

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 Seddik 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 : 2356.....

## Mémoire de fin d'études

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

Option : Contrôle de qualité des produits alimentaires

Thème

**Contribution à la caractérisation d'un fromage affiné de chèvre  
« Saint amour »**

### Membres de Jury

Président : M<sup>me</sup>. AKKOUCHE  
Examinateur : M<sup>me</sup> OULED HADDAR  
Encadreur : Mr. RAHMOUNE

### Présenté par :

BOUHOUCHE Ahmed  
DELLOUCHE Mohammed

Année universitaire 2015-2016

Numéro d'ordre :

## Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le tout Puissant et le Miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master.

C'est avec un grand honneur que nous remercions notre enseignant et promoteur, M<sup>r</sup> RAHMOUNE. Y. pour nous avoir proposé ce sujet et pour nous avoir dirigé pour la réalisation de ce travail, pour ces précieux conseils et ces encouragements.

Nous tenons à remercier M<sup>me</sup> AKKOUCHE d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Nous remercions également M<sup>me</sup> OULED HADDAR de nous avoir fait l'honneur de faire partie des membres du jury et d'examiner ce travail. Nous tenons à vous remercier.

Nous remercions le personnel du laboratoire de contrôle de qualité de Jijel

Et particulièrement MOKHTAR, ZINO, ASMA et NASSIHA, pour leur sympathie et leur aide scientifique.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à nos familles pour leur soutien sans faille et pour l'équilibre qu'elles nous ont apporté et pour leurs encouragements.

Enfin, nous voulons remercier toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à l'avancement de ce travail, nos enseignants et collègues à l'université de Jijel.

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*À ma chère mère ;*

*À la mémoire de mon père qui nous a quitté il y a 14 ans ;*

*À mon frère HASSAN ;*

*À mes quatre sœurs SOUHILA, YASMINA, WAFI et NEDJWA ;*

*À mes deux stars filantes MERIEM et MALAK ;*

*À mes deux petits héros ADAM et ABDERRAOUF ;*

*À tous mes chers amis et mes collègues de l'université de Jijel ;*

*Et à tous ceux qui m'ont enseigné tout au long de ma vie scolaire ;*

**AHMED**



# *Dédicace*

*Ce n'est qu'à l'aide d'Allah tout puissant, que je suis arrivé au terme de ce travail, que je tiens à dédier à toutes les personnes qui me sont très chères, particulièrement:*

*Mes très chers parents, source de tendresse, de noblesse et d'affection.*

*Mes frères et mes sœurs, en témoignage de la fraternité, auxquels j'adresse mes souhaits de bonheur, de santé et de succès.*

*Tous les membres de ma famille maternelle et paternelle.*

*Tous mes amis et mes professeurs.*

*Et à tous ceux qui me connaissent de près ou de loin*

*-Mohammed-*



## Liste des Abréviations

<u>Abréviation</u>	<u>Désignation</u>
AOAC	Association of Official Analytical Chemist
AOC	Appellation Origine Contrôlée
ANC	Azote Non Caséique
AOP	Appellation Origine Protégée
$a_w$	Activité de l'eau
COO	Carboxyl group
FAA	Free Amino Acid
FAO	Food and Agriculture Organization,
g	unité d'accélération gravitationnel
LSD	Least Squares Différence
m	masse
M	Masse Molaire
MG	Matière Grasse
mol	molarité
NPN	Non Prtein Nitrogen
NSLAB	Non Starter Lactic Acid Bacteria
NT	Nitrogen Total
EGPA	Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
pH	Potentiel Hydrogène
p/v	Poids/Volume
RP-HPLC	Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography
rpm	round per minute
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SLAB	Starter Lactic Acid Bacteria
sp	espèce
T°	Température

<b>TCA</b>	<b>Acide Tri Chlor Acétique</b>
<b>TEMED</b>	<b>Tetra Méthyl Ethylène Diamine</b>
<b>UFC</b>	<b>Unité Formant Colonie</b>
<b>UV</b>	<b>Ultra-Violet</b>
<b>V</b>	<b>Volume</b>
<b>V</b>	<b>Volte</b>
<b>v/v</b>	<b>Volume/ Volume</b>
<b>WSN</b>	<b>Water Soluble Nitrogen</b>
<b><math>\alpha</math>S1-CN</b>	<b>Apha S1 Caséine</b>
<b><math>\alpha</math>S2-CN</b>	<b>Alpha S2 Caséine</b>
<b><math>\alpha</math>-LA</b>	<b>Alpha Lactalbumine</b>
<b><math>\beta</math>-LG</b>	<b>Béta Lactoglobuline</b>
<b>B-CN</b>	<b>Béta Caséine</b>
<b><math>\kappa</math>-CN</b>	<b>Kappa Caséine</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Classification des fromages de chèvre prenant en compte à la fois le type de Coagulation et le type de pâte.....	9
<b>Figure 2.</b> Diagramme général de la fabrication traditionnelle du fromage de chèvre affiné ...	10
<b>Figure 3.</b> Catabolisme des acides aminés pendant l'affinage des fromages.....	12
<b>Figure 4.</b> Localisation de la ferme « saint amour » sur Google Maps .....	15
<b>Figure 5.</b> Diagramme de fabrication du fromage fermier « Tomme de chèvre » au niveau de l'unité Saint Amour.....	16
<b>Figure 6.</b> Fromages de chèvre affinés. ....	17
<b>Figure 7.</b> Séchage des échantillons de fromage .....	18
<b>Figure 8.</b> Incinération des fromages de chèvre .....	19
<b>Figure 9.</b> Dispositif de Gerber.....	20
<b>Figure 10.</b> Dispositif de Kjeldahl .....	21
<b>Figure 11.</b> Mesure des acides aminés libres.....	23
<b>Figure 12.</b> Courbe d'étalonnage de la solution L-leucine traitée avec la solution de Cd-ninhydrine .....	24
<b>Figure 13.</b> Dispositif d'électrophorèse .....	25
<b>Figure 14.</b> Dispositif de l'HPLC .....	26
<b>Figure 15.</b> Chromatogramme des étalons utilisés .....	26
<b>Figure 16.</b> Variation du pH et de l'acidité des fromages durant l'affinage.....	28
<b>Figure 17.</b> Teneur en cendres et en matière sèche des fromages au cours de l'affinage .....	30
<b>Figure 18.</b> Teneur en matière grasse des fromages au cours de l'affinage .....	31
<b>Figure 19.</b> Variations des valeurs moyennes de la teneur en protéines totales dans les fromages.....	32
<b>Figure 20.</b> Valeurs moyennes de différentes fractions azotées au cours de l'affinage .....	34
<b>Figure 21.</b> Concentrations en acides aminés libres des fromages au cours de l'affinage .....	35
<b>Figure 22.</b> EGPA-Urée des protéines insolubles à pH 4,6 du fromage de chèvre affiné.....	36
<b>Figure 23.</b> Chromatogrammes de l'RP-HPLC des fromages au cours de l'affinage .....	37

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I.</b> Principaux enzymes du lait de chèvre et leurs caractéristiques.....	5
<b>Tableau II.</b> Dégradation des protéines du lait et du fromage et apparition de leurs produits..	13
<b>Tableau III.</b> Résultats des paramètres physico-chimiques des échantillons du fromage .....	28
<b>Tableau IV.</b> Valeurs moyennes des fractions azotées pour les trois échantillons du fromage.	33

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**INTRODUCTION**..... 1

## I.SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**I.1. Lait et lait de chèvre**.....3

I.1.1. Impact de la composition du lait de chèvre sur la fabrication du fromage.....3

I.1.1.1. Eau ou phase aqueuse .....3

I.1.1.2. Protéines .....3

I.1.1.3. Matières grasses.....4

I.1.1.4. Lactose .....5

I.1.1.5. Enzymes.....5

I.1.1.6. Minéraux.....5

I.1.1.7. Vitamines.....6

I.1.1.8. Micro-organismes du lait.....6

**I.2. Fromage de chèvre** ..... 7

I.2.1. Historique ..... 7

I.2.2. définition..... 7

I.2.3. Importance ..... 7

I.2.4. Classification ..... 8

I.2.5. Technologie traditionnelle ..... 9

I.2.5.1. Diagramme de fabrication ..... 10

I.2.6. Protéolyse ..... 11

I.2.6.1. Etude de la protéolyse..... 14

## II. MATERIELS ET METHODES

**II.1. Présentation de l'entreprise** ..... 15

**II.2. Diagramme de fabrication du fromage de chèvre saint amour** ..... 16

**II.3. Échantillonnage**..... 17

<b>II.4. Analyses physicochimiques</b> .....	17
II.4.1. pH .....	17
II.4.2. Acidité titrable.....	18
II.4.3. Matière sèche.....	18
II.4.4. Cendres.....	19
II.4.5. Matière grasses .....	20
II.4.6. Protéines totales.....	20
<b>II.5. Dosage des fractions azotées</b> .....	21
II.5.1. Azote total .....	21
II.5.2. Azote non protéique (soluble à 12 % de TCA) .....	22
II.5.3. Azote soluble à pH 4,6 .....	22
<b>II.6. Mesure des acides aminés libres (FAA)</b> .....	23
<b>II.7. Analyse de la protéolyse</b> .....	24
II.7.1. Préparation des échantillons.....	24
II.7.2. Electrophorèse.....	24
II.7.3. HPLC.....	25
<b>II.8. Analyse statistique</b> .....	27

### **III.RESULTATS ET DISCUSSIONS**

<b>III.1. Analyse physicochimique</b> .....	28
III.1.1. pH.....	28
III.1.2. Acidité titrable .....	29
III.1.3. Matière sèche .....	30
III.1.4. Cendre .....	30
III.1.5. Matière grasse .....	31
III.1.6. Protéines totales .....	32
<b>III.2. Evolution des fractions azotées</b> .....	33
III.2.1. Azote total .....	33
III.2.2. Azote non protéique .....	33
III.2.3. Azote non caséique .....	34

<b>III.3. Acides aminés libres</b> .....	35
<b>III.4. Caractérisation de la protéolyse</b> .....	36
III.4.1. EGPA- Urée .....	36
III.4.2. Détection des acides aminés .....	37

<b>CONCLUSION</b> .....	38
-------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes



# ***Introduction***

## **Introduction**

L'Algérie est un des grands pays consommateurs de lait et dérivés dû aux traditions alimentaires, à la valeur nutritive du lait, à sa substitution aux viandes relativement chères ainsi sa subvention par l'Etat (**Kacimi, 2013**).

Bien qu'une grande importance économique est donnée à l'élevage et à la consommation de lait et fromages de chèvre, sur tout dans les pays en voie de développement, sa production en Algérie reste marginalisée, elle est développée à l'échelle familiale dans les régions montagneuses de Kabylie, des hauts plateaux et les oasis dans le Sahara.

Consommé en état ou fermenté, le lait de chèvre n'est pas toujours apprécié par les consommateurs et sa transformation en fromages le rend plus digeste et très apprécié tant du point de vue organoleptique, nutritionnel que sanitaire.

Les fromages traditionnels algériens sont peu nombreux, peu connus et uniquement quelques fromages sont étudiés comme *Bouhezza*. Ainsi, **Aissaoui Zitoun et al., (2011)**, ont recensé ces fromages et stipulent qu'environ dix types sont connus dans différentes régions du pays à savoir *Bouhezza*, *Mechouna* et *Madeghissa* dans la région des *Chaouia* (Nord-est), *Takammèrite* et *Aoules* au sud, *Igounanes* en Kabylie et *Klila* et *Djben* dans plusieurs régions (**Derouiche et Zidoune, 2015**).

La plus part des fromages cités par **Aissaoui Zitoun et al., (2011)** sont fabriqués à partir de lait de vache et destinés à la consommation ménagère et sont à pâte fraîche sauf *Bouhezza* qui semble être le seul fromage affiné. Il se trouve qu'un autre fromage traditionnel fabriqué en Kabylie à partir de lait de vache et de chèvre, non cité dans la littérature existait et il est fabriqué par la ferme « saint amour ».

Plusieurs brevets protégés par des appellations d'origine contrôlée/protégée (AOC / AOP) sont apparues dans le Monde, selon les spécificités géologiques, botaniques, animales, gustatives. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre mémoire, étudier et préserver un bien culturel et culinaire d'un terroir algérien.

L'objectif de ce présent travail consiste à étudier un type des fromages affinés fabriqués dans l'unité « saint amour » qui est, la tomme de chèvre, vu qu'elle est la plus appréciée et la plus commercialisée des fromages fabriqués dans cette ferme et cela en déterminant ces

caractéristiques physico-chimiques, les fractions azotées ainsi qu'une caractérisation partielle de la protéolyse durant l'affinage.

Le manuscrit présenté comporte trois parties, une partie bibliographique sur le lait et fromage de chèvre affiné, l'impact de la protéolyse sur le produit fini et un aperçu sur les techniques de caractérisation de la protéolyse. La deuxième partie décrit la ferme « saint amour », la méthodologie adoptée et les techniques d'analyse et en fin la troisième partie comportant les résultats trouvés.



***Synthèse  
bibliographique***

## **I Lait de chèvre**

Le lait a été défini en 1909 au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Paris comme étant : «Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum ». Il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$  carotène, de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité. Comme le lait de vache, le lait de chèvre est une suspension colloïdale de couleur blanche composée majoritairement d'eau, de lipides, de protéines, de lactose et de minéraux (Vignola, 2002).

Selon (Zeller, 2005) l'unique débouché de ce lait est sa transformation en fromage car de par son goût âcre, il n'est pas toujours apprécié par les consommateurs, à l'inverse, sa transformation en fromages le rend plus digeste et très apprécié tant du point de vue organoleptique, nutritionnel que sanitaire.

### **I.1. Impact de la composition du lait de chèvre sur la fabrication du fromage**

#### **I.1.1. Eau ou phase aqueuse**

La phase aqueuse a une incidence sur la fermeté du fromage, donc sur la texture, la croissance des microorganismes, la vitesse de fermentation et d'affinage, la période de conservation et le rendement fromager. Plus la teneur du lait en eau est grande, plus rapide sera l'hydrolyse des caséines, de la matière grasse et du lactose par les enzymes microbiens et donc un effet direct sur la flaveur d'un fromage.

