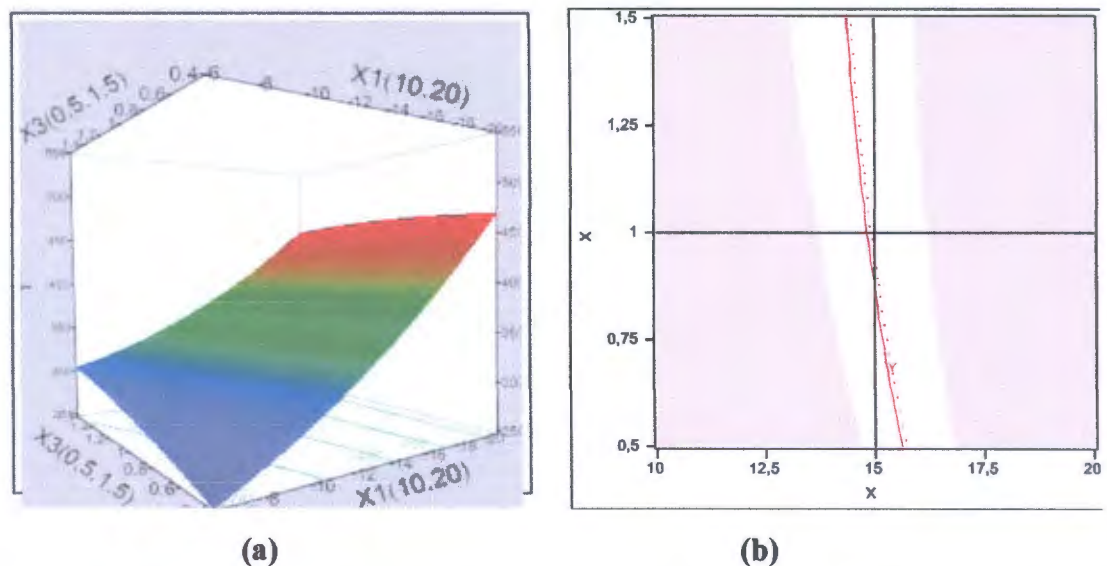
figures 22, 23, 24, 25, 26 et 27 représentent les surfaces de réponse et les contours plot établies pour la production du fromage.

Pour les contours plots, les parties hachurées correspondent à des réponses trop élevées ou trop faibles. La détermination correcte de la production du fromage est obtenue pour des points situés dans la zone blanche.



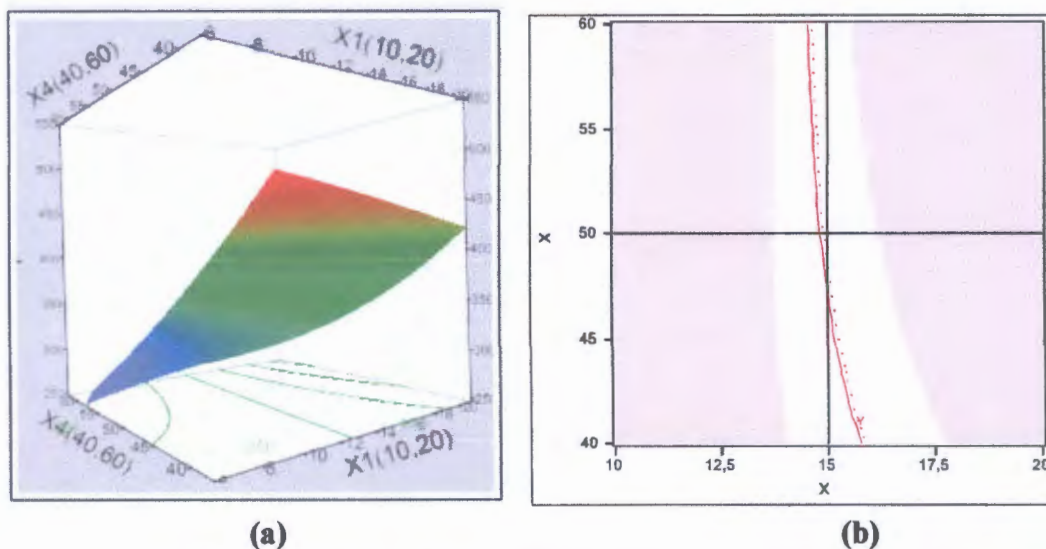
**Figure 22 :** Corrélation entre X1 (enrichissement du lait) et X2 (pH) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.



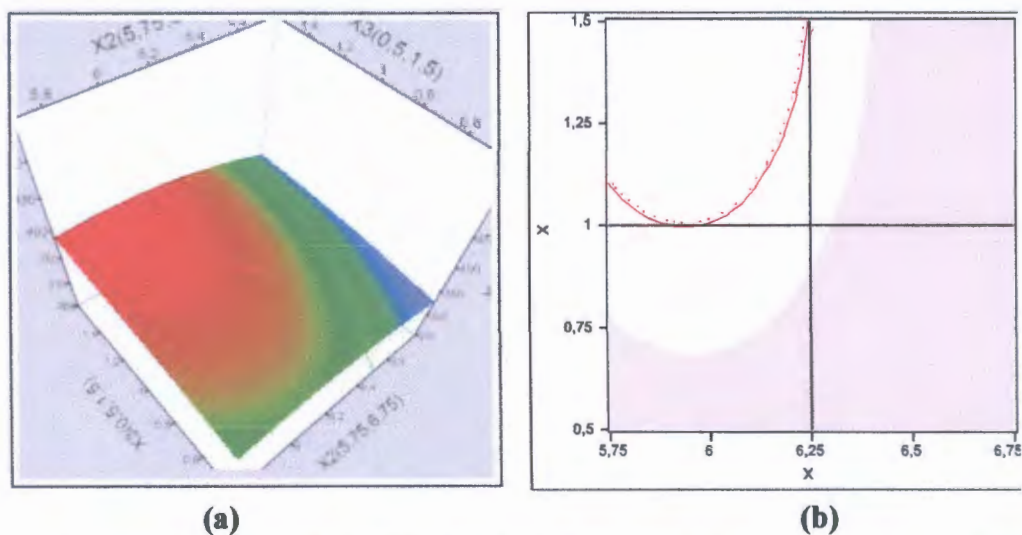
**Figure 23 :** Corrélation entre X1(enrichissement du lait) et X3 (la dose de l'extrait enzymatique) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.



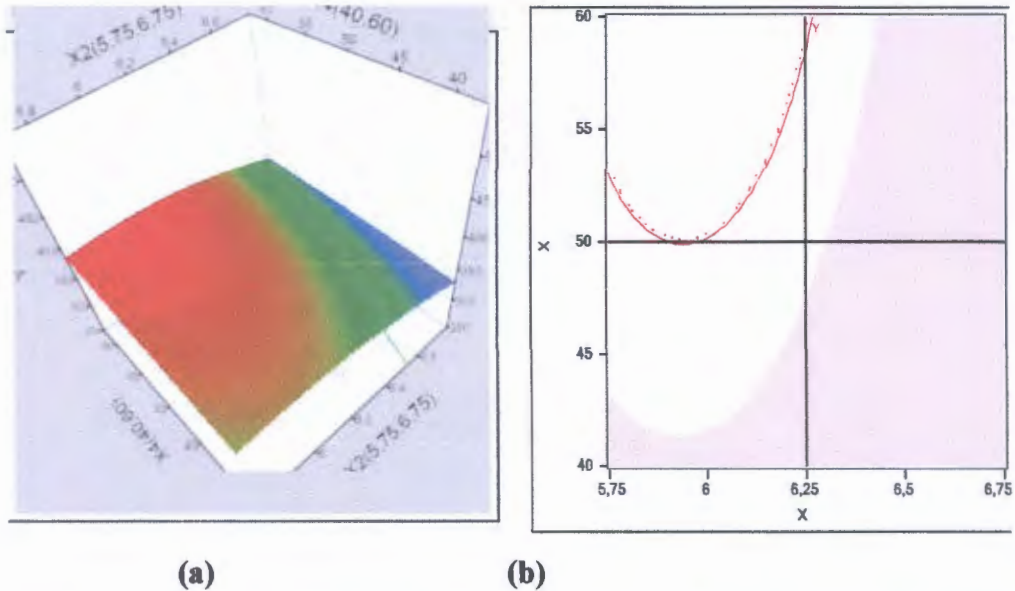
**Figure 24** : Corrélation entre X1 (enrichissement du lait) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.



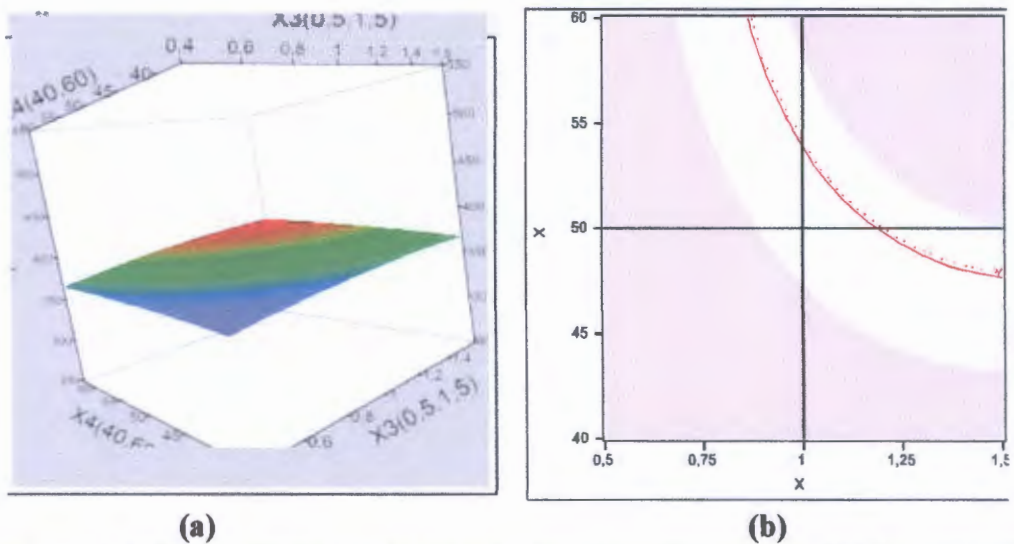
**Figure 25** : Corrélation entre X2 (pH) et X3 (la dose de l'extrait enzymatique) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.



**Figure 26 :** Corrélation entre X2 (pH) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.



**Figure 27 :** Corrélation entre X3 (la dose de l'extrait enzymatique) et X4 (la température de coagulation) sur la production du fromage (g/L).

(a) : Surface de réponse (b) : contour plot.

En analysant ces figures, il ressort que les facteurs étudiés influent d'une manière différente sur la production du fromage ; la figure 22 montre clairement que le rendement du fromage a augmenté avec l'augmentation de la valeur d'enrichissement de lait. La figure 24 montre aussi que l'enrichissement du lait a un effet positif sur la réponse, d'autre part l'effet de la température et la dose d'extrait enzymatique sont commentés faible par rapport à l'effet d'enrichissement du lait (figure 27).

### III.4.3. Optimisation du modèle

Les valeurs optimales des différents facteurs ont été obtenues après la résolution de l'équation (1) en utilisant le logiciel JMP (Version 10). Les conditions optimales de la production du fromage estimées par l'équation du modèle sont groupées dans le tableau 12.

**Tableau 12** : Conditions optimales de la production du fromage.

Variable	Valeur critique
X1(10.20)	11.950253
X2(5.75.6.75)	6.259554
X3(0.5.1.5)	1.6948744
X4(40.60)	32.570456

Le rendement théorique du fromage prévu sous ces conditions est de 355.15 g/l.

### III.4.4. Validation du modèle

Afin de vérifier la validité du modèle, les conditions théoriques optimales ont été appliquées. Le rendement du fromage obtenu sous ces conditions est de 324g/l, c'est approximativement 91.26% de la valeur prévue. Ces résultats obtenus confirment la validité du modèle de Box-Behnken à précision uniforme et montrent aussi que l'équation du modèle est satisfaisante.

## III.5. Fabrication du fromage frais et évaluation de sa qualité physico-chimique

### III.5.1. Fabrication du fromage

La mise en œuvre et la commercialisation d'un nouveau produit nécessite de nombreux essais à l'échelle industrielle. La réussite de produit est estimée par la réalisation de fabrication, tout d'abord au laboratoire, sur de faibles quantités de matières premières.

Les caractéristiques des produits finis ainsi fabriqués sont alors évaluées. Les échantillons de fromage ont été fabriqués à base de lait de vache, de lait en poudre écrémé et de la présure. Un label « *Jben* » « *جن* », a été attribué au produit fabriqué, de même, un emballage qui comporte toutes les indications réglementaires y compris un code à barre a été choisi (**Annexe XII**).