#### **I.1.2. Protéines**

Les protéines majeures du lait de chèvre ( $\alpha$ S1-CN,  $\alpha$ S2-CN,  $\beta$ -CN,  $\kappa$ -CN,  $\beta$ -LG et la  $\alpha$ -LA), sont de même nature que celles du lait de vache, mais avec des concentrations différentes (Ballabio *et al.*, 2011).

Les caséines sont composées de plusieurs fractions associée au phosphate de calcium sous forme d'agrégats hétérogènes, appelés micelles. Ces dernières sont déstabilisées par voie acide ou par voie enzymatique pour permettre la coagulation du lait (Ramet, 1985).

Le lait de chèvre est pauvre en caséine  $\alpha$ s1 et riche en caséine  $\beta$  cela est dû à l'existence d'une forte variabilité individuelle de la teneur en caséine  $\alpha$ s1 liée au polymorphisme génétique de la chèvre (Remeuf *et al.*, 1989).

Selon **Remeuf et al., (1989)**, les chèvres ayant un variant dit «nul», produisent un lait totalement dépourvu de caséine  $\alpha_1$  alors que celles possédant les variants «forts» (A, B, C) produisent un lait contenant 20 à 25% de caséine totale.

Le taux protéique dans le lait de chèvre est un facteur important pour la production du fromage, car il reflète la concentration en caséine qui intervient dans la coagulation du lait, et la formation d'un caillé (**Zeller, 2005**) et retient plus ou moins la matière grasse, les minéraux, l'eau et les éléments solubles dans la masse fromagère, ce qui a une incidence directe sur le rendement.

### **I.2.3. Matières grasses**

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de petits globules suspendus dans l'eau. Chaque globule est entouré par une couche de phospholipides qui empêche les globules de se regrouper. Les globules gras du lait de chèvre sont petits et sont composés d'acides gras à courte et moyenne chaîne, ce qui rend ce lait plus digeste (**Desjeu, 1993 ; Ohiokphai, 2003 ; Arora et al., 2013 ;**).

La matière grasse contribue au rendement, à la fermeté, à la couleur, au développement de l'arôme et de la saveur lors de l'affinage des fromages (**Ribeiro et Ribeiro, 2010**). Elle participe au développement de la saveur et de l'arôme du fromage en cours d'affinage car sa dégradation (lipolyse) par hydrolyse enzymatique ou par oxydation libre des acides gras ayant un impact direct sur la qualité organoleptique (**Raynal-Ljutovac et al., 2011**), comme elle sert aussi de véhicule de transport aux composés aromatiques liposolubles et des vitamines A, D, E et K.

### **I.1.4. Lactose**

Son principal rôle dans la fabrication des fromages à caillage lactique est de servir de substrat aux bactéries lactiques et diminuer le pH du lait. L'acidité ainsi obtenue est responsable de la déminéralisation des micelles, la formation du caillé (**St-Gelais et al., 2000**), l'inhibition de croissance de certains microorganismes indésirables et l'augmentation de la synérèse du caillé (**St-Gelais et al., 2002**).

### **I.1.5. Enzymes**

Selon **Vignola, (2002)** le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases et les deux facteurs principaux qui influent leur activité enzymatique sont le pH et la température (Tableau I).

Tableau I : Principaux enzymes du lait de chèvre et leurs caractéristiques (Vignola, 2002).

Groupes d'enzymes	Classes d'enzymes	pH	Température (°C)	Substrats
Hydrolases	<i>Estérases</i>			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides Esters phosphoriques
	Phosphatase alcalin	9-10	37	
	Phosphatase acide	4-5.2	37	
<i>Protéases</i>				
	Lysozyme	7.5	37	Parois Microbiennes Caséines
	Plasmine	8	37	
Oxydases	Sulfhydryde oxydase	7	37	Protéines et peptides Bases puriques
	Xanthine oxydase	8.3	37	
Oxygénases	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Catalases	7	20	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

Source : Vignola (2002).

#### I.1.6. Minéraux

On retrouve dans le lait de chèvre de nombreux minéraux comme le sodium, le potassium, le magnésium et le calcium, des chlorures, des sulfates et des phosphates. Le phosphore, sous forme de phosphates, et le calcium influencent directement la fabrication du fromage. En effet, ils sont présents en équilibre dans le lait sous deux formes libres et liés aux caséines dans la phase micellaire. Cependant ces deux formes peuvent être modifiées par des changements physico-chimiques du milieu : variations de la température du lait, du pH et l'ajout de Ca et/ou de P, ce qui influence le pouvoir tampon du lait (Zeller, 2005). Ainsi un lait faiblement tamponné coagulera plus rapidement qu'un lait fortement tamponné, et pour le même temps de coagulation il faudra moins d'agents coagulants au premier qu'au deuxième (De Buzon, 2007 ; Croguennec et al., 2008).

#### I.1.7. Vitamines

Le lait de chèvre est riche en riboflavine (vitamine B2) mais pauvre en vitamine C, D, pyridoxine, B12 et l'acide folique. Le manque de ces deux dernières vitamines dans l'alimentation des nourrissons peut entraîner des anomalies structurales et fonctionnelles de l'épithélium de l'intestin grêle et l'anémie (Desjeux, 1993).

Par ailleurs, dans la technologie laitière et la fabrication fromagère, ces vitamines influencent le développement des bactéries lactiques qui assurent la salubrité et les qualités gustatives et organoleptiques des fromages en jouant le rôle de facteurs de croissance (Garrigues, 2004).

### **I.1.8. Micro-organismes**

Le lait contient trois catégories de microorganismes : bactéries ; levures et moisissures. Ils ont un rôle très important en fromagerie notamment pour les fabrications du lait cru (Garrigues, 2004). Certains sont utiles et même nécessaires à la fabrication fromagère, d'autres sont nuisibles voire dangereux.

Lamontagne *et al.*, (2002) repartissent les microorganismes de lait, selon leurs importances, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminante. La première est l'ensemble des microorganismes du lait à la sortie du pis, moins de  $5.10^3$  UFC/ml, et sont principalement des microorganismes mésophiles. La seconde est l'ensemble des microorganismes ajouté au lait, de la récolte à la consommation et peuvent être soit une flore d'altération, comme les coliformes, causant des défauts sensoriels et réduisant la durée de conservation du produit ou bien une flore pathogène comme par exemple : *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*... etc.

## **II. Fromage de chèvre**

### **II.1. Historique :**

L'intérêt majeur de la transformation du lait en fromage était de conserver les principaux constituants du lait. Cependant son origine est incertaine. On s'entend pour dire que le fromage serait originaire du sud-ouest asiatique et daterait d'environ 8000 ans peu après la domestication des animaux (Cholet, 2006).

Pierre (2010), stipule que la diversité fromagère est largement développée au Moyen-âge, et de nombreuses sortes de fromages de chèvre existaient, et servaient d'aliment et de moyen de paiement, troc ?

Au XVe siècle, l'activité paysanne a succédé à l'activité monastique à laquelle nous devons l'invention de nombreuses recettes fromagères, qui sont ensuite devenues des spécialités régionales, ainsi que la mise au point des premières techniques d'affinage (Hebert, 2010).

La découverte de la pasteurisation au XIXe siècle, suivie du développement de l'industrialisation au XXème siècle, ont conduit à l'augmentation considérable de la production des fromages de chèvre et d'être plus compétitifs (Zeng, 2007 ; Solaiman, 2010).

Actuellement, les fromages fermiers de chèvre sont parmi les principaux produits fabriqués auxquels plusieurs études et recherches, disponibles dans la Littérature, sont alloués.

## II.2. Définition

Le fromage peut être obtenu par coagulation complète ou partielle du lait ou produits obtenus à partir du lait, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. Aussi, par l'emploi de techniques de fabrication, entraînant la coagulation du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini (St-Gelais *et al.*, 2002).

## II.3. Importance

La production fromagère à partir du lait de chèvre est une industrie florissante, dynamique, en pleine croissance et constitue une partie importante de l'économie dans de nombreux pays (Sant'Ana *et al.*, 2013 ;Bezerra *et al.*, 2016 ).

L'importance du lait de chèvre et les produits qui en découlent, dans l'alimentation humaine a augmenté considérablement ces dernières années (Gaddour *et al.*, 2013 ; Sosnowski, 2015 ). Cet aliment est constitué d'une importante source en éléments nutritifs essentiels à la santé, par leur apport en protéines, acides aminés, peptides bioactifs, acides gras, minéraux, composés polyphénoliques et vitamines. (Lucas *et al.*, 2008 ; Jeronimo et Malcata, 2016).

Ce produit peut constituer un aliment de substitution pour les personnes souffrant d'intolérance aux produits à base de lait de vache car il contient de faible proportion en caséine  $\alpha$ -1 qui est la source majeure d'intolérance au lait, ajouté à ça sa faible teneur en lactose qui est facilement métabolisée par les ferments (Walther *et al.*, 2008 ; Solaiman, 2010).

Les fromages de chèvre sont généralement appréciés à cause de leurs caractéristiques organoleptiques particulières, conférées par leur composition en acides gras hexanoïque (caproïque), octanoïque (caprylique) et décanoïque (caprique), responsables du goût de chèvre qui les caractérisent. (Gaborit *et al.*, 2001 ; El Galiou *et al.*, 2015).

## II. 4. Classification

Il existe de nombreuses de classification des fromages de chèvre qui diffèrent entre elles selon le critère de classification retenu : type de coagulation, la technique de fabrication, le mode d'affinage, la forme, la consistance des fromages (mous ou durs), l'aspect extérieur, la couleur,

la présence ou non de moisissures, la composition en lait de mélange, la zone géographique... etc. (Pradal, 2012).

Plusieurs classifications peuvent être citées, comme celle basée sur le mode de coagulation, celle basée sur le type de pâte fromagère et celle de Lenoir.

La première permet de distinguer 4 types de fromage : les fromages à coagulation lactique naturelle, les fromages à coagulation mixte de type à dominance lactique, et les fromages à coagulation mixte à dominance présure et les fromages à coagulation de type présure et la seconde permet aussi de distinguer 4 types de fromages : les fromages à pâte fraîche, les fromages à pâte molle, les fromages à pâte molle et persillée et les fromages à pâte pressée non cuite (Pradal, 2012).

La dernière et la plus couramment utilisée, celle de Lenoir est basée essentiellement sur le type de coagulation (lactique ou présure) et le type de pâte (molle ou pressée). Elle est appliquée aux fromages de vache mais adaptée aux fromages de chèvres (figure 1).

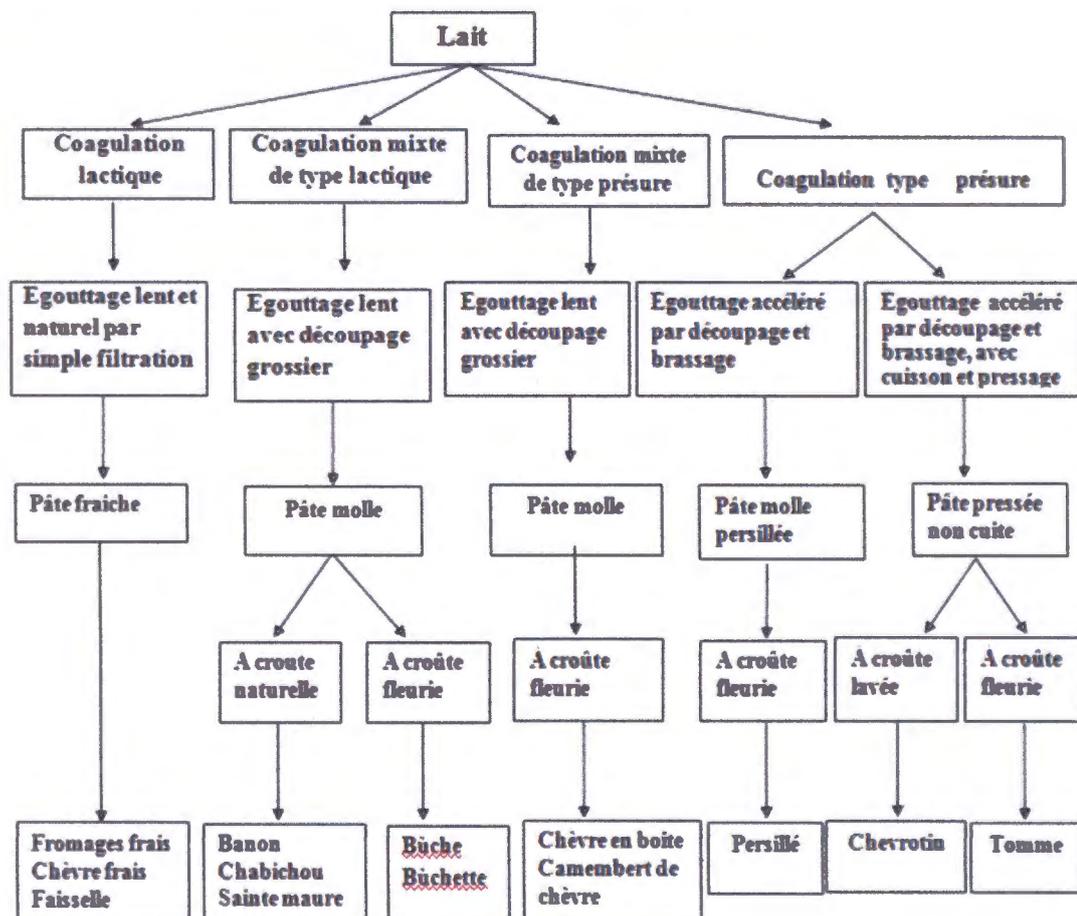


Figure. 01. Classification des fromages de chèvre prenant en compte à la fois le type de coagulation et le type de pâte

Le fromage affiné est un fromage qui ne peut être consommé peu après sa fabrication, mais doit être conservé pendant un temps défini, à la température et dans les conditions particulières qui induiront les transformations biochimiques et physiques spécifiques du type de fromage (FAO, 1995).