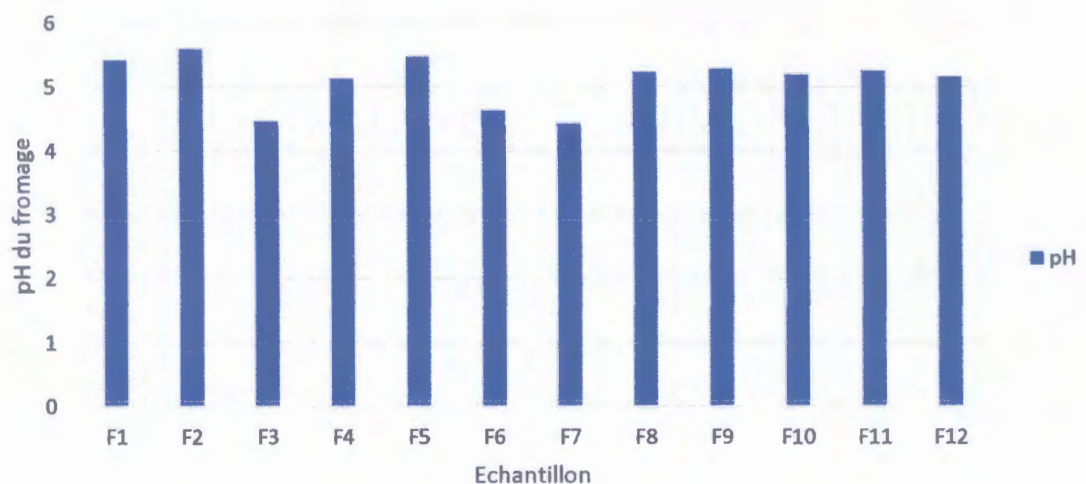
**Figure 28** : Aspect des emballages du fromage fabriqué.

### III.5.2. Evaluation de la qualité physico-chimique du fromage

#### III.5.2.1. Mesure du pH et acidité titrable

Le *Jben* est un produit laitier Algérien préparé par des méthodes généralement traditionnelles, utilisant le lait cru de vache, de chèvre ou également de brebis. Les mesures de pH et d'acidité renseignent sur le niveau de production d'acide lactique par les microorganismes lors de la préparation des laits fermentés et des fromages (Neville et Jensen, 1995).

Les résultats de mesure du pH sont illustrés par les figures 29, 30 et 31 pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini respectivement. Ces résultats montrent que le fromage *Jben* possède un pH légèrement acide.



**Figure 29** : pH des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.

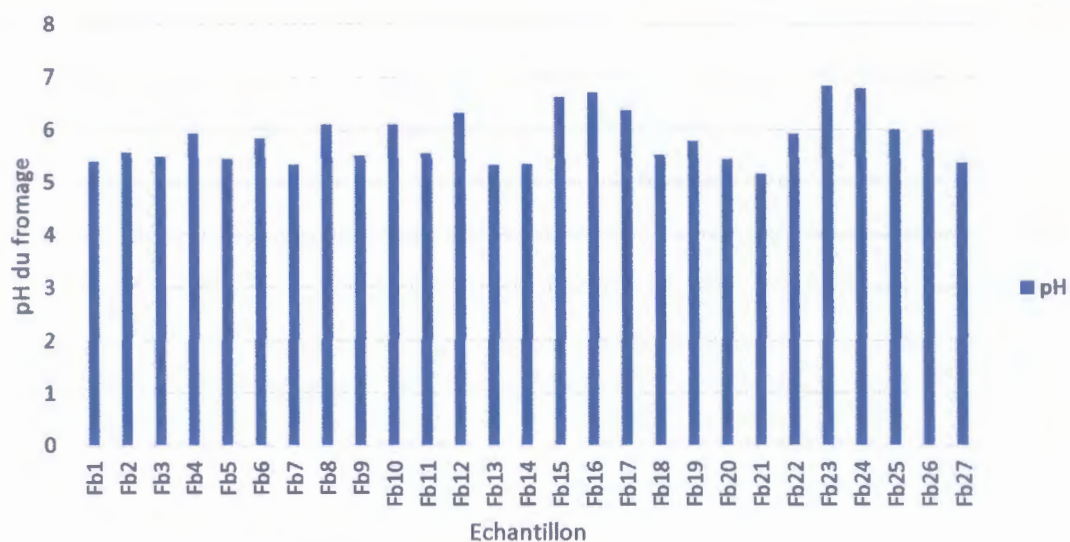


Figure 30 : pH des échantillons d'optimisation.

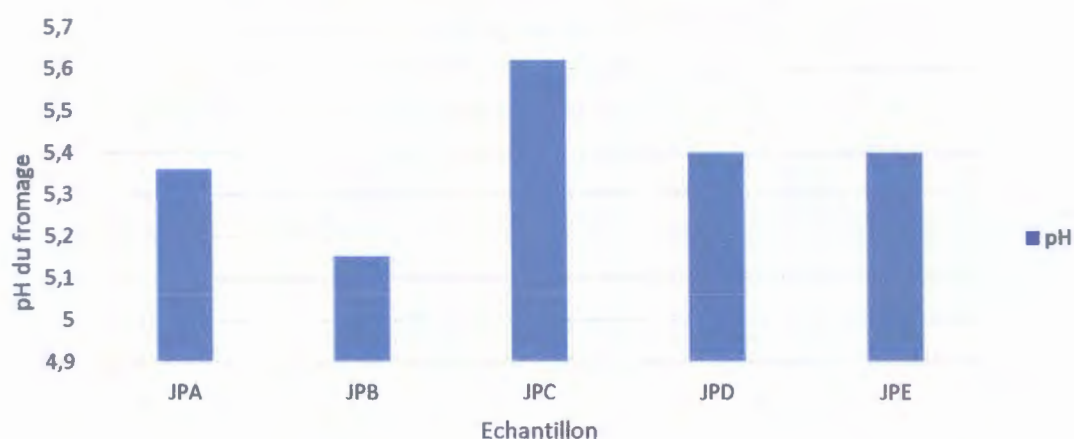


Figure 31 : pH des échantillons de produit fini.

Le pH moyen des fromages fabriqués est de  $5.10 \pm 0.38$ ,  $5.85 \pm 0.5$  et  $5.38 \pm 0.16$  pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini respectivement. Les résultats de mesure du pH montrent que le fromage *Jben* possède une valeur de pH faible par rapport à celle reportée par Belyagoubi et Abdelouahid (2013). Ces auteurs ont révélé pour le *Jben* de la région de Mecheria, a un pH de 6,38.

Les résultats de l'étude d'Aissaoui (2004), ont montré que les valeurs du pH du fromage à pâte fraîche varient entre pH4 et pH 6. En prenant compte de cet intervalle décrit, on constate que la pluparts des échantillons analysés ont des pH appartenant à cet intervalle.

Les différences des valeurs de pH du fromage *Jben* par rapport aux autres produits laitiers peuvent être dues à la méthode de préparation, au type de lait, à la date de préparation ou peuvent être liées au type d'alimentation donnée aux animaux (Oudghiri, 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. Les résultats du dosage de l'acidité titrable pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage sont présentés dans la figure 32, pour les échantillons d'optimisation sont présentés dans la figure 33 et pour ceux de produit fini dans la figure 34.

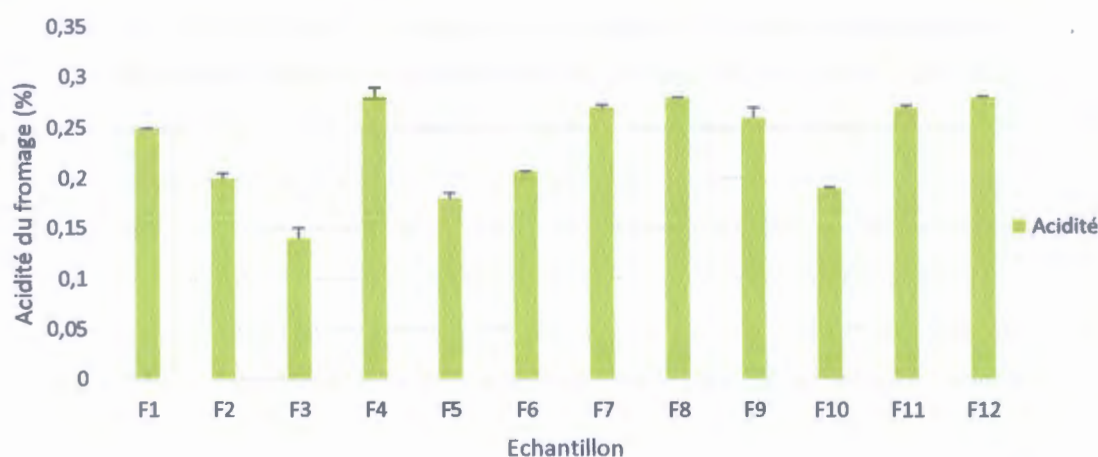


Figure 32 : Acidité titrable des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.

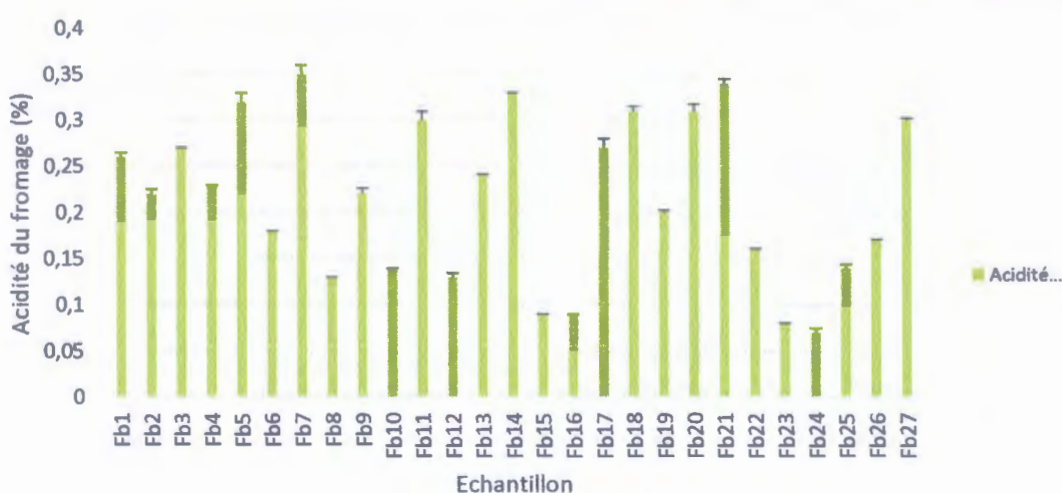
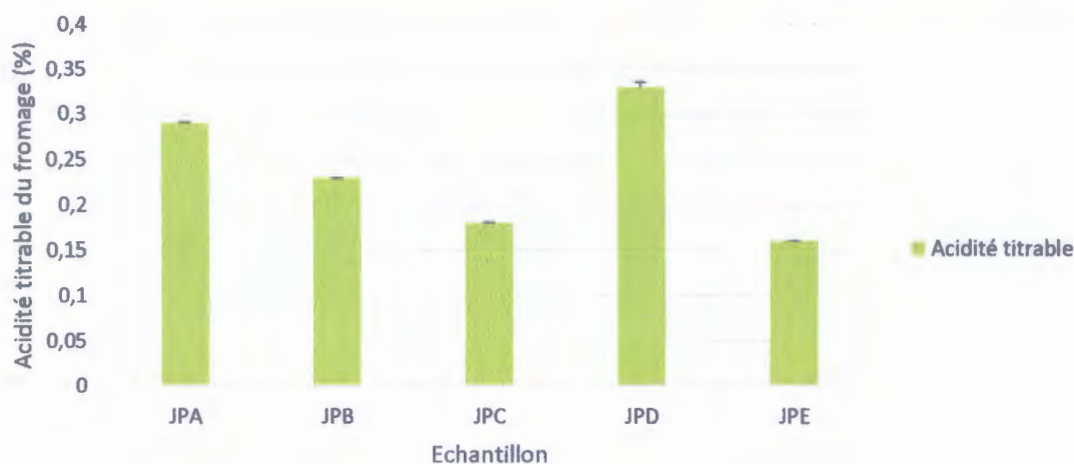


Figure 33 : Acidité titrable des échantillons d'optimisation.

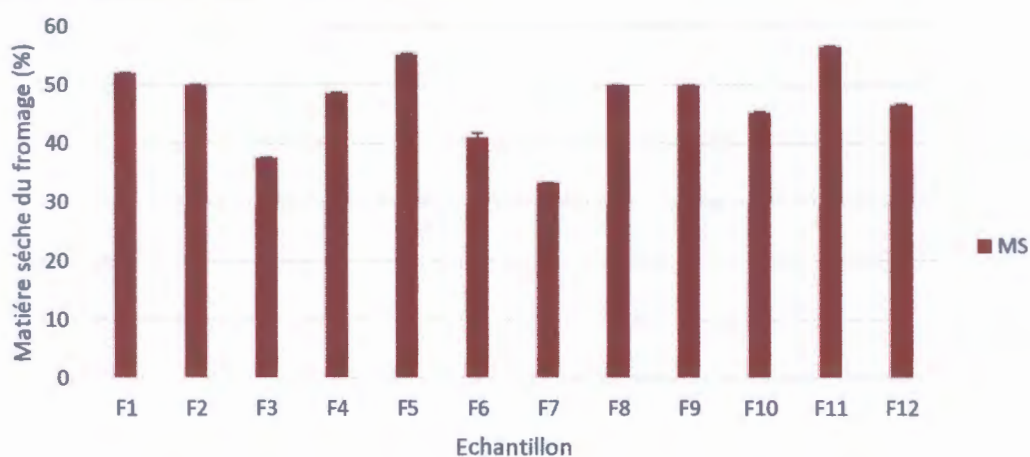


**Figure 34 :** Acidité titrable des échantillons du produit fini.

La valeur moyenne de l'acidité titrable des échantillons de fromages fabriqués est de  $0.23 \pm 0.04\%$  pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, de  $0.21 \pm 0.08\%$  pour les échantillons d'optimisation et de  $0.23 \pm 0.07\%$  pour les échantillons de produit fini. D'après **Eck et Gillis (1997)**, l'acidité est le premier facteur intervenant dans la flaveur du fromage à pâte fraîche. Il est à signaler que 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 (**Labioui et al., 2009**).

### III.5.2.2. Détermination de la teneur en matière sèche

Les résultats de la détermination de la matière sèche sont illustrés dans les figures 35, 36 et 37 pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini respectivement.



**Figure 35 :** Matière sèche des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.

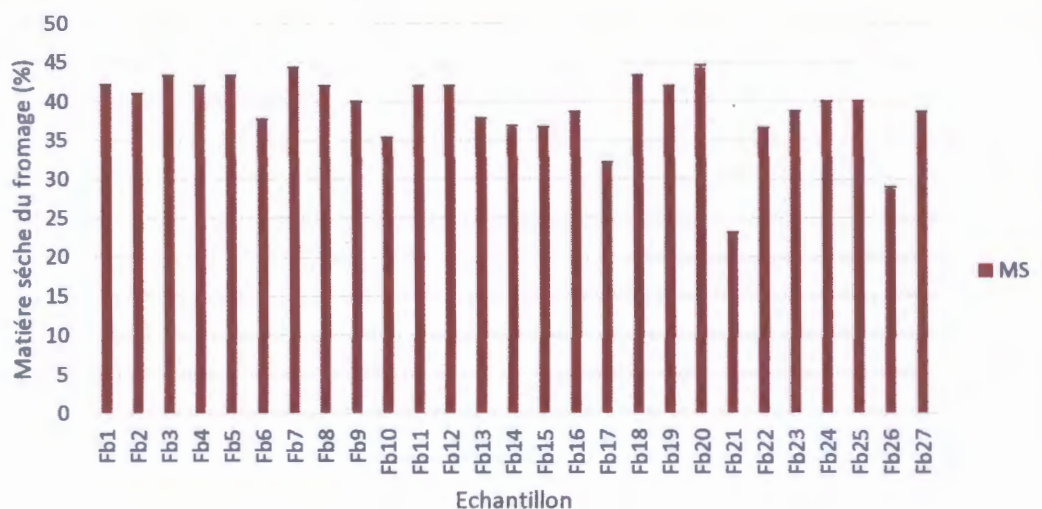


Figure 36 : Matière sèche des échantillons d'optimisation.

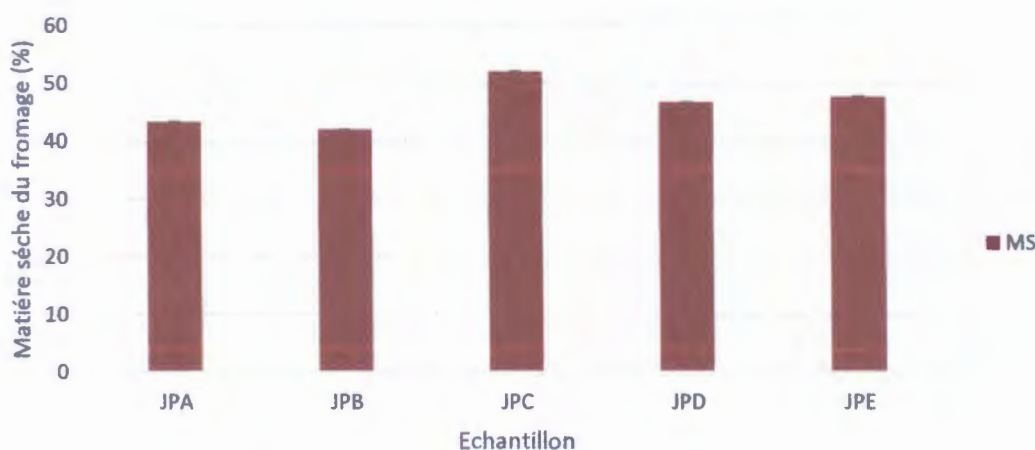


Figure 37 : Matière sèche des échantillons de produit fini.

Les valeurs moyennes de la matière sèche des échantillons de fromage fabriqués sont de  $47.21 \pm 6.94\%$ ,  $38.94 \pm 4.86\%$  et  $46.33 \pm 9.2\%$  pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini respectivement. Selon **Ramet (1985)**, la teneur en matière sèche la plus élevée du fromage frais est de 30%, et la plus faible est de 12%. Elle peut être abaissée jusqu'à 15 ou 10 g pour 100 g. on observe que la majorité des échantillons analysés ont des teneurs en matière sèche supérieures à ces valeurs.

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 13.7 g/100g du fromage, et à 20% elle est de 16.3g/100g du fromage. La différence en matière sèche entre les échantillons de fromage peut être due à la variabilité de matière sèche de lait utilisé pour la préparation des échantillons.

### III.5.2.3. Détermination de la teneur en matière minérale

La détermination de la teneur en matière minérale nous éclaire sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser. En effet, la teneur en cendres des aliments doit avoir un seuil à ne pas dépasser pour la consommation humaine et animale (Gaouar, 2011). Les résultats de la détermination de la matière minérale sont regroupés dans les figures 38, 39 et 40 pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini respectivement.

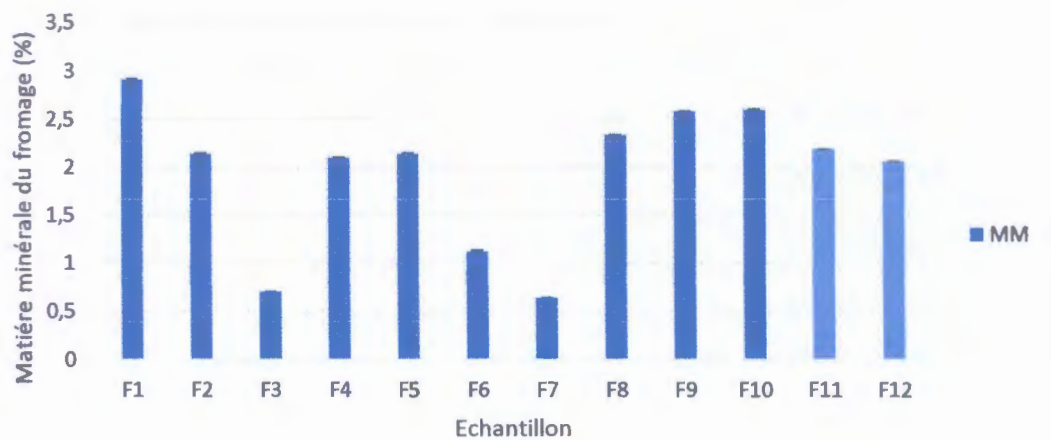


Figure 38 : Matière minérale des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.

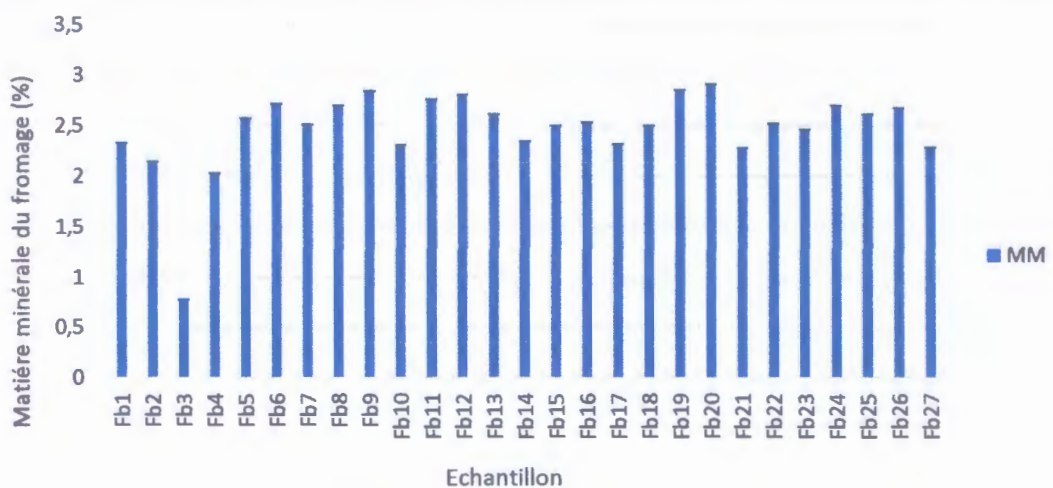
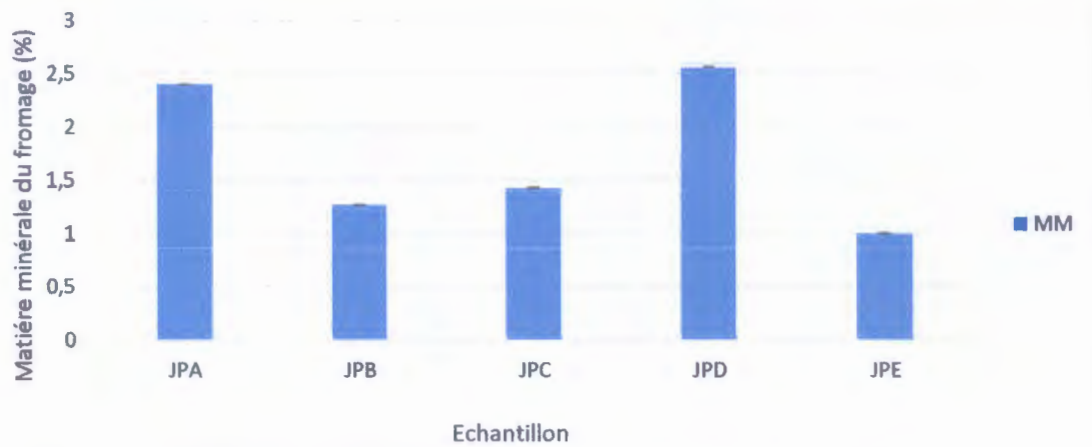


Figure 39 : Matière minérale des échantillons d'optimisation.

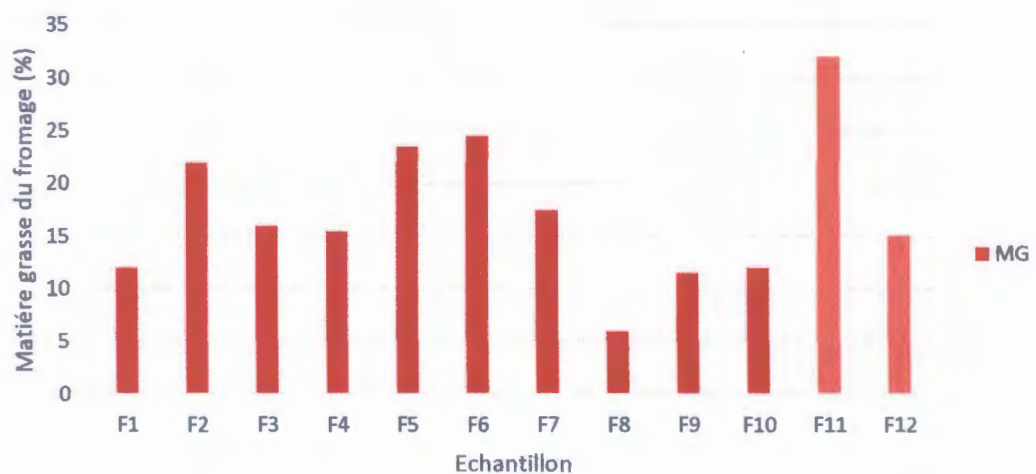


**Figure 40 :** Matière minérale des échantillons de produit fini.

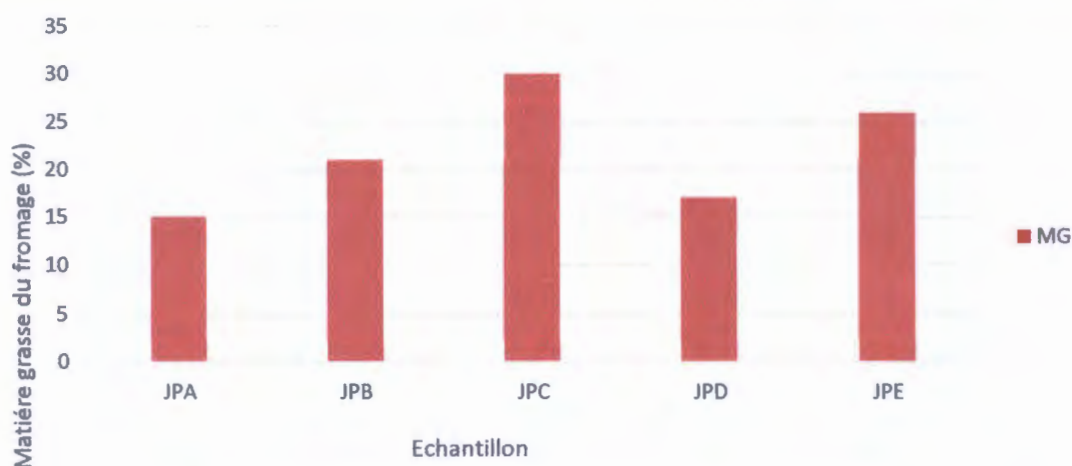
Les valeurs moyennes de la teneur en matière minérale des fromages fabriqués sont respectivement de  $1.96 \pm 0.74\%$ ,  $2.46 \pm 0.40\%$  et  $1.73 \pm 0.70\%$  pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage, les échantillons d'optimisation et les échantillons de produit fini. D'après Gaucheron (2004), la faible concentration en calcium est due à la perte lors de l'égouttage du lactosérum qui est très minéralisé.