## **II.5. Technologie traditionnelle**

Selon Alichanidis et Polychroniadou, (2008) la majorité des fromages traditionnels sont produits dans des entreprises familiales ou dans de petites unités artisanales et représentent un patrimoine culturel résultant des connaissances empiriques accumulées et transmises de génération en génération. Ainsi diverse nomination ont vues le jour (AOC et AOP) dont le but est de protéger le consommateur et les fromages, liés aux territoires de leur origine et aux conditions pédoclimatiques en vigueur.

Dans cette technologie le lait de chèvre utilisé est cru, cela signifie qu'après la collecte aucun traitement thermique ni physique n'est appliqué au lait et sa transformation en fromage comporte, pour la plus grande partie, trois étapes principales ; (i) la coagulation du lait et la formation du coagulum ; (ii) l'égouttage ou déshydratation du gel aboutissant à un caillé; et en fin (iii) l'affinage ou digestion enzymatique du caillé (Ramet, 1995 ; Fonteneau, 1997).

### **II.5.1. Diagramme de fabrication**

La fabrication du fromage comporte un certain nombre de grandes étapes qui sont communes à la plupart des fromages, mais aussi d'autres modes de traitement propres à certaines sortes de fromages (figure 2).

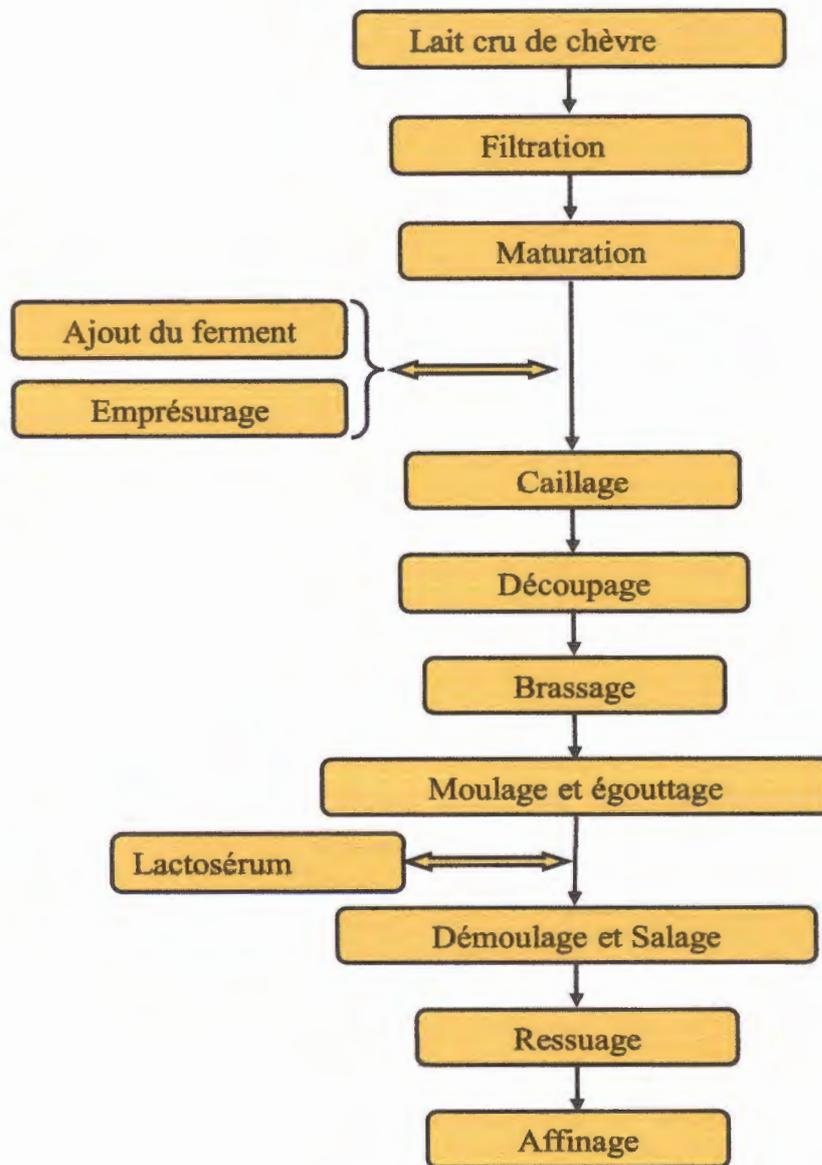


Figure 2 : Diagramme général de fabrication traditionnelle du fromage de chèvre affiné (Fonteneau, 1997).

coagulum plus ou moins ferme selon l'acidité, la température et la dose de présure utilisée et le caillé est coupé par la main (tranchage) dans le but d'augmenter la surface d'exsudation du lactosérum pour favoriser l'égouttage (Pradal, 2012 ; El Galiou, 2015). Ce dernier est effectué dans des moules et sur des claies, dans un endroit frais et sec pour permettre la séparation du lactosérum du coagulum (Ramet, 1993 ; FAO, 1995).

L'étape de salage vient ensuite et consiste à saupoudrer le sel fin alimentaire sur les fromages. Elle s'effectue manuellement sur la face supérieure des fromages, et après retournement l'autre face est salée.

Après salage le ressuyage, consiste à placer les fromages sur des claies dans un courant d'air frais pour sécher les fromages (**Fonteneau, 1997**). Les fromages vont ensuite s'affiner en cave à une température de 12° C et d'une humidité relative de l'ordre de 80 à 90 % avec des retournements réguliers (**Polychroniadou et Manolkidis, 1984**).

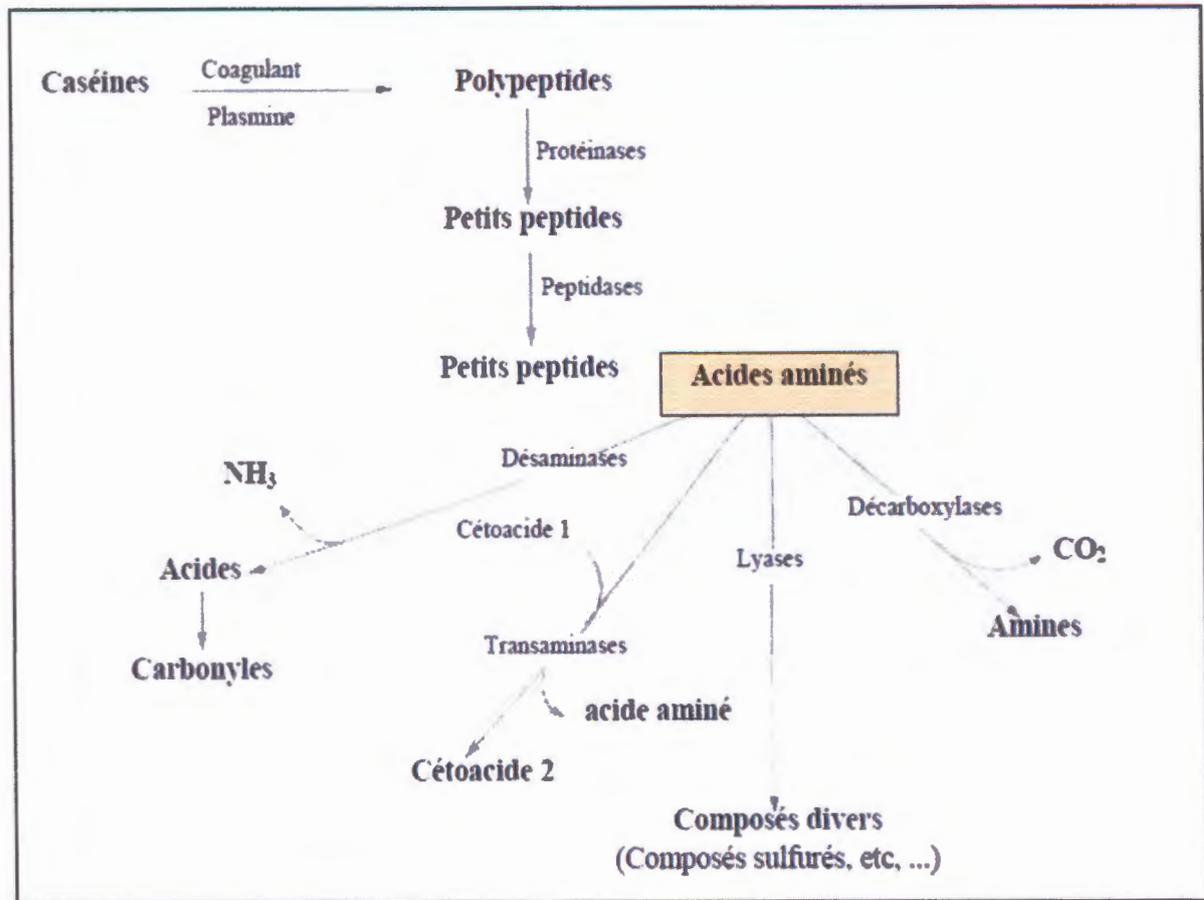
**Fonteneau, (1997)** relate que malgré que la fabrication des fromages de chèvres offre peu de variantes d'un pays à l'autre, il existe de très nombreuses méthodes d'affinage et chaque région, chaque maison possède ses secrets.

Durant l'affinage, il y a plusieurs transformations enzymatiques et microbiologiques qui s'effectuent dans la masse du fromage, notamment la glycolyse, la lipolyse et le catabolisme des acides gras, la protéolyse et le catabolisme des acides aminés (**Trujillo et al., 2002, Marilley et Casey, 2004**).

## **II.6. Protéolyse**

La Protéolyse contribue directement au développement de la texture du fromage par l'hydrolyse des caséines et en réduisant l'activité de l'eau ( $a_w$ ) du fromage par des changements de liaison de l'eau par les groupements  $\text{COO}^-$  et  $\text{NH}_3^+$  libérés lors de l'hydrolyse d'une liaison peptidique (**Fox, 1993 ; McSweeney et Sousa, 2000**).

Le rôle majeur de la protéolyse dans les fromages (figure 3) est la production d'acides aminés qui seront des précurseurs pour une multitude de réactions cataboliques qui aboutissent à une grande variété de composés volatils (alcools, aldéhydes, acides ramifiés, esters, composés soufrés, phénols, ...) responsables de la typicité des fromages (**Weimer, 2007**).



**Figure 3.** Catabolisme des caséines et des acides aminés durant l'affinage des fromages (Fox *et al.*, 2004).

La protéolyse primaire correspond au "découpage" des caséines en gros peptides. Elle est essentiellement provoquée par des enzymes du lait (plasmines), de la présure ajoutée, ou d'autres enzymes succédanés de différentes origines (animale, végétale et microbienne (tableau II).

Ces enzymes sont capables de coaguler le lait et d'assurer de bons rendements fromagers (Alais et Lagrange, 1972 ; Houins *et al.*, 1973 ; Prieto *et al.*, 2004) comme la pepsine du poulet, les protéases végétales et les enzymes protéolytiques d'origine microbiennes (Serhan, 2008).

La protéolyse secondaire correspond à l'hydrolyse des gros peptides par l'action enzymatique des microorganismes dit starter « SLAB » et non starter « NSLAB » qui ont des systèmes protéinase / peptidases généralement similaires (Weimer, 2007).

**Tableau II : Dégradation des protéines du lait et du fromage et apparition de leurs produits (Serhan, 2008).**

Enzymes	Source	Substrat	Produits
Chymosine	Présure	Caséines ; $\beta$ , $\alpha S_1$	Polypeptides
Pepsine	Présure	Caséines ; $\beta$ , $\alpha S_1$	Peptides
Plasmine	Lait	Caséines ; $\beta$ , $\alpha S_2$	Protéose peptone Polypeptides Caséine $\gamma$
Protéases extracellulaires	Bactéries lactiques	Polypeptides	Polypeptides
Protéases intracellulaires		Peptides	Peptides
Peptidases Amino-peptidases Di-peptidases Carboxypeptidases	Bactéries lactiques	peptides	Acides aminés
Décarboxylases	Microcoques Entérocoques	Acides aminés	Amines
Désaminases	<i>Brevibacterium</i> lactobacilles <i>Geotrichum candidum</i>	Acides aminés	Aldéhydes Ammoniac Acides organiques
Lyases	<i>Brevibacterium</i> <i>Pseudomonas</i>	Acides aminés	Phénol indol Composés soufrés

Les SLAB sont les microorganismes ajoutés aux fromages pour assurer l'acidification, l'amélioration de la texture, le développement de la saveur et l'accélération de l'affinage et les NSLAB, correspondent aux micro-organismes résistants à la pasteurisation ou ceux qui envahissent le lait pasteurisé, le caille et le fromage au cours de la production (Redriguez et al., 1996 ; Fox et McSweeney, 1996; Walstra et al., 2006 ; Sgarbi, 2012 ),

Les NSLAB sont généralement du genre *Lactobacillus* et sont connus pour leur activité protéolytique ils peuvent exercer des effets positifs, neutres ou négatifs sur le développement

d'arôme des fromages (Broadbent et al., 2016) cependant leur contribution à l'affinage des fromages et à la qualité reste une question controversée (Fox, 1993 ; Sgarbi, 2012).

Les SLAB et NSLAB donnent de plus courts peptides et des acides aminés (Alichanidis et Polychroniadou, 2008) et d'autres produits important dans la fabrication fromagère (figure 1). Ainsi la désamination des acides aminés conduit à la production du  $\text{NH}_3$  et des céto-acides et leurs décarboxylations produit du  $\text{CO}_2$  et des amines. Aussi la dégradation de leurs chaînes latérales conduit à des phénols, de l'indole, du méthane thiol et d'autres composés soufrés, et les aldéhydes sont produits lors de la réduction des acides et des céto-acides, des alcools par réduction ou par oxydation (Fox et al., 2004).

De temps à autres ces microorganismes produisent des peptides sapides, amers, sucrés et acides et cela lorsque les conditions de fabrication sont spécifiques ou bien ne sont pas respectées (Curtin et McSweeney, 2004).

### II.6.1. Etude de la protéolyse

La dégradation des protéines est parmi les changements biochimiques les plus importants durant l'affinage des fromages. Par conséquent il est dans le grand intérêt de connaître sa composition et les modifications qu'il subit pendant la fabrication et l'affinage (Fox et McSweeney, 1996).

Les méthodes d'étude de la protéolyse peuvent être classées en deux grandes classes: les techniques non spécifiques, incluent la quantification de l'azote dans les divers extraits, et les techniques spécifiques principalement la chromatographie et l'électrophorèse (McSweeney et Fox, 1997).

Les techniques non spécifiques permettent la mesure de l'azote total (NT), l'azote soluble à pH 4,6 (WSN à pH 4,6), l'azote non protéique (NPN) (Vassal et gripon 1984) et les acides aminés libres (Shakeel-Ur-Rehmane et al., 1998 ; Gobbetti et al., 1999). Cependant les techniques spécifiques incluant l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (urea et SDS-PAGE) ont été largement utilisées pour étudier la protéolyse primaire des caséines et les gros peptides libérés et les techniques chromatographiques vu leur rapidité, leur simplicité et leur efficacité sont utilisées pour la caractérisation des polypeptides et les acides aminés libérés lors de la protéolyse secondaire (Nollet, 2010).



***Matériel et  
méthodes***

## II. matériels et méthodes

L'intégralité de ce travail a été réalisée au Laboratoire de Biomathématique, Biophysique, Biochimie et Scientométrie (3BS) de Bejaia ainsi qu'au niveau du laboratoire de contrôle de qualité de la Faculté des Sciences de l'Université de Jijel.

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

- Caractérisation physicochimique des fromages au cours de l'affinage (pH, acidité titrable, matière grasse, matière sèche, humidité, taux de la cendre).
- Contribution à l'étude de différentes fractions azotées de manière quantitative.
- La Caractérisation de l'affinage par l'utilisation de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide-urée et la chromatographie liquide haute performance en phase inverse.

### II.1. Présentation de l'entreprise

C'est une entreprise familiale, dirigée par le couple propriétaire, localisée dans la commune Ouacif, wilaya de Tizi-Ouzou (figure 4). C'est une fromagerie artisanale, de transformation et de production de plusieurs produits laitiers (fromages, yaourt, l'ben et le beurre), et autres produits comme les différentes confitures (orange, figue sèche, lait, figuier de barbarie...).

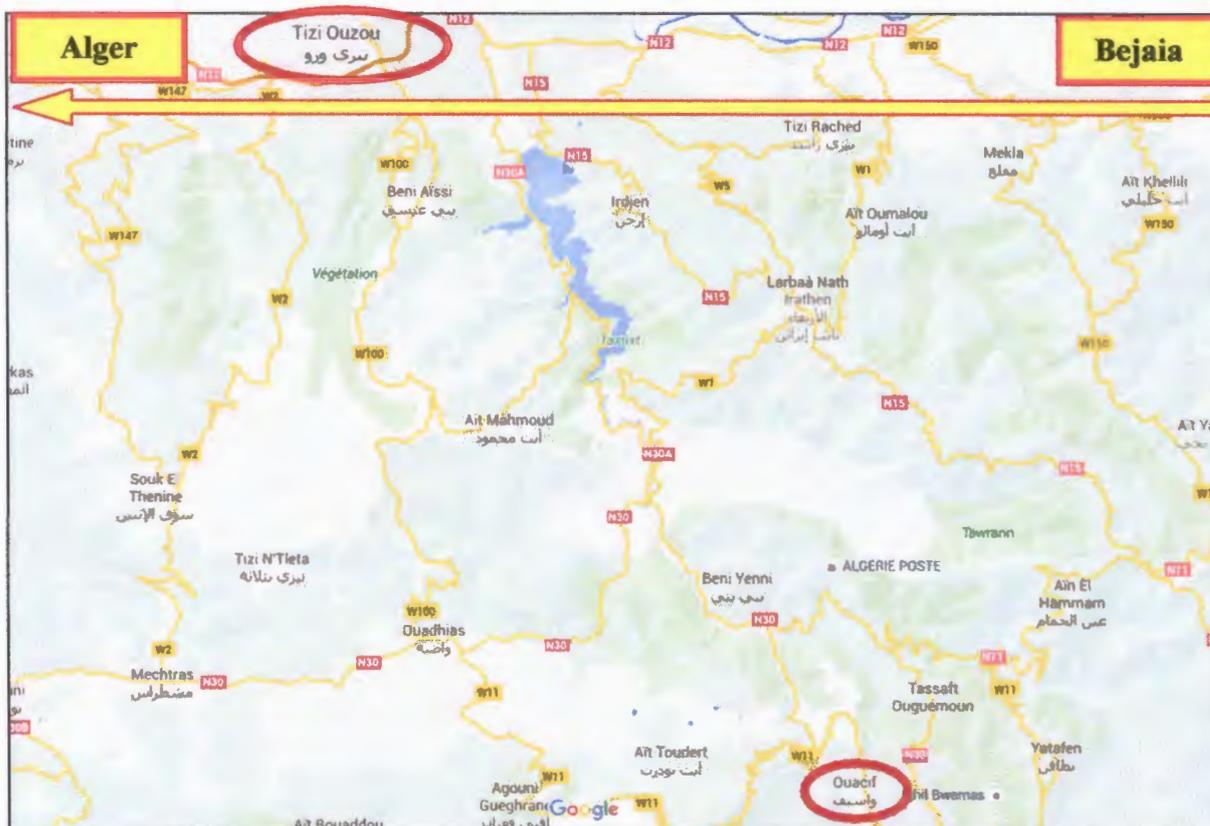


Figure 4 : Localisation de la ferme « saint amour » sur Google Maps

L'activité de cette unité commence par l'élevage du cheptel caprin (40 têtes), composé de plusieurs races à savoir Saanen (Suisse), Alpine (les montagnes d'Alpe entre la France et l'Italie), Croisés avec les races autochtones Algériennes), exercé dans la région (Ouacif) et finie par la commercialisation des produits.

Il n'y a pas de distributeur spécifique pour la commercialisation de ces produits, ainsi c'est le propriétaire lui-même qui en assure la distribution d'autant plus qu'il dispose de moyens de transport appropriés à ces produits.

## II.2. Diagramme de fabrication du fromage de chèvre « saint amour »

Les étapes de la fabrication de la tomme de chèvre Saint amour sont présentées dans la figure 05. A sa réception dans la ferme le lait de chèvre est filtré pour enlever les impuretés, poils, débris de végétaux et autres, puis chauffé à 33°C température à laquelle s'effectue l'emprésurage. Après coagulation et découpage, le coagulum subi une cuisson à 35°C durant 30 minute avec un brassage modéré puis moulé pour éliminer le lactosérum restant. Un salage manuel est effectué avec saupoudrage du sel fin alimentaire et en fin les fromages sont affinés à 16°C durant 1 à 2 mois.



Figure 5 : Diagramme de fabrication du fromage fermier « Tomme de chèvre »

### II.3. Echantillonnage

Les échantillons des fromages de chèvre proviennent de trois lots de productions distinctes (A, B et C), fabriqués à une semaine d'intervalle dans les fermes artisanales « Saint amour » (figure 6).

Trois prélèvements par production ont été effectués après 1, 30 et 60 jours d'affinage, selon les règles de bonne pratique d'échantillonnage et de transport et les analyses sont répétées 03 fois.



Figure 6 : Fromages de chèvre affinés.

Depuis le site de production de la région montagneuse Ouacif, vers le laboratoire d'analyses à l'Université de Jijel, les échantillons de fromage ont été transportés en sacs isothermes, maintenus à approximativement 4 °C. Les échantillons sont ensuite conservés à - 20 °C, au niveau du laboratoire 3BS à l'université Abderrahmane MIRA de Bejaïa puis transportés au laboratoire d'analyse physicochimique de Jijel pour la réalisation des analyses.

### II.4. Analyses physicochimiques

#### II.4.1. pH

Le pH des échantillons a été mesuré selon la méthode d'Ardo, et Polychroniadou, (1999). Ainsi après avoir amené les échantillons râpés à température ambiante environ + 20°C, et leur homogénéisation avec une spatule métallique, l'électrode du pH-mètre (HI 2210 pH Mètre Hanna instruments) est introduit directement dans la masse du fromage et la valeur affichée est notée.

#### II.4.2. Acidité titrable

Le dosage de l'acidité des fromages est effectué selon la méthode (AOAC 920.124). 10 g de fromage sont placés dans un récipient contenant 50 ml de l'eau distillée à 40°C puis centrifugés à 6000 rpm durant 10 min. Après centrifugation le surnageant est placé dans une fiole jaugée et le

volume est complété jusqu'à 105 ml d'eau distillé. 2 gouttes de phénolphaléine ont été ajoutées à 25 ml du surnageant dilué puis titré avec NaOH 0,1N et le volume en millilitre est noté puis l'acidité est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable (\% en acide lactique)} = \frac{V_{\text{NaOH}}(\text{ml}) \times N (\text{mol/l}) \times 90.05 (\text{g/mol})}{m (\text{g})}$$

Où

$m$  (g) : prise d'essais ;

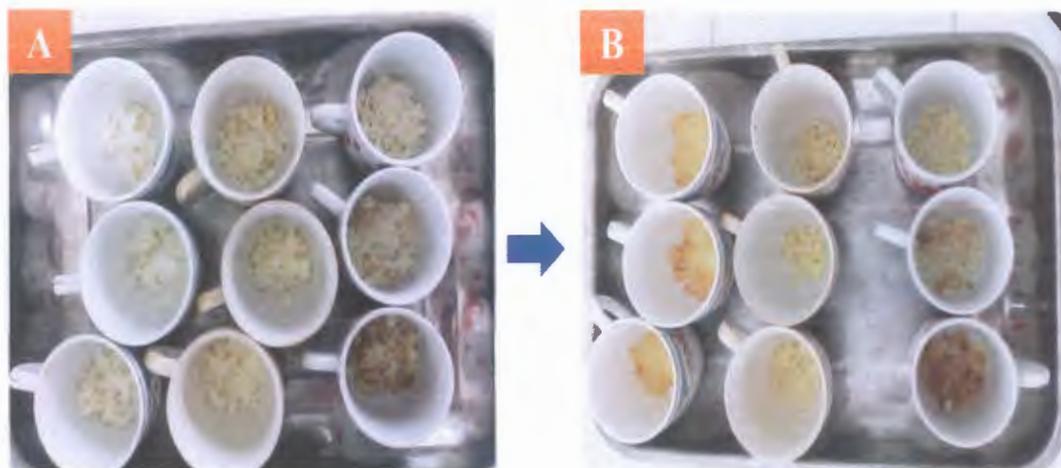
$V_{\text{NaOH}}$  (ml) : Volume en millilitres de solution de NaOH ;

$N$  [mol/l] : Normalité de solution de NaOH ;

90,05 [g/mol] : Masse molaire de l'acide lactique.

#### II.4.3. Matière sèche

La matière sèche est l'un des principaux paramètres de composition utilisé pour la classification des fromages. Elle correspond au poids des résidus restant après dessiccation du produit à  $102 \text{ } ^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  (figure 7) (Belbeldi, 2013).



**Figure 7** : Séchage des échantillons de fromage. (A) : avant séchage ; (B) : après séchage.

3 g du Fromage râpé ( $W_c$ ) sont répartis uniformément à la surface d'un creuset et sont séchés dans un four à  $102 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à stabilisation du poids ( $W_1$ ). Auparavant le plat avec l'échantillon de fromage râpé est pesé dans les mêmes conditions ( $W_2$ ), ainsi la matière sèche et l'humidité sont déterminées en appliquant les formules ci-dessous.

$$\text{Matière sèche (\%)} = (W_2 - W_1) / W_c \times 100$$

$$\text{Humidité (\%)} = 100 - \text{Matière sèche (\%)}$$

#### II.4.4. Cendres

Les cendres totales sont les résidus des minéraux qui restent après l'incinération d'une masse donnée d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

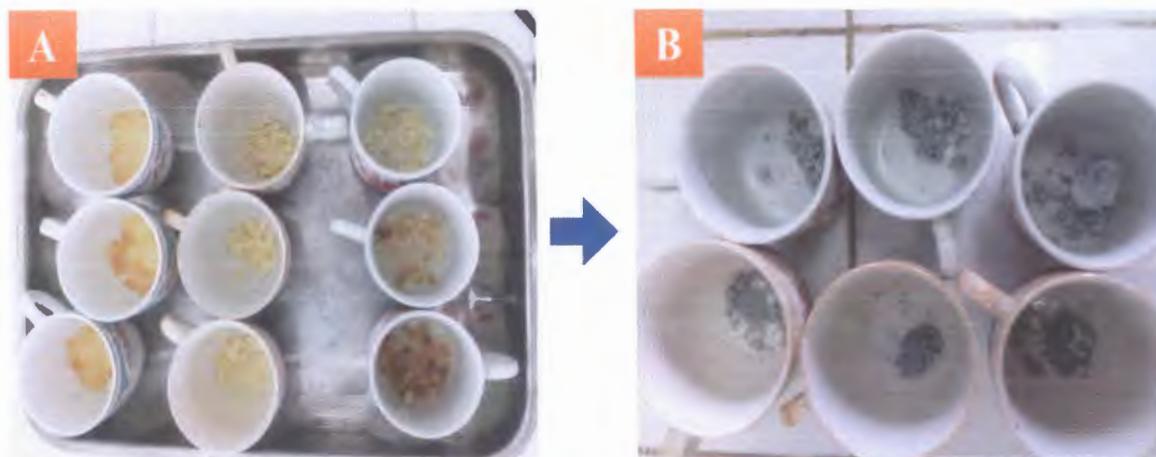
3 g de fromage sont pesés dans un creuset vide, séchés à 100°C, durant 3 h à l'étuve puis déplacés dans un four à moufle où l'incinération est achevée à 550°C durant une heure et trente minutes puis calculés comme suite (figure 8).

$$\% \text{ cendres totales (base sèche)} = m (\text{cendres en mg}) \times 100 / (m_{\text{éch}} \text{ sec})$$

Où :

**m** : masse de cendres ;

**m<sub>éch</sub>** : masse d'échantillon.



**Figure 8** : Incinération des fromages de chèvre. (A) : avant l'incinération. (B) : après incinération.

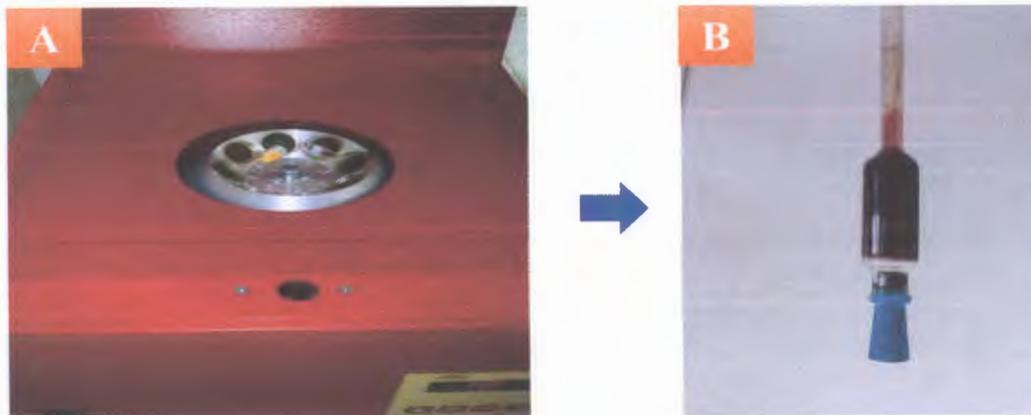
#### II.4.5. Matière grasse

La matière grasse est déterminée par la méthode acido-butyrométrique de VAN GULIK modifiée par Granville et Desmet, (1951).