#### III.5.2.4. Mesure de la teneur en matière grasse

Les résultats du dosage de la matière grasse sont présentés dans la figure 41 pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage et dans la figure 42 pour les échantillons de produit fini.



**Figure 41 :** Matière grasse des échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage.



**Figure 42 :** Matière grasse des échantillons de produit fini.

Il ressort des figures 41 et 42 que la teneur moyenne en matière grasse des échantillons de fromage fabriqué sont respectivement de  $17.29 \pm 7.11\%$  et  $21.8 \pm 6.22\%$  pour les échantillons de la matrice des expériences du plan de criblage et les échantillons de produit fini. **Lhsaoui (2003)** a trouvé que la teneur en matière grasse du fromage traditionnel frais Klila est de 31.84 %.

Les travaux de **Hamamma et Bayi (1990)** ont montré que la teneur en matière grasse pour le fromage *Jben* Marocain est de 16.5%. En comparaison avec nos résultats, ces derniers sont inférieurs aux nôtres.

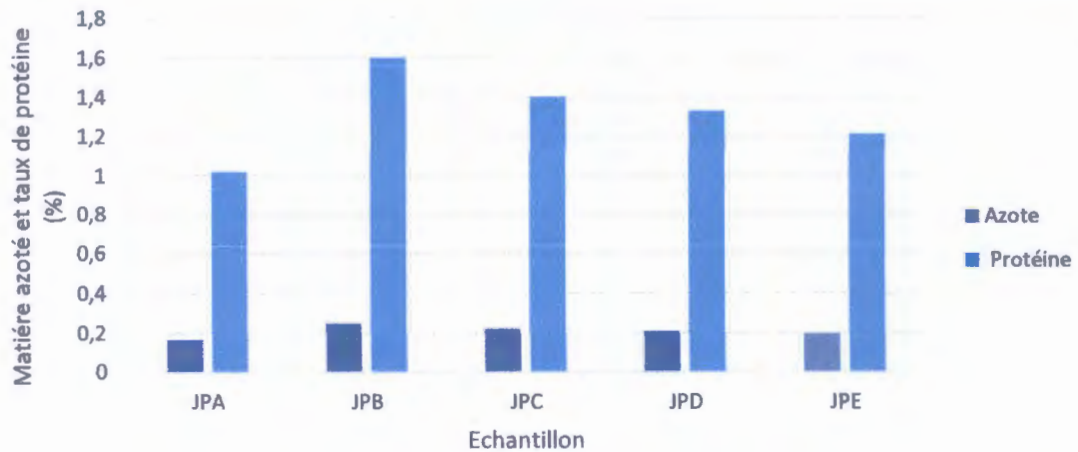
Selon **Luquet (1986)**, la teneur en matière grasse d'un fromage à 0% de matière grasse est de 0.17 g/100 g du fromage, et à 20% elle est de 3.4 g/100g du fromage, et selon **Apfelbaum et al. (2004)**, la teneur en matière grasse d'un fromage frais à 70% (de matière grasse) est de 37.3g/100g du fromage.

### III.5.2.5. Dosage de l'azote total

Les résultats du dosage de la matière azotée et de la détermination du taux de protéine sont illustrés par la figure 43 pour les échantillons de produit fini. En se rapportant aux résultats de la figure 43, il apparait que la teneur en matière azoté des cinq échantillons du fromage frais est de 0.168% pour le fromage JPA, 0.252% pour le fromage JPB. Pour les fromages JPC, JPD, JPE, les teneurs sont de 0.224%, 0.210% et 0.196% respectivement.

Concernent les protéines, les teneurs mesurés pour les cinq échantillons de fromage frais sont égales à 1.02% pour le fromage JPA et 1.60% pour le fromage JPB. Pour les trois autres échantillons on a noté des teneurs de 1.40%, 1.33% et 1.21% pour les échantillons de fromage JPC, JPD, JPE respectivement.



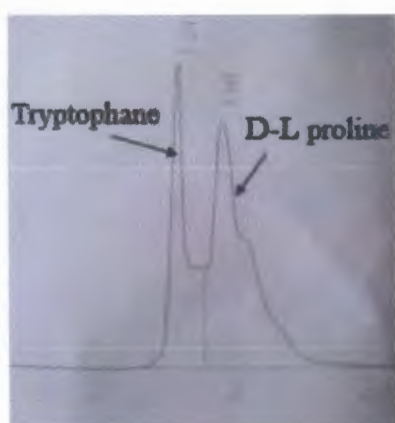


**Figure 43 :** Matière azoté et le taux de protéine des échantillons de produit fini.

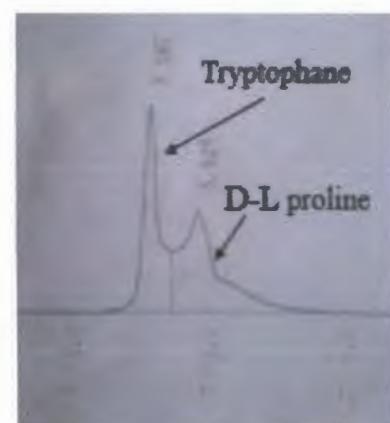
D'après **Apfelbaum et al. (2004)**, la teneur en matière protéique pour un fromage frais à 0% de matière grasse est de 7.5g/100g du fromage, à 20% (de matière grasse), il a une teneur de 8.3g/100g, et pour le fromage frais à 70% (de matière grasse), la teneur est de 9.8g/100g du fromage. Par ailleurs, **Hamamma et Bayi (1990)** ont rapporté que la teneur en protéine pour le fromage *Jben* Marocain est de 15,8%.

### III.5.2.6. Séparation des acides aminés libre

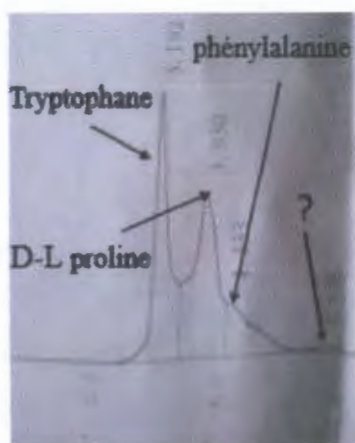
Les différents échantillons de fromage ont été analysés afin de comparer leurs profils chromatographiques et d'obtenir une information sur la composition de ces fromage en certains acides aminés, en comparaison avec les différents étalons. Les chromatogrammes des cinq échantillons de fromage sont représentés par les figures 44, 45, 46, 47 et 48.



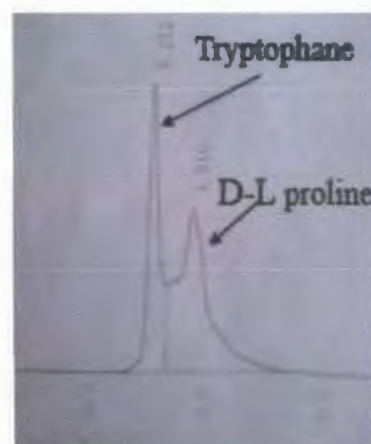
**Figure 44 :** Chromatogramme de fromage JPA analysé par l'HPLC.



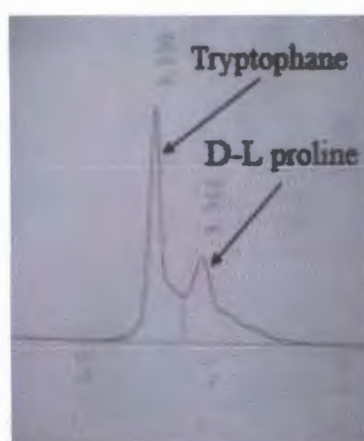
**Figure 45 :** Chromatogramme de fromage JPB analysé par l'HPLC.



**Figure 46 :** Chromatogramme de fromage JPC analysé par l'HPLC.



**Figure 47 :** Chromatogramme de fromage JPD analysé par l'HPLC.



**Figure 48 :** Chromatogramme de fromage JPE analysé par l'HPLC.

L'identification des pics générés a été effectuée par comparaison du temps des rétentions correspondant à ceux des acides aminés étalons analysés dans les mêmes conditions (**Annexe XV**).

Sur le chromatogramme de fromage JPA, il apparaît deux pics dont le premier correspond à la Tryptophane (3,214min) et le deuxième correspond à D-L proline (3,941min). Concernant le chromatogramme de fromage JPB, il apparaît deux principaux pics dont le premier correspond à la Tryptophane (3,187min) et le deuxième correspond à D-L proline (3,925min).

Sur le chromatogramme de fromage JPC, il apparaît trois pics qui sont apparus après un temps de rétention de 3.192, 3.930 et 4.333 min, correspondent probablement à la Tryptophane, D-L proline et à la phénylalanine respectivement.

Malheureusement, nous n'avons pas arrivé à identifier l'acide aminé correspond à un temps de rétention de 5.908min à cause du manque des acides aminés étalons. En ce qui concerne le

chromatogramme de fromage JPD, il apparait deux principaux pics et qui correspond à la Tryptophane (3,212min) et le deuxième correspond à D-L proline (3.916min). Sur le chromatogramme de fromage JPE, deux principaux pics sont observés et qui correspondent aussi à la Tryptophane et à D-L proline.

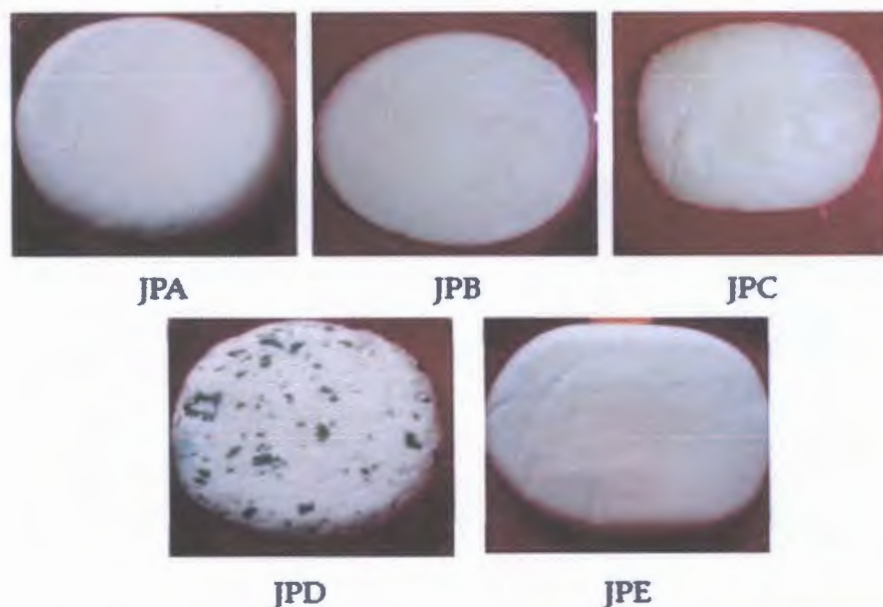
D'une manière générale les acides aminés : D-L Arginine, Glycine, Cystéine, Tyrosine ne sont pas détectés dans l'ensemble des échantillons de fromage analysé, cela peut être dû à la technique utilisée et à la longueur d'onde choisie pour l'analyse. D'autre part ces résultats montrent la présence des deux acides aminés Tryptophane et D-L phénylalanine dans les échantillons de fromage analysé.

### **III.6. Analyse sensorielle (test de dégustation)**

En industrie fromagère, la qualité des fromages est largement déterminée par la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (Edima, 2007). Les caractéristiques sensorielles d'un fromage sont déterminées par la composition du lait (richesse en protéines et matière grasse).

Les tableaux 13, 14, 15, 16 et 17 rassemblent les résultats des tests de dégustation pour les cinq échantillons des fromages. La figure 49 montre l'aspect visuel des cinq fromages frais élaborés.

JPA (fromage amélioré), JPB (fromage de gésier) JPC (fromage de chardon) JPD (fromage amélioré épicé par la menthe) et JPE (fromage de la caillette).