2 grammes du fromage sont pesés et introduits dans un butyromètre ordinaire contenant 10 millilitres de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Une quantité d'eau pour compléter la prise à 11 grammes, puis 1 millilitre d'alcool iso- amylique sont ajoutés et le butyromètre est bouché puis agité pour bien dissoudre le

fromage. Le butyromètre est placé dans un bain-marie (Memmert) réglé à 65°C, durant 15 minutes en prenant le soin d'agiter de temps à autre. Après 10 minutes de centrifugation le butyromètre est replongé dans le même bain-marie pendant une dizaine de minutes et la lecture est effectuée (figure 9). En fin la teneur en matière grasse est calculée par la formule suivante :

$$\text{MG \%} = \frac{\text{lecture} \times 11}{\text{Prise d'essai (g)}}$$



**Figure 9 :** Dispositif de Gerber. (A) Dispositif de centrifugation ; (B) Butyromètre.

#### II.4.6. Protéines totales

La teneur en protéines totales des fromages, exprimée en g par Kg d'échantillon, est obtenue en multipliant la teneur en azote totale (NT) par un facteur de conversion (K) correspondant au rapport entre la masse des protéines et la masse de l'azote contenu. La valeur actuellement appliquée aux protéines laitières est de 6,38, et a été déterminée à partir de la teneur en azote d'un échantillon de caséine hautement purifié (Jeantet, 2012).

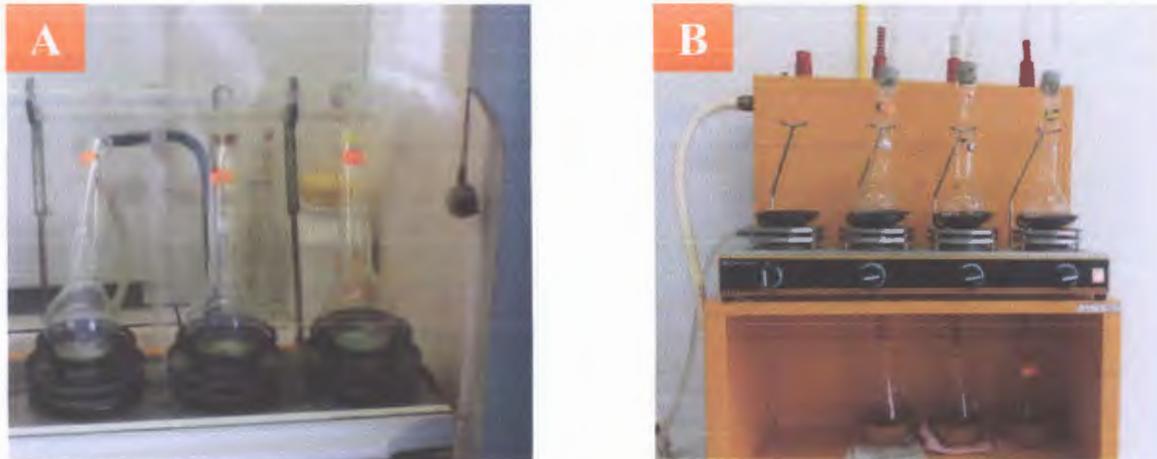
$$\text{Taux de matière azotée total (g/100 g fromage)} = 6,38 \times \text{NT}$$

#### II.5. Dosage des fractions azotées

##### II.5.1. Azote total

Le dosage des fractions azotées à savoir l'azote total, l'azote protéique, l'azote non protéique et l'azote soluble à pH 4,6 est réalisé par la méthode de Kjeldahl sur un dispositif de marque Gerhardt (figure 10).

Les échantillons de fromage de chèvre (0,25g) sont introduits dans des tubes de minéralisation (matras de 250 ml) contenant 20 ml d'acide sulfurique à 96-98% (densité de 1,84 g/ml), 3,5 g de sulfate de potassium et 1ml de solution de sulfate de cuivre à 5% (CuSO<sub>4</sub>) et la minéralisation est faite sur une rampe où la température augmente jusqu'à 420°C et cela durant 3h pour générer le sulfate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



**Figure 10** : Dispositif de Kjeldahl. (A) Dispositif de minéralisation ; (B) Dispositif de distillation.

10 ml du minéralisât est dilué avec 90 ml d'eau distillée, homogénéisé puis alcalinisé avec 30 ml de soude (NaOH) à 35%. Le distillat est récupéré dans un Erlenmeyer de 250 ml. Contenant 20 ml d'acide borique (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) à 4% et 3 à 4 gouttes d'indicateur de tashiro. Ainsi l'ammoniaque piégée par l'acide borique contenu dans l'Erlenmeyer est titrée par un acide chlorhydrique (HCL) à 0,1 N jusqu'au virage de la couleur verte au bleue. La teneur en azote total (NT), exprimé en g par kg de fromage est calculée comme suite :

$$NT = 14,007 \times V \times N / M_e$$

Où :

V : volume d' HCL nécessaire au titrage de l'échantillon en ml ;

N : la normalité de HCL ;

M<sub>e</sub> : masse de l'échantillon du fromage en g ;

#### II.5.2. Azote non protéique (soluble à 12 % de TCA) :

10 g du fromage ont été ajoutés à 90 ml de citrate de sodium (2% p / v) en agitant de temps à autre jusqu'à solubilisation de la matrice fromagère. 10 ± 0,1 ml de la solution fromagère sont prélevés et versés dans un Erlenmeyer de 125 ml et 40 ± 0,5 ml de la solution de TCA à 12% sont ajoutés sous agitation. Après 5min la solution est filtrée sur papier Whatman n ° 1 (15cm) et le filtrat est recueilli.

20 ± 0,2 ml de filtrat sont pesés dans un bêcher de 50 ml puis versés dans le matras de digestion Kjeldahl, ensuite la distillation et la détermination de l'azote non protéique sont effectués en remplaçant la solution de titrage HCl 0.010N par une autre 0,100N en appliquant la formule suivante :

$$\text{Nitrogène, \%} = 14,007 \times (V_e) \times N / M_e$$

Où :

$V_e$  = Volume de HCL (ml) en équivalence;

N = Normalité de la solution HCL;

$M_e$  = Masse en gramme de l'échantillon ;

14,007 = Masse molaire de l'azote.

### II.5.3. Azote soluble à pH 4,6

Cette fraction est déterminée selon la méthode de Bynum et Barbano, (1985). Un échantillon de fromage (0,75g) est solubilisé dans 50mL de solution d'acide acétique (0,25M acétate de sodium, 0,2M NaCl, et 0,025M CaCl<sub>2</sub>) et homogénéisé pendant 30 secondes à faible vitesse. Après homogénéisation, la solution est filtrée sur papier Whatman N°1 dans un tube de minéralisation. Le dosage de l'azote soluble à pH 4,6 est effectué par la méthode de Kjeldahl.

Le contenu en protéines non caséique exprimé en pourcentage de poids (g/100g fromage brut) est obtenu en multipliant la teneur en azote résultante par le facteur 6.38.

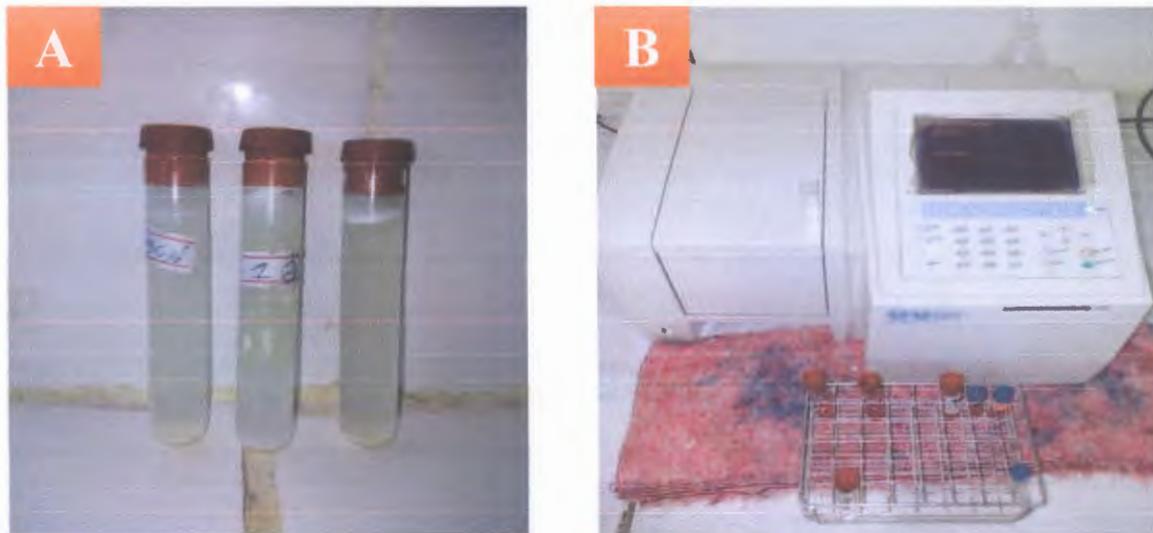
$$\text{Taux de protéines solubles (\%)} = \text{ANC total (\%)} \times 6,38$$

### II.6. Acides aminés libres

La détermination des acides aminés libres de l'extrait soluble à pH 4,6 dans l'eau a été déterminée selon la méthode de Fox et Folkertsma, (1992), rapportée par (Delgado *et al.*, 2011).

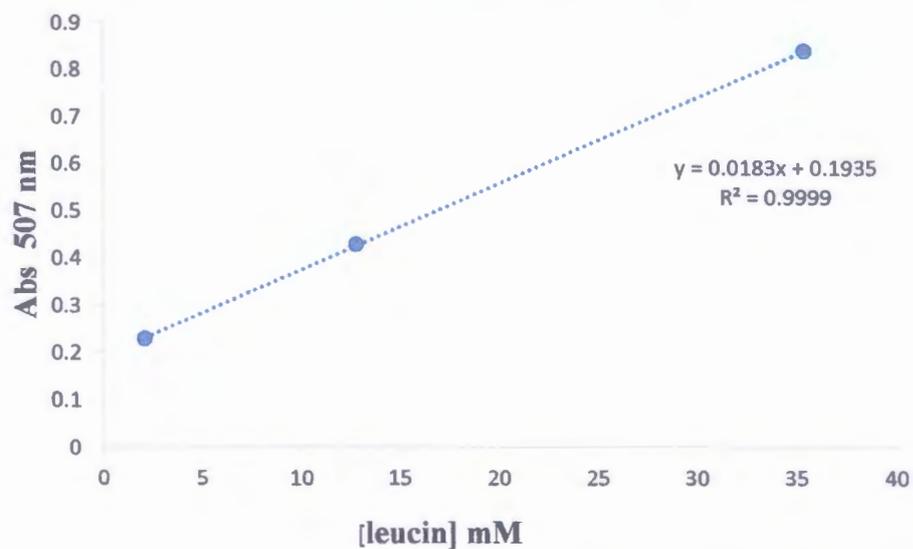
10 g de fromage râpé ont été ajoutés à 90 ml d'eau distillée dans un Stomacher et homogénéisées pendant 3-4 min. Après 1 h à 40 °C, l'homogénat est centrifugé à 3000 g durant 30 min à 4 °C. Après filtration sur Whatman (N° 1), 50 µL de surnageant ont été dilués avec 1 ml d'eau distillée et 2 ml de réactif Cd - ninhydrine a été ajouté (0,8 g de ninhydrine dissous dans un mélange de 80 ml

d'éthanol à 99,5% et 10 ml de l'acide acétique, suivi par l'addition de 1 g de  $\text{CdCl}_2$  dissous dans 1 ml d'eau distillée). Le mélange est chauffé à 84 °C pendant 5 minutes et l'absorbance à 507 nm est déterminée dans un spectrophotomètre (Shimadzu UV- mini 1240) (figure 11).



**Figure 11** : Mesure des acides aminés libres. (A) fraction des soluble dans l'eau (B) Spectrophotométrie.

La concentration en acide aminés est déterminée sur une courbe standard (Figure 12) dressée en mesurant de l'absorbance de 0,015 à 0,06 mg/ml de la solution L-leucine traitée avec la solution de Cd-ninhydrine en appliquant le même protocole de la préparation des échantillons de fromage et les résultats sont exprimés en mg de leucine libérée par g de fromage.



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage de la solution L-leucine traitée avec la solution de Cd-ninhydrine.

## **II.7. Analyse de la protéolyse**

### **II.7.1. Préparation des échantillons**

L'extraction des fractions solubles et insolubles à pH 4,6, est réalisée selon la méthode de **Kuchoro et Fox (1982) modifiée par Hayaglu et al. (2004)**.

20 g de fromage sont homogénéisés avec 40 ml d'eau distillée, durant 5 min puis le pH de la solution est ajusté à 4,6 par l'HCl (1N). La solution ainsi obtenue est chauffée à 40°C durant 1h dans un bain-marie puis centrifugée à 3000 g durant 30min à 4°C pour la séparation de matière grasse des protéines solubles et insolubles.

La matière grasse est éliminée, le culot (les caséines) est analysé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide avec urée (EGPA-Urée) et le surnagent est filtré sur Whatman N1 puis utilisé pour l'analyse des acides aminés par RP-HPLC.

### **II.7.2. Electrophorèse**

L'électrophorèse est réalisée selon la méthode d'ANDREWS (1983), modifiée par Shalabi et Fox (1987) sur deux gels de polyacrylamide ; gel de séparation à 12 % et un gel de concentration à 4% polymérisés avec le N, N, N-N, tétra méthyle éthylène-diamine (TEMED) et le persulfate d'ammonium puis exécuté à un courant eclectique allant de 280 à 300V.

10 mg de la fraction insoluble à pH 4,6 (culot) des échantillons de fromages affinés durant 1, 30 et 60 jours sont dilués dans 1 ml du tampon échantillon puis vortexés durant 1 minute en suite 100µl de chaque échantillon est injecté dans le dispositif électrophorétique (figure 13).



**Figure 13** : Dispositif d'électrophorèse.

Le gel obtenu est mis directement dans la solution de coloration préparée selon la méthode Blakesley et Boezi (1977), avec le bleu de coomassie (G-250) durant 8 heures puis décoloré en utilisant l'eau distillée. Après décoloration avec de l'eau distillée le gel obtenu est scanné puis les bandes de migration sont comparées à celles de la littérature.

### **II.7.3. HPLC**

Le surnageant (fraction soluble à pH 4,6) filtré à travers un papier Whatman N°1 puis dilué à 30% avec du méthanol est analysé par chromatographie en phase inverse à haute performance (RP-HPLC) de type Shimadzu (DGU-20A3 Prominence Degasser) ayant les caractéristiques suivantes : Colonne superpher 100-RP18(18) Lichrocrate 250-3,  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ , Débit 0,3ml/min, détecteur spectrophotomètre UV-visible à 280 nm (figure 14).



**Figure 14** : Dispositif de l'HPLC.

20 $\mu$ l de chaque échantillons ainsi que les solutions de référence des acides aminés recherchés (glycine, phénylalanine, cystéine et arginine) préparées à une concentration de 0,1g/ml du méthanol (pour HPLC) sont injectés puis l'élution est réalisée à l'aide de la solution d'acétate de Na (50mM à pH=7)/méthanol, 35/100 (V/V). La figure (15) présente les chromatogrammes des acides aminés étalons utilisés.

### **II.8. Analyse statistique**

Les données expérimentales sont analysés statistiquement en utilisant le logiciel XLSTAT-3DPlot (2003, Addinsoft) avec un seuil de signification de 0,05. La détermination de différences significatives dans la composition physicochimique et les fractions azotées des fromages au cours d'affinage est faite par l'analyse de la variance (ANOVA) en utilisant le test LSD (*Least Squares Difference*).



***Résultats et  
discussions***

### III. Résultats et Discussion

Les résultats obtenus pour chaque échantillons ont été analysés statistiquement pour avoir les moyennes, les écarts-types, les moyennes obtenues ont été comparées entre elles par l'analyse de variance (ANOVA) en effectuant le test multiple de Fisher pour un seuil de significativité de 5% afin de classer les moyennes.

#### III.1. Analyses physicochimiques

Les valeurs moyennes et les écartypes des paramètres physico-chimiques obtenus (pH, extrait sec total, teneur en matière grasse, teneur en acide lactique) durant l'affinage des fromages sont présentées dans le tableau III.

**Tableau III.** Résultats des paramètres physico-chimiques des échantillons du fromage.

	1 <sup>er</sup> jour	30 <sup>eme</sup> jour	60 <sup>eme</sup> jour
<b>pH</b>	05,36 ± 0,03	05,42 ± 0,02	05,50 ± 0,01
<b>Lactate/ MS</b>	01,43 ± 0,07	01,88 ± 0,30	01,44 ± 0,06
<b>Humidité (%)</b>	40,00 ± 0,03	31,11 ± 0,03	25,55 ± 0,01
<b>Cendre (%)</b>	03,75 ± 0,005	05,82 ± 0,005	06,63 ± 0,00
<b>Matière grasse/MS</b>	37,66 ± 2,09	34,65 ± 0,00	35,48 ± 0,90
<b>Protéines/MS</b>	22,64 ± 6,35	21,44 ± 0,01	21,39 ± 1,90

##### III.1.1. pH

Les valeurs de pH des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jour au cours de l'affinage sont présentées dans la figure 16.

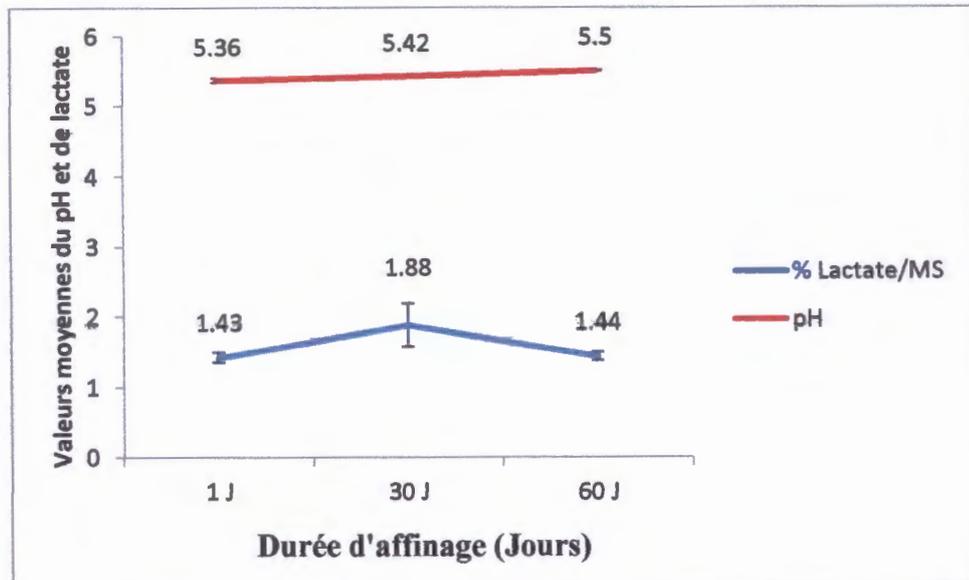


Figure 16. Variations du pH et de l'acidité des fromages durant l'affinage

D'après les résultats du tableau III, les trois échantillons de fromage présentent des valeurs variables de pH, comprises entre 5,36 et 5,5.

La valeur du pH augmente significativement ( $P < 0,001$ ) de 5,36 à 5,42 entre le premier et le trentième jour puis de même ( $P < 0,01$ ) entre le trentième et le soixantième jour pour atteindre un pH de 5,5. Ces résultats sont probablement dus à la libération des acides aminés libres lors de la protéolyse par la flore d'affinage représentée majoritairement par les champignons (Jin et Park, 1995) d'une part, et d'autre part, à une faible activité lipolytique caractérisée par la libération des acides gras (Olarie *et al.*, 2000).

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de Delgado *et al.* (2011), qui ont trouvé que les valeurs de pH diminuaient du premier au trentième et au soixantième jour. Cela s'explique par l'ajout de ferment composé de bactéries lactiques qui ont un fort et progressif pouvoir acidifiant contrairement au fromage saint amour, fabriqué avec sa flore autochtone, autrement dit, sans ajout de ferment.

### III.1.2. Acidité titrable

Les valeurs de l'acidité titrable des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jours au cours de l'affinage sont présentées dans la figure 16.

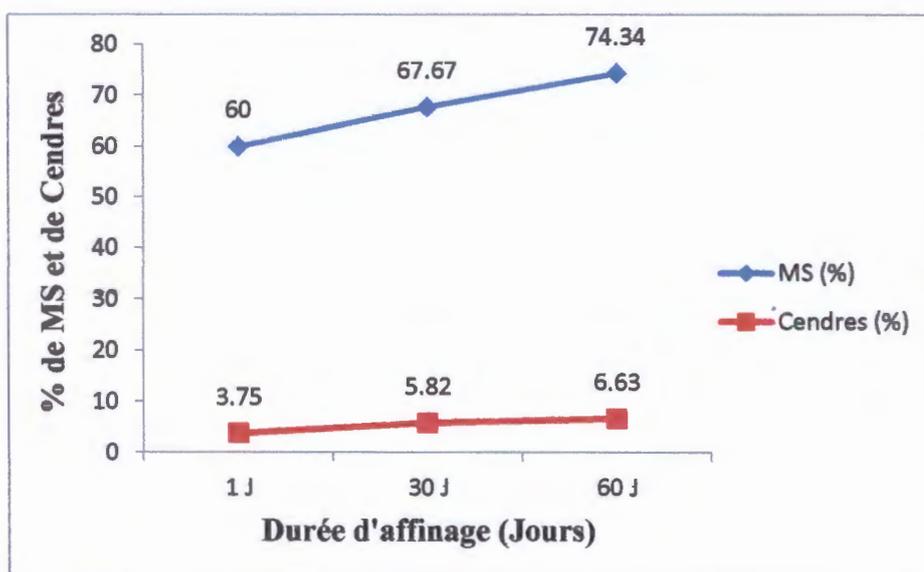
Le taux d'acide lactique des fromages est variable au cours de l'affinage (tableau III). Une augmentation non significative ( $P > 0,05$ ) de 1,43 à 1,88 (gramme d'acide lactique par 100g de la matière sèche) est notée entre le premier et le trentième jour, puis une diminution significative

( $P < 0.05$ ) est enregistrée entre le trentième jour et le soixantième jour pour atteindre une valeur de 1.44.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Tabet et al. (2016)**, où l'acidité augmente du premier au trentième jour puis diminue au soixantième jour. Selon **Baltadjieva et al., (1985)** l'augmentation est due à l'activité de la flore lactique qui libère des acides organiques comme l'acide lactique, l'acide propionique... etc. par contre la diminution de l'acidité est peut être dû à la destruction d'une partie de l'acide lactique, utilisé comme source de carbone par les microorganismes (**Mansour et Alais, 1972**).

### III.1.3. Matière sèche

Les taux des matières sèches des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jours au cours de l'affinage sont présentés dans la figure 17.



**Figure 17.** Teneur en cendres et en matière sèche des fromages au cours de l'affinage.

La figure 17 montre que la matière sèche des fromages varie durant l'affinage. Elle augmente d'une manière significative ( $P < 0.05$ ) de 60 à 66,67% entre le premier et le trentième jour puis elle marque une augmentation mais cette fois ci non significative ( $P > 0.05$ ) pour atteindre une valeur de 74.34% dans le soixantième jour.

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Franco et al. (2003)**, qui ont montré que l'extrait sec des fromages durant les huit semaines de l'affinage a évolué de 41.9% au premier jour à 71.7% au trentième et en fin 78% dans le soixantième jour. Ainsi ce fromage tomme de Saint amour est classé dans les fromages à pâte demi dure.

Ces résultats sont dus à la perte progressive d'eau libre et liée et peuvent être expliquées par la température d'affinage un peu élevée (16°C) par rapport à la norme qui est de 10 à 12, la longue durée d'affinage (60 jours) ainsi que le pressage et le salage qui ont de plus un effet positif sur l'exsudation d'eau.

### III.1.4. Cendres

Les taux des cendres des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jours au cours de l'affinage sont présentés dans la figure 17. Cette dernière montre que les valeurs des teneurs en cendres sont comprises entre 3,75 et 6,63% et l'analyse de la variance de ces valeurs montre une augmentation significative ( $P < 0.01$ ) de 3,75% à 5,82% entre le premier et le trentième jour d'affinage contrairement à l'augmentation non significative ( $P > 0.05$ ) entre le trentième et le soixantième jour de l'affinage où la teneur des cendres est de 6,63%

Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Franco *et al.* (2003) qui sont respectivement 2.6, 2.4 et 2.8% durant les mêmes périodes d'affinage et cela est peut-être dû à et l'ampleur de l'exsudation d'eau qui est poussés ainsi que la température d'affinage un peu élevé (16°C) des fromages analysés dans ce travail et selon Vignola, (2002), plus la teneur en eau est élevée, plus la teneur en cendres est basse.

### III.1.5. Matière grasse

Les valeurs moyennes et les écartypes des rapports matière grasse sur matière sèche des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jours au cours de l'affinage sont présentées dans la figure 18.

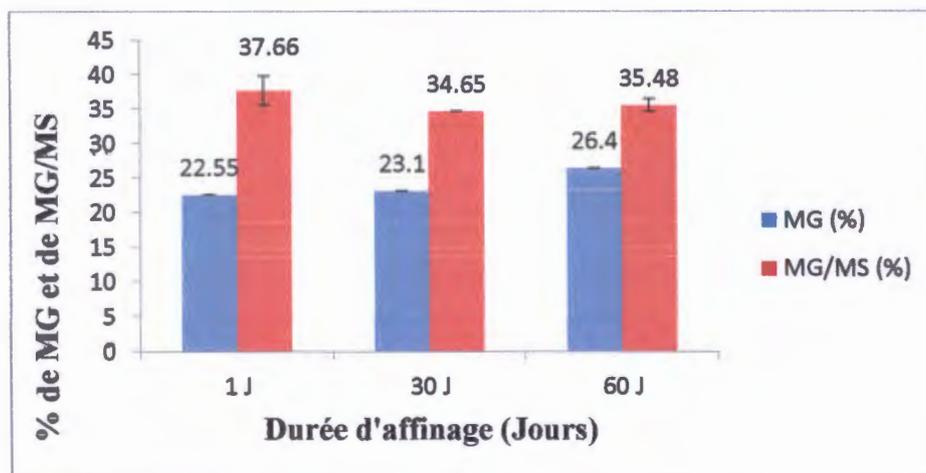


Figure 18. Teneur en matières grasses des fromages au cours de l'affinage.