**Figure 49** : Aspect du fromage frais fabriqué.

**Tableau 13** : Résultats de la description de l'apparence de la croute du fromage.

Echantillons	Description de l'apparence extérieure : (croute)		
	Surface	Forme	Couleur
<b>JPA</b>	46.66% : Granuleuse	40% : Pâteux	100% : Blanc crème
<b>JPB</b>	80% : lisse	60% : Régulier	73.33% : crème
<b>JPC</b>	93.33% : lisse	80% : Régulier	80% : Blanc crème
<b>JPD</b>	73.33% : Rugueuse	80% : Irrégulier	40% : Blanc crème
<b>JPE</b>	73.33% : lisse	53.33% : Régulier	60% : Jaune pâle

**Tableau 14** : Résultats de la description de texture du fromage.

Echantillons	Description de la pâte à la coupe : (texture)		
	Couleur	Elasticité	Homogénéité
<b>JPA</b>	86.66% : Blanc crème	66.66% : Ferme	80% : Ouvertures
<b>JPB</b>	53.33% : crème	80% : Ferme	66.66% : Homogène
<b>JPC</b>	86.66% : Jaune pâle	53.33% : Ferme	93.33% : Homogène
<b>JPD</b>	53.33% : Blanc	66.66% : Ferme	73.33% : Ouvertures
<b>JPE</b>	73.33% : Jaune pâle	60% : Friable	80% : Homogène

**Tableau 15** : Résultats de la description de l'odeur et l'arôme du fromage.

Echantillons	Description de l'odeur		Description de l'arôme	
	Lactique	Végétal	Lactique	Végétal
<b>JPA</b>	60% : Petit lait	0%	60% : Petit lait	0%
<b>JPB</b>	66.66% : Petit lait	0%	73.33% : Petit lait	0%
<b>JPC</b>	53.33% : Petit lait	0%	40% : Beurre	0%
<b>JPD</b>	0%	100% : Herbe	0%	100% : Herbe
<b>JPE</b>	66.66% : Petit lait	0%	60% : Beurre	0%

**Tableau 16** : Résultats de la description de saveur, sensation et le goût finale en bouche du fromage.

Echantillons	Description de la saveur	Description des sensations	Description finale en bouche
<b>JPA</b>	40% : Fade	40% : Douceur	53.33% : Plutôt courte
<b>JPB</b>	46.66% : Fade	40% : fade	40% : Plutôt courte
<b>JPC</b>	60% : Fade	46.66% : fade	46.66% : Plutôt courte
<b>JPD</b>	40% : Fade	26.66% : Douceur 26.66% : Acre	40% : Intense en gout
<b>JPE</b>	46.66% : Acide	66.66% : Douceur	40% : Plutôt courte

Conclusion et  
Perspectives

Le *Jben* est l'un des produits laitiers préparé à l'artisanat ou bien traditionnellement à partir du lait cru de vache, de chèvre, ou bien de brebis, parfois utilisé à l'état frais, parfois avec ajout du sel, du persil... etc, soit pour améliorer le gout soit pour la conservation.

Notre étude s'est articulée autour de deux volets basés sur l'utilisation des plans d'expériences : une approche qualitative correspondant à l'analyse de screening permettant d'extraire les facteurs qui affectent le plus la réponse à partir de laquelle relève une analyse quantitative (RSM) fondée sur la construction et l'analyse des surfaces de réponses.

Dans un premier temps, nous avons mis en œuvre un plan de criblage dit de Plakett-Burman, afin de dégager les facteurs qui affectent la réponse. L'application de ce plan a ressorti quatre facteurs importants, l'enrichissement du lait, le pH, la dose d'extrait enzymatique et la température de coagulation. Dans un deuxième temps, ces quatre facteurs ont été étudiés par la méthodologie des surfaces de réponses (RSM). Nous avons appliqué un plan de Box-Behnken, basé sur un modèle du second degré. La conversion a été ainsi modélisée en fonction de ces quatre facteurs. D'après les analyses statistiques, le modèle obtenu est très hautement significatif,  $P < .0001^{***}$  ( $< 0,001$ ) avec un coefficient de détermination  $R^2 = 91\%$  ce qui montre la bonne concordance entre les données expérimentales et celles prévues pour toute la régression.

La recherche des conditions optimales, effectuée par l'analyse des diagrammes des surfaces de réponses et de contours plot donnés par logiciel, a permis de déterminer théoriquement les valeurs optimales des facteurs étudiés, l'enrichissement du lait à 11.95%, pH à 6.25, la dose de extrait enzymatique à 1.69ml et la température de coagulation à 32.5°C.

Afin de tester la validité du modèle appliqué, nous avons réalisé une expérience en respectant les valeurs de la solution donnée par le logiciel pour chaque facteur, le résultat de cette expérience a confirmé la validité du modèle avec une adéquation de 91.26% du modèle.

Les résultats de notre recherche permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives. Donc pour compléter ce travail nous proposons de faire :

- ✓ Une étude détaillée sur la composition de fromage traditionnel *Jben*.
- ✓ Passer à l'application industrielle avec utilisation des paramètres optimisés.

Références

bibliographiques



**A**

**Abdelaziz S et Ait kaci F., 1992.** *Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben"*. Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67.

**Abiazar R., 2007.** *Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier Propriétés technologiques des coagulums obtenus*. Thèse doctorat Agroparistech .196.

**Abu-Lehia I.H., 1994.** Recombined Camel's Powder. Actes Du Colloque : "Dromadaires Et Chameaux Animaux Laitiers", 24-26-Octobre, Nouakchott, Mauritanie.

**Abu-Tarboush H. M., 1996.** *Comparision of growth and proteolytic activity of yogurt starters in whole milk from camels and cows*. J. Dairy Sci. **79** : 366-371.

**AFNOR., 2001.** *Lait - Détermination de la teneur en matière grasse - Méthode gravimétrique (méthode de référence)*. NF EN ISO 1211, 21.

**AFNOR., 1993.** *Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers : analyses physicochimiques*. Paris La Défense : AFNOR, 4e éd., 581.

**Aissaoui O., Zitoun M et Zidoune N., 2006.** *Le fromage traditionnel algérien « Bouhezza ».*Séminaire d'Animation Régional. Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments .INSAT-Tunis. Tunisie 27-28-29 Novembre.

**Aissaoui Z.O., Pediliggieri C., Benatallah L., Lortal S., Licitra G., Zidoune M.N et Carpino S ., 2012.** *Bouhezza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goatskin bags*. Journal of Food, Agriculture and Environement.**10** (2):289-295.

**Ait ouahman A., Ibourk A et Rharrassi A., 2010.** *Optimisation pour plans d'expériences combinées à base des règles de lecture des cartes de contrôle*, Revue Modulad, N°41.

**Alais C., 1974.** *Science du lait ; principes des techniques laitières*, 3ème éd., Publicité Sep,807.

**Amirouche L., 2011.** *Etude du pouvoir de sorption du Cuivre (II), du Zinc (II) et des polyphénols par les bentonites sous l'effet des irradiations micro-ondes*. Mémoire de Magister : Université mouloud mammeri. Tiziouzou.101.

**Andren A., 2002.** *Rennets and coagulants in Encyclopedia of Dairy Science*. Roginski H.,Fuquay J. Fox P. Elsevier.281-286.

---

**Angellier H., 2005.** *Nanocristaux d'amidon de maïs cireux pour applications aux composites.* Thèse doctorat. : Université Joseph Fourier Grenoble 1.285.

**AOAC., 1980.** *Official methods of analysis.* (13th edition). Association of official Analyticalchemiste. Washington DC, USA.

**AOAC., 2002.** Association of official analytical chemistry . Ash of cheese. Official method 935.42, Chapter 33, 71.

**AOAC., 1997.** Official Methods of Analysis. *15e Ed.* Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC.

**Apfelbaum M., Romon M et Dubus M., 2004.** *Diétique en nutrition.* Edition Masson, 314.

**Aquilanti L., Babin V., Santarelli S., Osimani A., Petruzzelli A et Clementi F., 2011.** *Bacterial dynamics in a raw cow's milk Caciotta cheese manufactured with aqueous extract of Cynara cardunculus dried flowers.* Letters in Applied Microbiology. **52** : 651–659.

### **B.**

**Barbano D.M., Clark J.L., Dunham C.E et Fleming R., 1990.** *Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study.* J. Assoc. of Off. Anal. Chem. **73** : 849-859.

**Bencharif A., 2001.** *Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : états des lieux et problématiques.* Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches. **32** : 25-45.

**Benkerroum N et Tamime A.Y., 2004.** *Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale.* Food Microbiol. **21** : 399–314.

**Bendimerad N., 2013.** *Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben. »* .Thèse doctorat. : Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. 147.

**Bengoumi M., Faye B et Tressol J-C., 1994.** *Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain.* Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26- octobre, Nouakchott, Mauritanie.

**Belyagoubi L et Abdelouahid D.E., 2013.** *Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional algerian dairy products.* Advances in Food Sciences. **35** (1) : 84- ,85.

---

**Bennacir M., 1980.** *Contribution à l'étude de la qualité chimique et bactériologique des laits des centres de collecte du Gharb.* Thèse 3<sup>e</sup> Cycle IAV, 72-75.

**Benyahia F.A., 2013.** *Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie.* Thèse doctorat : Université constantine 1. 115.

**Berridge N. J., 1955.** *The purification and crystallization of rennin.* *Biochem. Journal.* **39** : 179-187.

**Bohak Z., 1970.** *Chicken pepsinogen and chicken pepsin, In : Methods in enzymology vol XIX protéolytic enzymes pp. 347-358, (Eds G.E. Perlmann and L.Lorand) ; Academic press, New York, 1042.*

**Box G.E. P., Hunter W. G et Hunter J., 2005.** *Statistics for Experimenters*». Deuxième édition. New-York : Wiley, 633.

**Brulé G., Lenoir J et Remeuf F., 1997.** *La micelle de caséine et la coagulation du lait, in : Le Fromage : Eck A., Gillis J.C. Paris : Lavoisier Tec et Doc, 7-41.*

**Brulé G., 1987.** *Les minéraux .In : Lait. Matière première pour l'industrie laitière CEPIL. 87-98.*

### C

**Cazet L D M., 2007.** *Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin.* Thèse doctorat : l'Université claud-bernard. Lyon, 153.

**Cecchinato A., Penasa M., Cipolat Gotet C., De Marchi M et Bittante G., 2012.** *Short communication : Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk.* *J. Dairy Sci.* **95** : 1709-1713.

**Chagnon P., 2005.** *Méthode statistique, les plans d'expériences, Contrôles Essais Mesures,* 97-100.

**Collin J C., Grappin R et Legreat Y., 1977.** *Etude de la méthode de mesure, selon BERRIDGE, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique.* *Revue Laitière Française,* 355, 389-394.

---

**D**

**Dagleish D.G et Corredig M., 2012.** *The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing.* Annu. Rev. Food Sci. Technol. **3**:449–467.

**Debouz A., Guerguer L., Oudjana A .H., Hadj Seyd A., 2014.** *Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa.* Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes. **7** : 10-17.

**Debry G.** Lait nutrition et santé. Tec et Doc. Lavoisier 6- 26, 30, 566.

**Deming S.N et Morgan S.L., 1988.** *Experimental Design : A Chemometrix Approach*, Elsevier, New York, USA.

**Desmazeaud M., 1998.** *Bactéries Lactique Et Qualité Des Fromages.* INRA, 3.

**E**

**Eck A et Gillis J.C., 1997.** *Les agents de transformation du lait.* In : *Le fromage.* 3<sup>ème</sup> éd. Paris : Tec et Doc Lavoisier. 6 -189.

**ECK A., 1987.** *Le fromage.* 2<sup>ème</sup> éd. Tech. Lavoisier .Paris .101-227.

**Edima H.C., 2007.** *Carnobacterium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère.* Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. 57-66.

**El-Amin F. M et Wilcox J., 1992.** *Composition of Majaheim camels.* *J. Dairy Sci.* **75** : 3155-3157.

**F**

**FAO., 1995.** *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.* Rome, Le fromage.177-186p. Collection FAO : Alimentation et nutrition, 28. ISBN 92-5-203534-6.

**Federici F., 1982.** *Comparative study of some properties of a new milk coagulating enzyme and two commercial rennets* *In:Utilisation des enzymes en technologie alimentaire.* Ed., P. Dupuy, Technique et documentation Lavoisier. 281-286p .555.

**Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M., Brandao G.C., da Silva E.G.P., Portugal L.A., dos Reis P.S., Souza A.S. et dos Santos W.N.L., 2007.** *Box- Behnken*

---

*design : An alternative for the optimization of analytical methods. Analytica Chimica Acta. 597 : 179-186.*

**Fisher R. A. J., 1926.** *Ministry. Agric. 33 : 503-513.*

**Foltmann B., 1971.** *The biochemistry of prorennin and rennin (chysosin) In : Milk proteins, chemistry and molecular biology. Ed., H.A. Mc Kenzie V. II, Academic press, 217-252.*

**Fredot É., 2005.** *Connaissances des aliments. Paris : Tec et Doc Lavoisier. ISBN : 2-7430-0810-5. 43-51.*

### G

**Gaouar N., 2011.** *Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes.* Thèse de magistère en Nutrition. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen. 95.

**Gast H., Maubois G et Adda J., 1969.** *Le lait et les produits laitiers en Ahggar.* Ed Arts et métier graphique. Paris.69.

**Gaucheron F., 2004.** *Minéraux et produits laitiers.* Edition Tec et Doc. Lavoisier, 431.

**Gelais-St.D., Tirard-C.P., Belonger G., Couture R et Drapeau R., 2002.** Chapitre 6 : *Fromage.* Pp 349 à 412. *Science et Technologie du lait, transformation du lait.* Coord. vignola. Edition école polytechnique. 600.

**Gilon F., 1997.** *Modalisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur a commutation électroniques.* Thèse Doctorat. : Université des sciences et technologies lille.160.

**Gordin S et Rosenthal I., 1978.** *Efficacy of chicken pepsin as a milk clotting enzyme Journal of food Protection. 41: 684-688.*

**Goupy J., 1990** *Etude comparative de divers plans d'expériences, Revue statistiques appliquées, tome 38, N°4, 5-44.*

**Goupy J et Creighton L., 2009.** *Introduction aux Plans d'expériences.* Paris : Dunod, 180-181.

**Goupy J., 2005.** *Pratiquer les plans d'expériences.* Editions DUNOD.

**Goupy. J., 2006.** *Les plans d'expériences revues Modulad, n°34.*

**Goupy J.** *Modélisation par les plans d'expériences, Techniques de l'ingénieur, mesures et contrôles. R 275, 1-23.*

---

**Guiraud J.P., 1998.** *Microbiologie alimentaire.* Paris : Dunod. 140-141.

**Gueguen., 1971.** *La composition minérale du lait et son adaptation aux besoin minéraux du jeune .*  
*Ann. Nutr.Alim.* **25** : 335-381.

**Green M.L., Valler M.J et Kay J., 1984.** *Assessment of the suitability for cheddar cheesemaking of purified and commercial chicken pepsin préparations.* *J. dairy Research.* **51**:331-340.

### H

**Hamama A et Bayi M., 1991.** *Composition and microbiological profile of two moroccan traditional dairy products : Raib and Jben .* *J.Soc.Dairy Technol.* **44**(4) : 118-120.

**Hallel A., 2001.** *Fromages traditionnels algériens. Quel avenir ?* *Revue Agroligne.* **14**: 43-47.

**Hou Y., Liu S., Xiong H et Li C., 2011.** *Optimization of polygalacturonase production condition for bacillus licheniformis 3x05 using response surface methodology.* *international conference on agricultural and biosystems engineering. advances in biomedical engineering.* **1**(2) : 373-377.

### I

**ISO 3433., 2002.** *Fromages -Détermination de la teneur en matière Grasse- Méthode acidobutyrométrique,* International Organization of Standardization.

### J

**Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P et Brulé G., 2008.** *Les produits laitiers.* 2e éd. Paris : Tec et Doc Lavoisier .ISBN : 978-2-7430-1032-4. 37-50.

### K

**Kamoun M., 1994.** *Evolution de la composition du lait de dromadaire durant la lactation : conséquences technologiques.* Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie.

**Kamoun M., 1995.** *Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation.* *Option Médit.* **13** : 81-103.

---

**Kara A., 2013.** *Contribution à la modélisation Coupe – paramètres d'usinage à l'aide de la Méthode de Traitement de Données par Groupe.* Thèse doctorat. Université abou bekr belkaid-tlemcen.81.

**Kjeldahl J., 1883.** *A new method for the estimation of nitrogen in organic compounds.* Z Anal Chem **22**: 366.

**Kuehl R.O., 2000.** *Design of experiments : statistical principles of research design and analysis.* Pacific Grove (CA) : Duxbury Press.

**Kimouche K., 2008.** *Etude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de réponse.* Thèse de magistère : Université mentouri constantine.75.

**Koussou M.O., Grimaud P et Mopaté L.Y., 2007.** *Evaluation de la qualité physico-chimique et hygiénique du lait de brousse et des produits laitiers locaux commercialisés dans les bars laitiers de N'Djamena au Tchad.* Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. **60** : 45-49

### L

**Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El yachioui m., Berny E.H et Ouhssine M., 2009.** *Etude physicochimique et microbiologique de laits crus.* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. **148** : 7-16.

**Lahsaoui S., 2009** *Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila).* Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme d'Ingénieur : Université El Hadj Lakhdar Batna. 72.

**Lante A., 2006.** *Content and characterization of minerals in milk and in crescena and squacquerone italian fresh cheeses by ICP-OES.* Food control. **17** : 229-233.

**Larpent J.P., 1997.** *Microbiologie alimentaire, Techniques de laboratoire.* Tech et Doc Lavoisier, Paris, France.

**Lecoq R., 1965.** *Manuel d'analyses alimentaires et expertises usuelles.* Doin, Paris, France.

**Lewis G., Mathieu D et Phan-Tan-Luu R., 1999.** *Pharmaceutical Experimental Design,* Marcel Dekker, New York, USA.

**Lopez M.B., Jordan M.J., Hellin P. et Laencia J., 1996.** *Technological suitability of different rennets and coagulant enzymes applied in Murciano- Gradina goat milk.* International Dairy Federation. **52**: 144-148.

---

**Luquet F.M., 1986.** *Les produits laitiers vache-brebis-chèvre.* Edition Tec et Doc. 244.

**Luquet F.M et Corrieu G., 2005.** *Bactéries lactiques et probiotiques.* éd .paris : Tec et Doc Lavoisier.343-408.

**M**

**Macedo A., Maicata F.X et Oliveira J.C., 1993.** *The technology, chemistry and microbiology of Serra cheese : A review,* J. Dairy Sci. **76** : 1725-1739.

**Magali P., 2012.** *La transformation fromagère caprine fermière: bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre.* Peyrot : Tec & Doc lavoisier. ISBN 978-2-7430-1447-6. 63.

**Mahamedi A.E., Djellid Y., Benlahcen K et Kihal M., 2002.** *caracterisation microbiologique du fromage traditionnel algérien "Klila" journée scientifique du master assurance qualité.* Le 09 Février 2015. Béchar, Algérie.Mahaut M, Jeantet R, Brulé G. *Initiation à la technologie fromagère.* Éd. paris : Tec & Doc.25.

**Mahieu H., 1976.** *Incidence sur la composition du lait des conditions d'élevage des types d'alimentation.* Document ITEB, 1-67.

**Mansour et Alais C., 1971.** *Le mécanisme de salage des fromages en saumure,* revue laitière française n° 290. 641- 645.

**Martin L.A.P., Pestana de Vasconcelos M.M.et de Sousa R.B., 1996.***Thistle (Cynara cardunculus) flower as a coagulant agent for cheese making.Short characterization.* Lait. **76**:473-477.

**Mathieu J., 1998.** *Initiation à la physicochimie du lait.* Paris : Lavoisier, « Tec et Doc », 220.

**Mechai A., Debabza M., Kirane D., 2014.** *Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products.* International food research journal. **21**(6):2451-2457.

**Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M et Elyachioui M., 2007.** *Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk.* World Journal of Dairy & Food Sciences. **2**: 23–27.

---



**Moschopoulou E., 2004.** *Effect of extraction conditionq on the characteristics of the traditional lamb rennets Greek.* Journal of Dairy Science &Technology. 1:27-42.

**Murthy M.S.R.C., Swaminathan T., Rakshit S.K et Kosugi Y., 2000.** *Statistical optimization of lipase catalysed hydrolysis of methyloleate by response surface methodology.* Bioprocess Engineering. 22 : 35-39.

### N

**Narkprasom N., Assavarachan R et Wongputtisin P., 2013.** *Optimization of Reducing Sugar Production from Acid Hydrolysis of Sugar cane Bagasse by Box Behnken Design.* Journal of Medical and Bioengineering. 2 : 238-241.

**Neville M.C et Jensen R.G., 1995.** *Hand book of milk, the physical proprieties of human and bovin milk.* Ed JENSON. Acadimic press, 592.

**Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M.M., et Dadie A., 2009** *Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flowers (Cynara scolymus) and from the fig tree latex (Ficus carica ) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria.* International Journal of Food Technology. 7 : 20-29.

### Q et P

**Ouadghiri M., 2009.** *Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine.* Thèse de doctorat : Université mohammed vaagdhal. Rabat, 26-28.

**Ouali A., 2008.** *Evaluation de la stabilité transitoire des réseaux électriques par les réseaux de neurones artificiels et les plans d'expériences.* Mémoire de Magister : Université houari Boumediene. Alger. 100.

**Owusu-Kwarteng J., Akabanda F., Nielsen D.S., Tano-Debrah K., Glover, R.L. et Jespersen L., 2012.** *Identificationof lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana.* Food Microbiology. 32 : 72-78.

**Park Y.S., Kang S.W., Lee J.S., Hong S.I. et Kim S.W., 2002.** *Xylanase production in solid state fermentation by Aspergillus niger mutant using statistical experimental design.* Applied Microbiology and Biotechnology. 58 : 761-766.

**Patrick F., Timothy M et Paul L., 2000.** *Fundamentals of cheese science* Edit: Copyright by Aspen Publishers.

---

**Payne M et Morison K., 1999.** *A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese.* International Dairy Journal. **9**: 887-894.

**Pierre C., 2005.** *Les plans d'expériences partie 1 : Principes généraux,* Revue : Contrôles- Essais- Mesures, 69-72.

**Pierre D., 2008.** *Le plan d'expérience évoluée,* Revue MODULAD, N° 38.

**R**

**Ramet J. P., 1993.** *La technologie des fromages au lait de dromadaire (Camelus dromedarius).* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 37p, FAO animal production and health paper. ISBN 92. 5. 203 1 54. 5. 113.

**Ramet J.P., 1985.** *La fromagerie et la variété du fromage du bassin méditerranéen.* FAO, 117.

**Roseiro L.B., Garcia-Risco M., Barbosa M., Ames M.J et Wilbey A R., 2003 .** *Evaluation of Serpa cheese proteolysis by nitrogen content and capillary zone electrophoresis.* International Journal of Dairy Technology. **56**: 99-104.

**S**

**Sadhukhan A.K., Ramana Murthy M.V., Ajaya Kumar R., Mohan EV.S., Vandana G., Bhar C. et Venkateswara Rao K., 1999.** *Optimization of mycophenolic acid production in solid-state fermentation using response surface methodology.* Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. **22** : 33-38.

**Sardinas J.L., 1968.** Rennin enzyme of *Endothia parasitica*. *Appl. Microbiol.* **16** : 248-253.

**Seme K., Pitala W et Osseyi G. E., 2015.** *Qualité nutritionnelle et hygiénique de laits crus de vaches allaitantes dans la région maritime au sud-togo.* European Scientific Journal. **11** : 359-376.

**Siboukeur O., 27.** *Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physicochimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation ;* Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques ; Institut national Agronomique El-harrach-Alger. 116.

**Simal S., Sanchez S., Bon J., Femenia A., Rossello C., 2001.** *Water and salt diffusion during cheese ripening: Effect of the external and internal resistances to mass transfer.* Journal of Food Engineering. **48** : 269-275.

**Simon D., François M et Dudez Ph., 2002.** *Transformer les produits laitiers frais à la ferme.* Dijon : Educagri, ISBN : 2-84444-219-6. 93.

**Sunitha I., Subba Rao M.V. et Ayyanna C., 1998.** *Optimization of medium constituents and fermentation conditions for the production of L-glutamic acid by the co-immobilized whole cells of *Micrococcus glutamicus* and *Pseudomonas reptilivora*.* Bioprocessing and Engineering, **18** : 353-359.

V

**Vignola C., 2002.** *Science et technologie du lait : transformation du lait.* Français : Montréal Presses Internationales Polytechnique. ISBN 2-553-01029-X. 393.

**Vignola C.L., 2002.** *Science et technologie du lait : transformation du lait.* Canada : Presses Internationales Polytechnique, ISBN 978-2-553-01552-6. 349.

**Vioque M., Gomez R., Sanchez E., Mata C., Tajada L. et Fernandez-Salguero J., 2000 .** chemical and microbiological characteristics of Ewes' milk cheese manufactured with extracts from flowers of *cynara cardunculus* and *cynara humilis* as coagulants. *J.Agric. Food Chem.* **48**: 451-456.

**Veisseyre R., 1979.** *La technologie du fromage*, 3ème ed., la maison Rustique, Paris, 714.

W

**Wolter R., 1997.** *Alimentation de vache laitière.* Ed. France agricole, 191, 192,204.

**Claverie M.F et Vega-Hernández M.C., 2007.** Aspartic Proteases Used in Cheese Making pp : 207-221, In : *Industrial Enzymes* edited by Polaina J. and MacCabe A.656.

Y

**Yagil R., 1985.** *The Desert camel; comparative physiological adaptation.* Ed KARGER, 109-120.

**Yu X., Hallet S.G., Sheppard J. et Watson A.K., 1997.** *Application of the Plackett-Burman experimental design to evaluate nutritional requirements for the production of *Colletotrichum**

---

*coccodes spores*. Applied Microbiology and Biotechnology, **47** : 301-305.

**Yost R.W., Ettre L.S et Conlon R.D., 1980.** Practical liquid chromatography. An introduction. Perkin-Elmer, U.S.A. 255.

**Z**

**Zaidi O., Zertal M. et Zidoune M.N., 2000.** *Présentation d'un fromage traditionnel bouhezza*. Journal Algérien de Médecine. **2** : 96-101.