Le tableau III montre que les valeurs de la teneur en matière grasse sont comprises entre 34,65 et 37,66. L'analyse de la variance a montré que les teneurs en matière grasse variaient d'une façon non

significative ( $P > 0.05$ ) entre les trois échantillons de fromage, 22,55% au premier jour d'affinage (correspond 37,66 grammes de matière grasse pour cent gramme de matière sèche), 23,1% au trentième jour correspondant à 34,65 g/100g MS et en fin 26,4% de la matière grasse après deux mois de l'affinage correspondant à 35,48 g/100g MS.

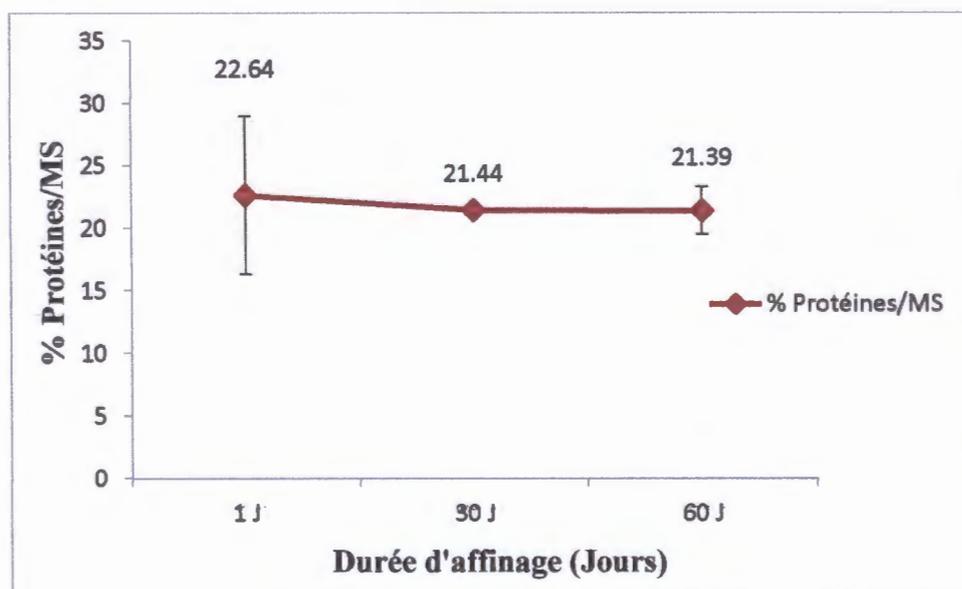
La figure 18 montre que la teneur en matière grasse diminue du premier au trentième jour. Cet abaissement est probablement dû à la lipolyse de la matière grasse orchestré par les lipases microbiennes en phase de croissance et celles du lait. Cependant du trentième au soixantième jour, la teneur en matière grasse augmente faiblement mais progressivement. Cela est éventuellement dû à l'effet de concentration de la matière grasse vu que l'humidité diminue avec le dessèchement des fromages.

Ces résultats sont dans la fourchette des valeurs rapportées par **Baltadjieva et al. (1985)**, où les valeurs au premier, au trentième et au soixantième jour d'affinage sont respectivement 25,4%, 26,9 % et 28,1 %.

Les valeurs de matière grasse presque stables des fromages au cours de l'affinage sont la conséquence d'une faible activité lipolytique, essentiellement due aux bactéries et aux champignons lipolytiques (**Franco et al., 2003**).

### III.1.6. Protéines totales

Les valeurs moyennes et les écartypes du rapport protéine sur matière sèche des trois échantillons de fromage 1, 30 et 60 jours au cours de l'affinage sont présentées dans la figure 19.



**Figure 19** : variations des valeurs moyennes de la teneur en protéines totales dans les fromages

Le taux de protéines (azote total x 6,38) exprimés en fonction du taux de la matière sèche n'évolue pas considérablement au cours de l'affinage du fromage Saint amour.

Les teneurs en protéines ne sont pas significativement différentes ( $P > 0.05$ ) dans tous les stades d'affinage et cela est probablement due à une faible activité protéolytique des flores présentes dans le fromage.

La figure 19 montre que les taux de protéine diminuent continuellement de 22,64 au premier jour jusqu'à 21,39% à la fin de l'affinage. Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Franco et al. (2003)** durant la même période de l'affinage.

### III.2. Evolution des fractions azotées

Les valeurs moyennes et les écartypes des fractions azotées obtenues, azote total (NT), azote non protéique (NNP), azote non caséique (NNC) durant l'affinage des fromages sont présentées dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Valeurs moyennes des fractions azotées pour les trois échantillons du fromage.

	1 <sup>er</sup> jour	30 <sup>eme</sup> jour	60 <sup>eme</sup> jour
<b>Azote total (%)</b>	1,96 ± 0,48	2,24 ± 0,00	2,52 ± 0,39
<b>Azote non protéique (%)</b>	7,00 ± 0,00	8,4 ± 0,00	2,1 ± 0,00
<b>Azote non caséique (%)</b>	0,82 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,78 ± 0,02

#### III.2.1. Azote total (TN)

Le tableau IV montre que la teneur en azote totale des fromages varie d'une façon non significative entre le premier, le trentième et le soixantième jour d'affinage et se situe entre 1,96 et 2,52%.

#### III.2.2. Azote non protéique (NNP)

L'analyse statistique (ANOVA) des valeurs moyennes des teneurs en azote non protéique a montré une augmentation non significative ( $P > 0.05$ ) entre les échantillons de premier et de trentième jour de 7% et 8,4% respectivement, puis une diminution significative ( $P < 0.05$ ) entre le trentième et le soixantième jour et enregistre une valeur de 2,1% à la fin de l'affinage (figure 20).

À la fin de la période d'affinage les taux d'azote non protéique sont très bas comparés à ceux de la littérature rapportés par **Tejada et al. (2008)**, qui ont trouvé une valeur de 9,61% après deux mois de l'affinage.

L'NNP est lié à l'activité des peptidases et caractérise l'affinage dans sa profondeur, autrement dit dégradation de l'azote non caséique vers des fragments plus petits (Serhan, 2008).

L'augmentation de la teneur en azote non protéique est due probablement à une dégradation protéique, tandis que la diminution du même paramètre est due à la consommation de l'azote non protéique par des bactéries lactiques ou par des moisissures.

### III.2.3. Azote non caséique (ANC)

Selon Serhan, (2008), l'ANC donne des informations sur l'activité des protéinases et caractérise la dégradation des caséines en peptides solubles dans l'eau.

D'après le tableau IV, une stabilité des teneurs en azote non caséique ou bien (azote soluble dans l'eau à pH 4,6) entre les trois périodes d'affinage est notée car même l'analyse de la variance n'a montré aucune différence significative ( $p > 0,05$ ).

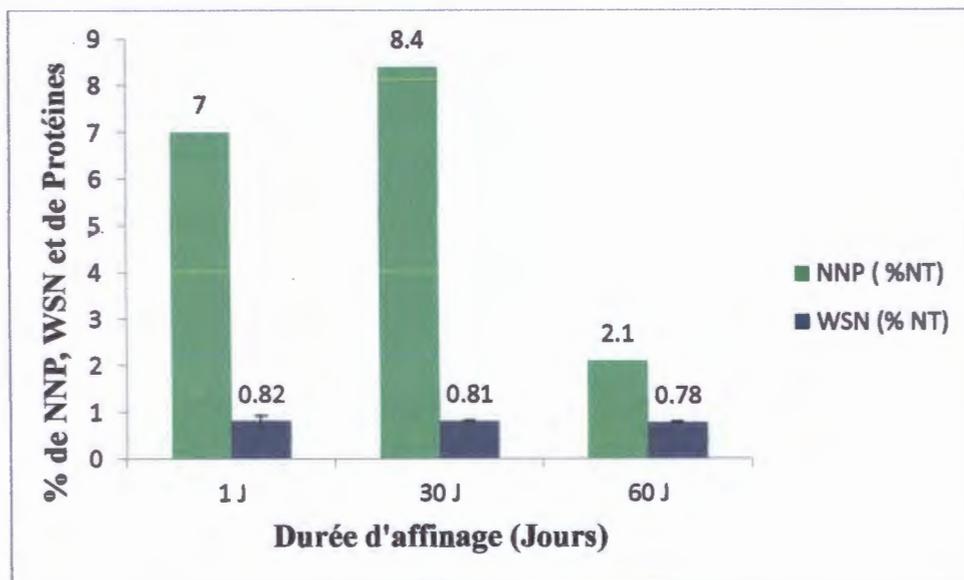


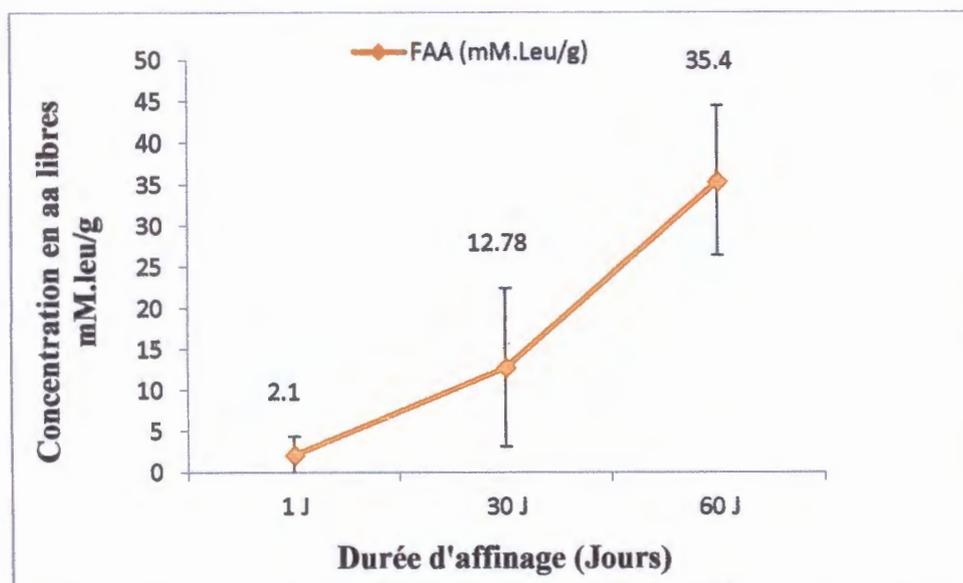
Figure 20 : Valeurs moyennes de différentes fractions azotées au cours de l'affinage

La figure 20 illustre la diminution négligeable des teneurs en azote non caséique, allant de 0,82% dans le premier jour d'affinage, à 0,81% en trentième jour d'affinage et 0,78% après deux mois d'affinage et correspondent respectivement à 5,24%, 5,18% et 5,00 % de protéines totales soluble dans l'eau.

Contrairement aux résultats trouvés dans cette étude, dus probablement à une faible activité protéolytique des flores peuplant ces fromages, Tejada et al. (2008), ont publiés des résultats supérieurs dont la teneur en protéines soluble dans l'eau après deux mois d'affinage frôle les 19%.

### III.3. Acides aminés libres (FAA)

Les valeurs moyennes et les écartypes des teneurs en acides aminés dans les fromages, durant le premier, trentième et soixantième jour d'affinage sont présentées dans la figure 21.



**Figure 21** : Concentrations en acides aminés libres des fromages au cours d'affinage.

Les résultats obtenus illustrés dans la figure 21, montrent une augmentation non significative de la concentration en acides aminés libres entre le premier et le trentième jour de l'affinage ( $p > 0,05$ ), allant de 2,1 à 12,78 mg/g de fromage respectivement, ensuite elle continue à augmenter mais cette fois-ci d'une manière significative ( $p < 0,05$ ), entre le trentième et le soixantième jour pour atteindre la valeur 35,4 mg/g de fromage.

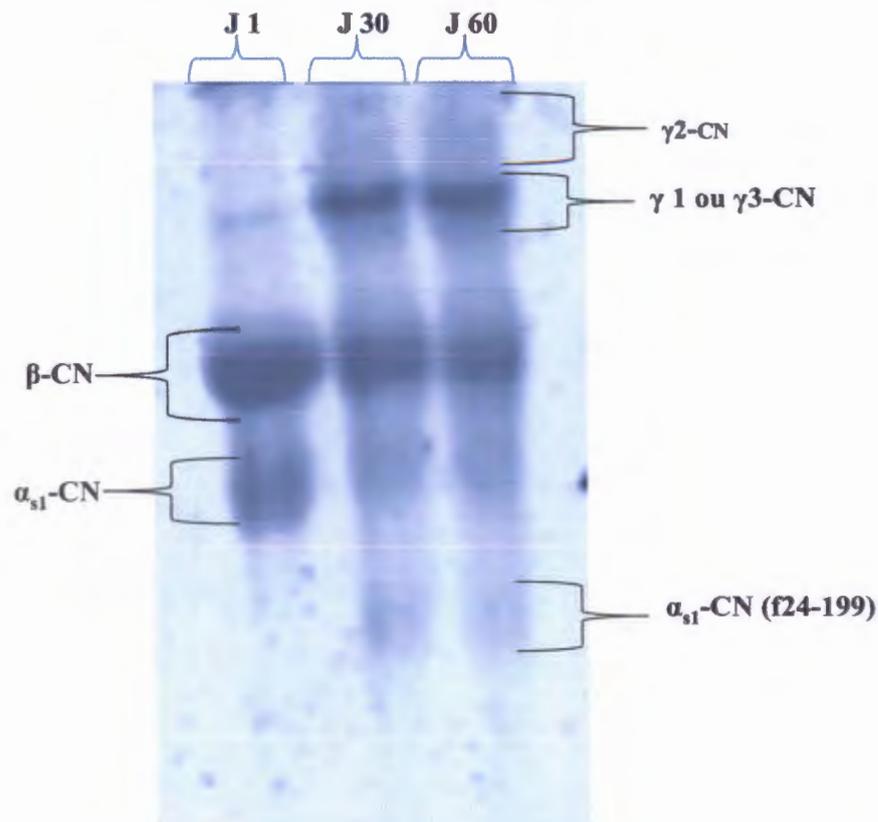
Selon Prieto *et al.*, (2004), cette augmentation de la concentration des acides aminés libres au cours de l'affinage est due aux endo et exopeptidases d'origine microbienne.