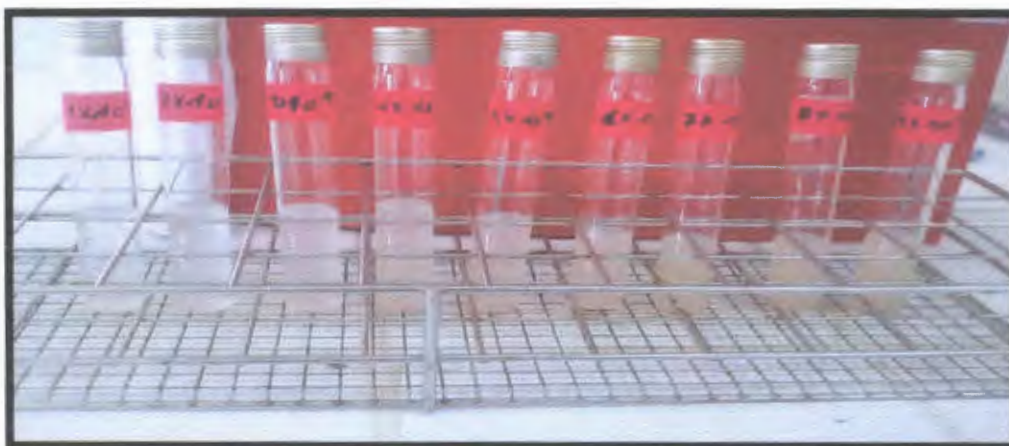
**Zhao J., Chen S. et Agboola S.O., 2003.** *Effect of starter culture on the biochemical and sensory properties of ovine cheese manufactured with a plant coagulant*. Australian J. of Dairy Techn., **58** (2) : 219.

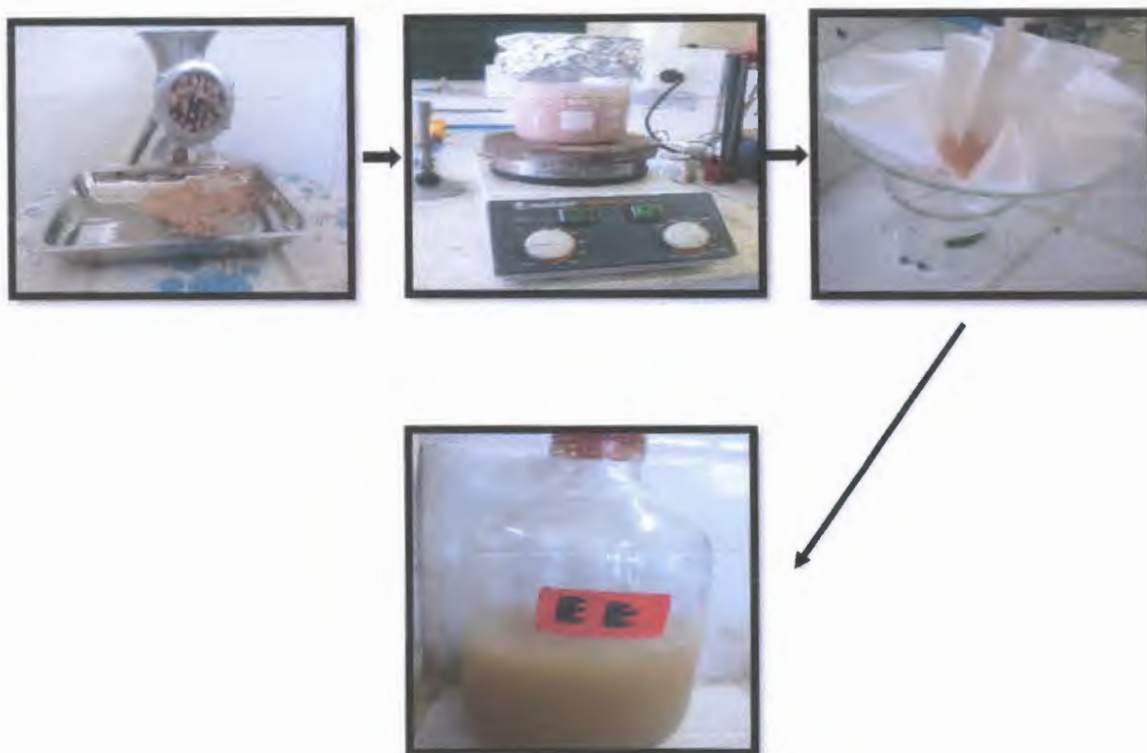
# *Annexes*

**Annexe I : dilutions de l'extrait enzymatique****Tableau 01 : les dilutions préparées.**

N° de tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dilution	$1 \times 10^{-1}$	$2 \times 10^{-1}$	$3 \times 10^{-1}$	$4 \times 10^{-1}$	$5 \times 10^{-1}$	$6 \times 10^{-1}$	$7 \times 10^{-1}$	$8 \times 10^{-1}$	$9 \times 10^{-1}$
Ed (ml)	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Ee (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

N° : Numéro ; Ed : Eau distillée ; Ee : Extrait enzymatique

**Annexe II : Les tubes des dilutions préparées de l'extrait enzymatique****Figure 01 : Les tubes des dilutions préparées****Annexe III : substrat standard****Figure 02 : Tube de substrat standard**

**Annexe IV : Extrait enzymatique****Figure 03 : Préparation de l'extrait enzymatique****Annexe V : Préparation de la soude Doronic (N/9)**

NaCl .....2,2 g  
 Eau distillée ..... 500 ml

**Annexe VI : Préparation de NaOH 0,1N**













NaCl .....2,0 g  
 Eau distillée ..... 500 ml

**Annexe VII : Indicateur de TASHIRO**


10 ml de méthyle rouge à 0.03% dans l'éthanol 70% et 1.5ml de bleu de méthylène à 0.1% aqueux.

## Annexe VIII : Echantillon du fromage

Tableau 02 : Les différents échantillons du Jben préparé.

Echantillon du fromage	Aspect de gel du fromage		pH	Acidité (%)	MS (%)	MM (%)	MG (%)
	Avant égouttage	Après égouttage					
1 +++++			5,42	0,25±00	52±0.1	2,92±0.005	12
2 +---+			5,60	0,20±0,05	50±0.1	2,14±0.002	22
3 +--+			4,47	0,14±0.15	37,6±0.05	0,7±0.002	16
4 +--+			5,13	0,28±0.15	48,66±0.05	2,10±0.001	15,5
5 +---+			5,48	0,18±0.1	55,33±0.1	2,14±0.001	23,5
6 +--+			4,64	0,207±00	41±0.08	1,12±0.001	24,5



7 -+			4,44	0,27±0.01	33,33±00	0,64±0.0009	17,5
8 ++			5,24	0,28±0.00	50±00	2,34±0.002	6
9 ++-			5,28	0,26±0.1	50±00	2,58±0.003	11,5
10 +++			5,19	0,19±0.05	45,33±0.05	2,6±0.003	12
11 +++			5,25	0,27±0.1	56,66±0.01	2,18±0.001	32
12 ++++			5,16	0,28±0.11	46,66±0.1	2,06±0.001	15

## Annexe IX : Caractéristique du lactosérum et rendement du fromage

















Tableau 03 : Le volume et pH du lactosérum des 12 échantillons du fromage fabriqué.















Echantillon du fromage	Volume du lactosérum (ml)	PH du lactosérum
1 +++++	372.5	6.28
2 -+++	420	6.34
3 -++	380	4.81
4 +--+	341	5.37
5 +--+	425	6.02
6 -+-	400	5.20
7 --+	410	4.83
8 +--+	382	5.57
9 ++--	403	6.06
10 +++--	371	5.94
11 -+++	437	6.37
12 ++++	363	5.45















## Annexe X : Echantillon du fromage















Tableau 04 : Les différents échantillons du *Jben* préparé pour l'optimisation















Echantillon du fromage	Aspect de gel du fromage		pH	Acidité (%)	MS (%)	MM (%)
	Avant égouttage	Après égouttage				
1 -00			5.41	0.266±0.05	42±0.15	2.33±0.0003
1' -00						
2 +00			5.58	0.22±0.05	41±0.05	2.14±0.004
2' +00						
3 +00			5.50	0.27±00	43.33±00	0.78±0.0002
3' +00						

4 ++00			5.94	0.23±00	42±0.05	2.03±0.002
4' ++00						
5 00--			5.46	0.32±0.05	43.33±0.05	2.57±0.0007
5' 00--						
6 00++			5.85	0.18±00	37.66±0.01	2.71±0.002
6' 00++						
7 00+-			5.34	0.35±0.05	44.33±0.05	2.51±0.002
7' 00+-						















8 00++			6.12	0.135±00	42±0.05	2.7±0.0008
8' 00++						
9 -00-			5.52	0.221±0.057	40±00	2.84±0.002
9' -00-						
10 -00+			6.11	0.144±00	35.33±0.05	2.31±0.0029
10' -00+						
11 +00-			5.56	0.30±0.15	42±0.05	2.76±0.0005











11' +00-						
12 +00+			6.33	0.131±0.057	42±0.05	2.8±0.0019
12' +00+						
13 0-0			5.33	0.248±0.115	37.66±0.20	2.61±0.002
13' 0-0						
14 0+0			5.36	0.333±00	36.66±0.26	2.35±0.001
14' 0+0						

15 0+0			6.63	0.09±00	36.66±00	2.5±0.003
15' 0+0						
16 0+0			6.72	0.09±00	38.66±0.05	2.53±0.0015
16' 0+0						
17 -0-0			6.38	0.27±0.3	32±0.23	2.32±0.0005
17' -0-0						
18 -0+0			5.53	0.317±0.057	43.33±00	2.5±0.0019

18' -0+0						
19 +0-0			5.79	$0.200 \pm 0.057$	$42 \pm 0.05$	$2.85 \pm 0.0003$
19' +0-0						
20 +0+0			5.45	$0.315 \pm 0.1$	$44.33 \pm 0.01$	$2.91 \pm 0.0007$
20' +0+0						
21 0-0-			5.16	$0.347 \pm 0.057$	$23 \pm 0.20$	$2.28 \pm 0.0011$
21' 0-0-						



22 0-0+			5.93	0.164±0.115	36.66±00	2.52±0.0011
22' 0-0+						
23 0+0-			6.84	0.081±00	38.66±0.11	2.46±0.005
23' 0+0-						
24 0+0+			6.79	0.077±0.05	40±00	2.7±0.0005
24' 0+0+						
25 0000			6.01	0.146±0.057	40±0.1	2.61±0.0020

25' 0000						
26 0000			6.00	$0.176 \pm 0.057$	$28.66 \pm 0.05$	$2.67 \pm 0.0045$
26' 0000						
27 0000			5.37	$0.30 \pm 0.05$	$38.66 \pm 0.05$	$2.29 \pm 0.001$
27' 0000						

## Annexe XI : Caractéristique du lactosérum et le rendement du fromage

Tableau 05 : Temps de prématuration, temps de coagulation, volume du lactosérum et pH du lactosérum des 27 échantillons du fromage fabriqué.

Echantillon du fromage	configuration	Temps de prématuration	Temps de coagulation	Volume du lactosérum (ml)	pH du lactosérum
1	--00	2h 50min 56sec	3min 22sec	209	5,82
	--00'	2h 50min 56sec	3min 44sec	208,5	5,88
2	+00	Pas de maturat°	11min04sec	200	6,49
	+00'	Pas de maturat°	11min 10sec	199	6,51
3	+00	3h 21min	3min 45sec	190	5,96
	+00'	3h 21min	3min 26sec	195	5,89
4	++00	3h 18min 58sec	10min 18sec	192	6,46
	++00'	3h 18min 58sec	10min 20sec	195	6,40
5	00--	Pas de maturat°	8min 39sec	195	6,10
	00--'	Pas de maturat°	7min 36sec	195	6,12
6	00+0	1h 33min	6min 24sec	200	6,17
	00+0'	Pas de maturat°	6min 10sec	210	6,19
7	00+0	Pas de maturat°	5min 08sec	190	6,13
	00+0'	Pas de maturat°	5min 41sec	198	6,10
8	00++	1h 33min	3min 40sec	179	6,13
	00++'	1h 33min	3min 42sec	183	6,12
9	-00-	Pas de maturat°	5min 01sec	172	6,13
	-00-'	Pas de maturat°	5min 37sec	175	6,11
10	-00+	2h 40min	3min 45sec	190	6,15
	-00+'	2h 40min	3min 25sec	198	6,14
11	+00-	Pas de maturat°	8min 56sec	195	6,25
	+00-'	Pas de maturat°	13min 15sec	185	6,15
12	+00+	2h 40min	3min 56sec	194	6,07
	+00+'	2h 40min	3min 26sec	184	6,10
13	0-0	2h 50min 56sec	7min 51sec	200	5,88
	0-0'	2h 50min 56sec	5min 53sec	187	5,92
14	0+0	3h 41min	3min 56sec	186	5,85
	0+0'	3h 41min	3min 41sec	184	5,80
15	0+0	3h 18min 58sec	9min 30sec	198	6,49
	0+0'	3h 18min 58sec	9min 17sec	200	6,48
16	0++0	Pas de maturat°	10min 30sec	210	6,49
	0++0'	Pas de maturat°	10min 57sec	211	6,48
17	-0-0	3h 18min 58sec	4min52sec	210	6,20
	-0-0'	1h 5min 39sec	4min 04sec	208	6,10
18	-0+0	1h 5min 39sec	4min 09sec	211	6,20
	-0+0'	1h 5min 39sec	4min 20sec	210	6,19
19	+0-0	3h 18min 58sec	5min 30sec	211	6,20
	+0-0'	3h 18min 58sec	5min 17sec	200	6,31
20	+0+0	1h 5min 39sec	6min 10sec	196	6,20
	+0+0'	1h 5min 39sec	6min 50sec	200	6,16
21	0-0-	3h 21min	3min 44sec	216	5,85
	0-0-'	3h 21min	3min 18sec	209	5,86

22	0-0+	3h 41min	2min 52sec	180	5,84
	0-0+'	3h 41min	2min 51sec	190	5,85
23	0+0-	Pas de maturat°	30min 21sec	210	6,55
	0+0-'	Pas de maturat°	27min 20sec	211	6,53
24	0+0+	Pas de maturat°	9min 33sec	215	6,46
	0+0+'	Pas de maturat°	9min 55sec	200	6,48
25	0000	1h 5min 39sec	6min 43sec	185	6,18
	0000'	1h 5min 39sec	6min 42sec	170	6,17
26	0000	1h 5min 39sec	5min 51sec	185	6,16
	0000'	1h 5min 39sec	9min 13sec	182	6,15
27	0000	Pas de maturat°	12min 54sec	191	6,34
	0000'	Pas de maturat°	10min 57sec	199	6,30

### Annexe XII : Emballages fabriqués de couvercle (10X 7) cm



Figure 04 : Emballage des fromages frais fabriqués.

### Annexe XIII : Analyse sensorielle



Figure 05 : poste de dégustation

**Annexe XIV : Fiche de dégustation du fromage**

NOM : .....  
PRENOM : .....  
SEXE : .....  
Age : .....

DATE : .....

Place N° : .....

En Algérie ; le *Jben* le produit laitier traditionnel le plus populaire est préparé à partir du lait cru en utilisant des procédures traditionnelles à la maison par l'ajout de différents agents coagulants autochtones.

En vue d'apprécier la qualité organoleptique de ce produit de terroir algérien, on vous propose quatre échantillons fabriqués au laboratoire.

Cette évaluation sensorielle de ce fromage traditionnel frais a été établie dans le but, de définir la qualité de ce produit traditionnel (L'évaluation sensorielle est un critère primordial pour juger la qualité).

- Comptant sur votre précieuse évaluation. Veuillez agréer nos salutations distinguées.

## FICHE DE TEST HEDONIQUE

Echantillons	Description de l'apparence extérieure : (croûte)			Description de la pâte à la coupe : (texture)		
	Surface	Forme	Couleur	Couleur	Elasticité	Homogénéité
JPA						
JPB						
JPC						
JPD						
JPE						

- **Surface** : Lisse – Rugueuse – Granuleuse.
- **Forme** : Régulier– Pâteux – Coulant - Irrégulier.
- **Couleur** : Blanc -Blanc crème – Crème - Jaune pâle.
- **Elasticité** : Ferme - Sableux - Cassant - Friable.
- **Homogénéité** : Homogène - Ouvertures - Crevasse.

Echantillons	Description de l'odeur		Description de l'arôme	
	Lactique	Végétal	Lactique	Végétal
JPA				
JPB				
JPC				
JPD				
JPE				

**Description de l'odeur :** par le nez sans mettre le produit dans la bouche.

**Description de l'arôme :** en cours de mastication.

- **Lactique :** Lait frais – Beurre - Petit lait - Yaourt.
- **Végétal :** Herbe – Foin- Fourrage.

Echantillons	Description de la saveur	Descriptions des sensations	Description finale en bouche
JPA			
JPB			
JPC			
JPD			
JPE			

- **Description de la saveur** : Sucrée – Acide – Salée – Amère- fade.
- **Descriptions des sensations** : Douceur - Piquant - Acre – Brûlant- fade.
- **Description finale en bouche** : Agréable - Intense en goût - Persistante - Plutôt courte.

#### FICHE DE TEST DE CLASSEMENT

- Veuillez classer les cinq échantillons par ordre de préférence.

Code

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Classement

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Merci de votre participation**



## Annexe XVI : Analyse par HPLC

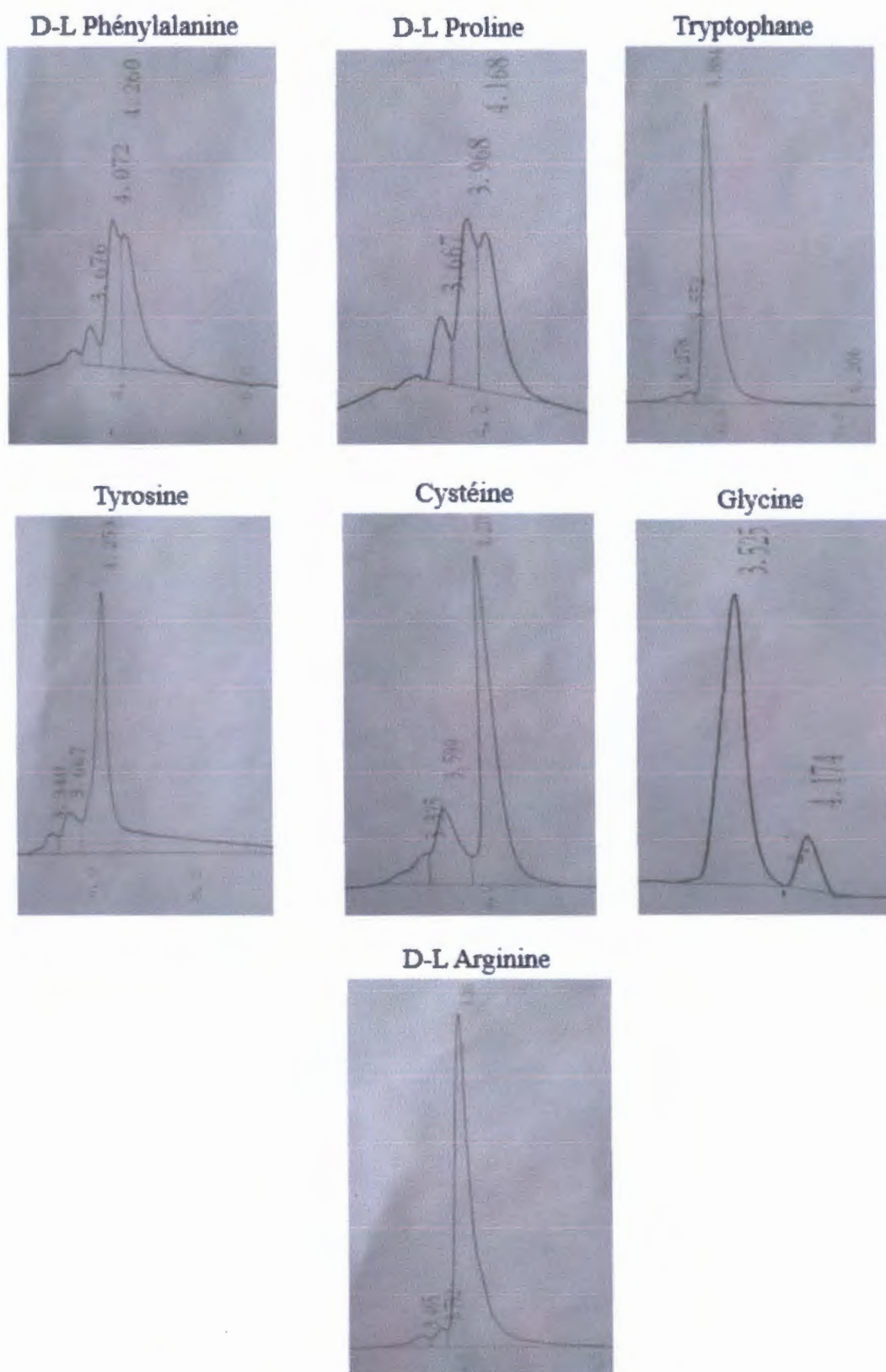


Figure 06 : Chromatogramme des acides aminés étalons.

**Tableau 07 : Temps de rétention des acides aminés étalons testés par l'HPLC.**

Acide aminé étalons	Temps de rétention (Tr) min
D-L Phénylalanine	4.260
D-L proline	3.968
Tryptophane	3.278
Tyrosine	4.253
Cystéine	4.221
Glycine	3.525
D-L Arginine	4.084

**Annexe XVII : Les agents de coagulation****Figure 07 : fleur de chardon séché****Figure 08 : caillette séché et broyé****Figure 09 : gésier séché et broyé**

## Annexe XVIII : Optimisation de la production du fromage par Box Behnken

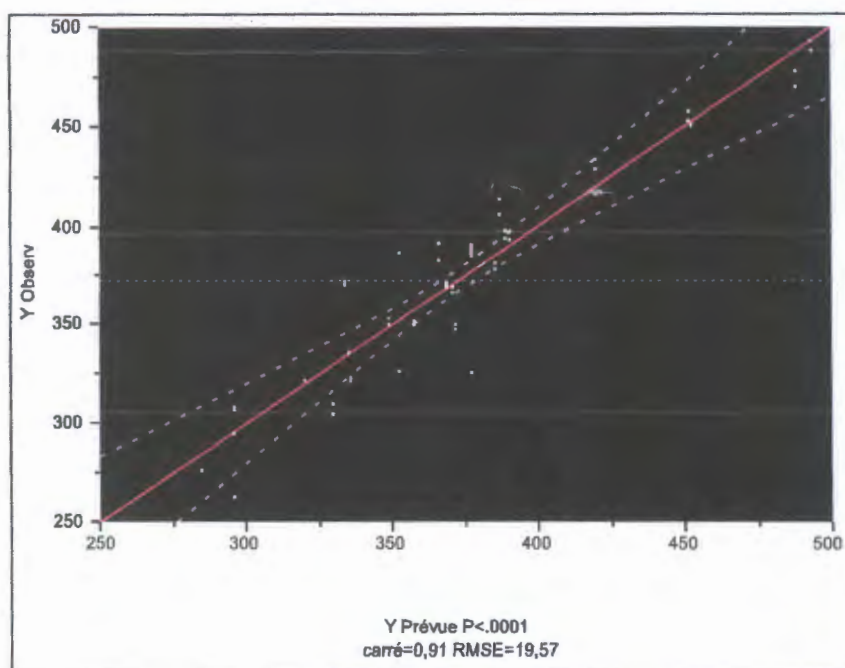


Figure 10 : La réponse trouvée par rapport à celle prévue.

<b>Présenté par:</b> ACHAB Aziza ACHAB Chahinez	<b>Encadreur :</b> D' Idoui. T
	<b>Date de soutenance :</b> /06/2016

**Essai d'optimisation des conditions de fabrication d'un fromage traditionnel, le Jben.**

**Nature du diplôme : Master en Biologie : Option Contrôle de Qualité des produits alimentaire**

#### **Résumé**

Dans le but d'optimiser les conditions de fabrication du fromage traditionnel algérien *Jben*, une étude a été réalisée où l'effet des différents facteurs qui peuvent influencer la fabrication de ce fromage a été étudié en utilisant la méthode des plans d'expériences.

Un plan de criblage de Blackett et Burman a été utilisé afin de sélectionner les facteurs qui influent significativement la fabrication du fromage traditionnel *Jben*. Les résultats du criblage ont fait apparaître quatre facteurs importants. Ces facteurs ainsi sélectionnés ont été utilisés dans une étude par les plans pour surfaces de réponses (RSM), en utilisant le model Box et Behnken ce qui nous a permis de déterminer les conditions optimales de fabrication de ce fromage traditionnel algérien.

**Mots clés :** optimisation, fabrication, *Jben*, plans d'expériences.

#### **Abstract**

In order to improve the manufacture's conditions of the traditional Algerian cheese *Jben*, a study was carried out and the effect of some factors that can influence the manufacture of this cheese was studied by using the experimental designs method.

The screening plan of Plackett and Burman was used to select the factors with a significant influence on the manufacture of the traditional cheese *Jben*. The results of the screening revealed four most influential factors. These factors thus selected were studied by the plans of Response Surface Methodology (RSM), for determination of the optimal conditions for manufacture of this algerian traditional cheese.

**Key words:** optimization, manufacture, *Jben*, experimental design.

#### **ملخص**

من أجل تحسين ظروف تصنيع الجبن التقليدي الجزائري *Jben* ، أجريت دراسة حول بعض العوامل المختلفة التي يمكن أن تؤثر على هذا الجبن باستخدام طريقة مخططات التجارب.

لقد قمنا باستعمال : تصميم Blackett et Burman أولا لتحديد العوامل التي تؤثر بصف كبيرة على تصنيع الجبن التقليدي *Jben* . أظهرت نتائج التصميم أربعة عوامل مهمة. وقد تم اختيار هذه العوامل ودراستها باستخدام نموذج Box et Behnken الذي سمح لنا بتحديد الظروف المثلى لتصنيع هذا الجبن التقليدي الجزائري.

**الكلمات المفتاحية :** تحسين، صناعة ، *Jben*، مخططات التجارب.