Les résultats trouvés sont inférieurs à ceux rapportés par Novella-Rodriguez *et al.* (2002), et cela dans tous les stades (1<sup>er</sup>, le 30<sup>ème</sup> et le 60<sup>ème</sup> jour) d'affinage.

### III.4. Caractérisations de la protéolyse

#### III.4.1. PAGE-Urée

Les électrophoregrammes de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide-urée (PAGE-urée) de la fraction insoluble à pH 4,6 des fromages de chèvre affinés durant 1, 30 et 60 jours sont présentés dans la figure 22.



**Figure 22.** EGPA-Urée des protéines insolubles à pH 4,6 du fromage de chèvre affiné.

Il est bien clair que ni la caséine -  $\alpha 1$  ni la caséine -  $\beta$  ne sont fortement dégradées dans le premier jour d'affinage, tout de même on remarque la présence d'une autre bande peu condensée qui est peut-être due à la dégradation de caséine-  $\beta$  par les protéinases du lait ainsi que l'action de la présure sur ces caséines.

Après 30 jours d'affinage d'autres bandes sont apparues dues probablement à la dégradation de la caséine- $\alpha 1$  et la caséine- $\beta$ . Ainsi la caséine- $\alpha 1$  est plus amplement dégradée que la caséine  $\beta$  à cette période d'affinage, ce qui implique que la condensation de la caséine- $\alpha 1$  diminue d'une façon drastique, en même temps que l'apparition d'autres bandes présentées comme des caséines  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  et  $\gamma 3$  et le fragment 24-199 de caséine- $\alpha 1$  en se référant à la littérature.

Après 60 jours d'affinage les bandes apparues au 30<sup>ième</sup> jour continuent à se condenser suite à l'effet des peptidases de bactéries dites starter qui jouent un rôle important dans la dégradation des peptides issues de la dégradation des caséines par l'enzyme coagulante.

### III.4.2. Détection des acides aminés

L'ampleur de la protéolyse est aussi contrôlée par la détermination des acides aminés libres et les résultats de l'analyse de ces derniers par RP-HPLC dans les fractions solubles à pH 4,6 des fromages de chèvre affinés durant 1, 30 et 60 jours sont présentés dans la figure 23.

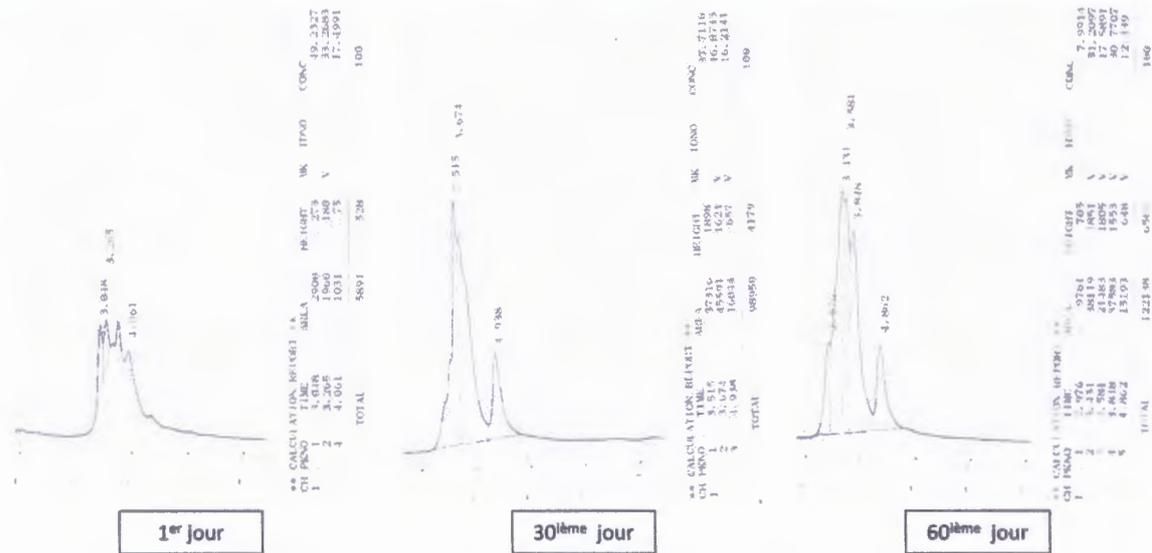
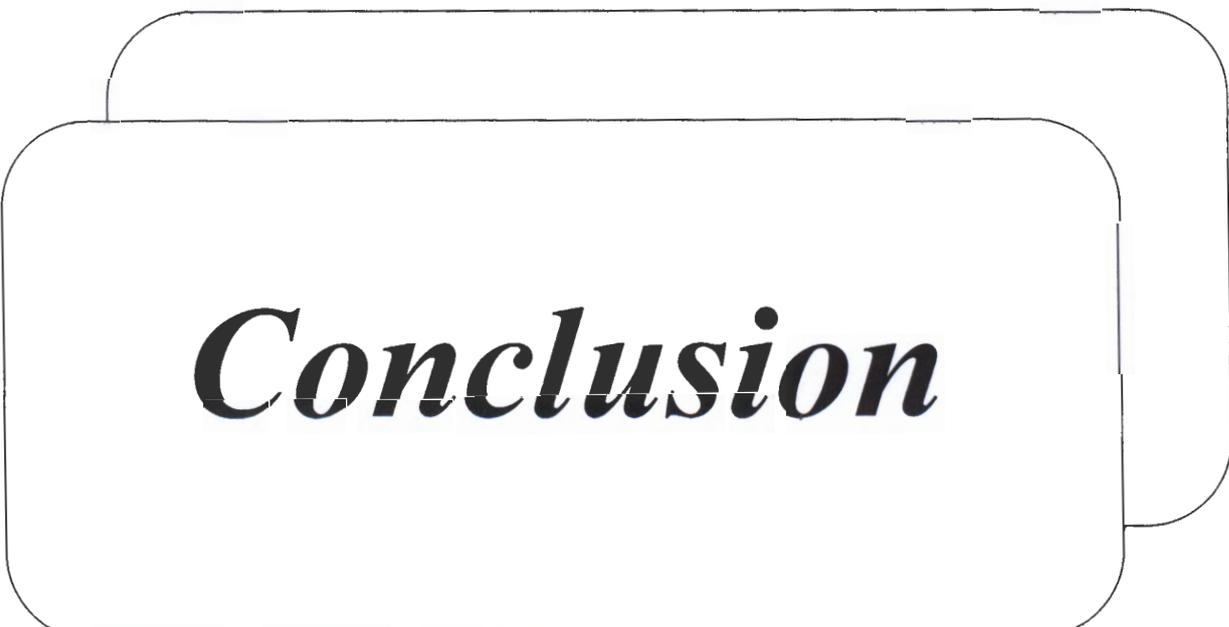


Figure 23. Chromatogrammes de l'RP-HPLC des fromages au cours d'affinage

Les résultats de la figure 23, obtenus par RP HPLC des acides aminés recherchés (Arginine, glycine, phénylalanine et cystéine) montrent que DL- Arginine est le seul et le principal acide aminé présent dans le premier jour d'affinage, la glycine et DL phénylalanine dans le trentième jour, tandis que la cystéine et DL Arginine sont détectés dans l'échantillon après soixante jours d'affinage.

Selon Hayaloglu *et al.*, (2004), la production des acides aminés est due aux peptidases des microorganisme dit starter, ces derniers libèrent selon leur nature des quantités différentes selon leurs arsenal enzymatique et le degré de leurs autolyse dans les fromages.



***Conclusion***

## Conclusion

L'objectif de cette étude était de contribuer à la caractérisation d'un fromage traditionnel affiné de chèvre « Saint amour », cette caractérisation a porté sur quelques aspects et abouti aux conclusions suivantes.

Dans la première partie, les analyses physicochimiques des fromages au cours d'affinage ont été effectuées (pH, acidité titrable, matière grasse, matière sèche, humidité, taux de la cendre).

Les résultats de l'évaluation des paramètres physicochimiques du fromage Saint amour ont permis de décrire un taux en cendres relativement élevé, un pH acide proche de la neutralité et une acidité presque stable au cours de l'affinage.

Le but de cette étape est de mettre en évidence l'évolution de ces paramètres ainsi, les teneurs protéine et matière grasse ne varient pas significativement durant l'affinage contrairement à la teneur en humidité qui diminue fortement à la fin de la période d'affinage ce qui a permis de classer ce fromage dans les fromages à pâte demi dure.

La seconde partie a été consacrée à l'étude de l'influence de l'affinage sur la protéolyse ou bien la dégradation des protéines dans la matrice fromagère et précisément à l'étude de fractions azotées des fromages au cours de l'affinage et la détermination de la teneur en acides aminés.

Ainsi une protéolyse modérée caractérise ce fromage, elle se traduit par une variation significative de l'azote non protéique (ANP) et une variation non significative de l'azote non caséique (ANC) à la fin de l'affinage.

La concentration en acides aminés augmente mais d'une façon non significative entre le premier et le trentième jour d'affinage puis d'une manière significative dans le soixantième jour d'affinage.

Dans le but de caractériser la protéolyse une électrophorèse sur gel de polyacrylamide avec l'urée (EGPA-urée) et une chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) ont été effectuées.

EGPA-urée a montré que dans le premier jour d'affinage ni la caséine -  $\alpha$ 1 ni la caséine -  $\beta$  ne sont fortement dégradées. Au 30<sup>ème</sup> jour, la caséine- $\alpha$ 1 est plus amplement dégradée que la  $\beta$  et engendre l'apparition d'autres fragments de caséines  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2,  $\gamma$ 3 et le fragment 24-199 de caséine- $\alpha$ 1 qui continuent à se condenser au 60<sup>ème</sup> jour d'affinage.

L'analyse par RP-HPLC des acides aminés recherchés à montrée que DL- arginine est présent dans premier jour, la glycine et DL - phénylalanine dans trentième jour, et cystéine et DL - arginine dans soixantième jour d'affinage.



***Références  
bibliographiques***

A)

**Aissaoui Zitoun O., Benatallah L., Ghennam E.H., et Zidoune M.N.** *Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese.* Journal of Food, Agriculture & Environment, 2011, vol.9, p. 96-100.

**ALAIS C., et LAGRANGE A.** *Etude biochimique d'une protéase coagulante produite par Mucor miehei-Activité coagulante et activité protéolytique.* Lait, 1972, vol. 52, p. 407-427.

**Alichanidis E., et Polychroniadou A.,** Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review. Journal of Dairy Science and Technology, 2008, vol. 88, p.495-510.

**Ardo Y., et Polychroniadou A.** *Laboratory manual for chemical analysis of cheese.* Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 1999. 144 p.

**Arora R., Bhojak N., et Rajani J.** *Comparative Aspects of Goat and Cow Milk.* International Journal of Engineering Science Invention, 2013, vol. 2, p. 07-10.

**Andrews, A. T.** *Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins.* Journal of Dairy Research, 1983, vol. 50, p. 45-55.

B)

**Ballabio, C., Chessa, S., Rignanese, D., Gigliotti, C., Pagnacco, G., Terracciano, L., Fiocchi, A. Restani, P., et Caroli, A. M.** *Goat milk allergenicity as a function of  $\alpha$ S1-casein genetic polymorphism.* Journal of Dairy Science, 2011, vol. 94, p. 998-1004.

**Baltadjieva M., Kalatzupoulos G., Staminova V., et Sfakianos A.** *Composition en acides gras libres et en acides aminés de deux fromages fabriqués à partir de lait de chèvre.* Le lait, 1985, vol. 65, p. 221-241.

**Belbeldi A.** *Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza: Contenu lipidique et vitamines.* Thèse de doctorat : Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A.). Constantine, 2013. 96 p.

**Bezerra T.K.A., Araujo A.R.R., Do Nascimento E.S., De Matos Paz J.E., Gadelha C.A., Gadelha T.C., Pacheco M.T.B., Do Egypto Queiroga R.D.C.R., De Oliveira M.E.G., et**

**Madruça M.S.** *Proteolysis in goat "coalho" cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria.* Food Chemistry, 2016, vol. 196, P. 359-366.

**Blakesley, R. W., et Boezi, J. A.** *A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G250.* Analytical Biochemistry, 1977, vol. 82, p. 580-581.

**Broadbent J.R., Budinich M.F., et Steele J.L.** *Cheese : NSLAB.* Encyclopedia of Dairy Sciences, 2016, Second Edition, p. 639-644.

**Bynum O.G., et Barbano D.M.** *Whole Milk Reverse Osmosis Retentates for Cheddar Cheese Manufacture: Chemical Changes During Aging.* Journal of Dairy Science, 1985, vol. 68, p. 1-10.

C)

**Cholet, O.** *Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire.* Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires. Institut National Agronomique Paris-Grignon. France. 192p.

**Croguennec T., Jeantet R., et Brulé G. (Ed.).** *Fondements physicochimiques de la Technologie laitière.* Paris : Lavoisier-Tec & Doc, 2008. 160 p. agro-alimentaires - Industrie laitière,

**Curtin A.C., McSweeney P.L.H.** *Catabolism of Amino Acid in Cheese during Ripening.* IN : *Cheese: Chemistry, Physics, and Microbiology.* vol.1. *General aspects.* Edited by Fox P.F. 3<sup>e</sup> éd. London : Elsevier Academic press, 2004. P.435-454.

D)

**Delgado F.J., Crespo J.G., Cava R., et Ramirez R.** *Proteolysis, texture and colour of a raw goat milk cheese throughout the maturation.* European Food Research and Technology, 2011, vol. 233, p. 483-488.

**De Buzon, S.** *A la découverte d'un fromage fermier: l'Ecir en Aubrac.* Thèse d'exercice : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2007. 99 p.

**Derouiche M., et Zidoune M.N.** *Caractérisation d'un fromage traditionnel, le Michouna de la Région Tébessa, Algérie.* Livestock Research for Rural Development, 2015, vol. 27, p. 295-300.

**Desjeux J.F.**, *Valeur nutritionnelle du lait de chèvre*. Lait, 1993, vol. 73, p. 573-580.

**E)**

**El Galiou O., Zantar S., Bakkali M., Laglaoui A., Centeno J.A., et Carballo J.** *Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco*. Small Ruminant Research, 2015.

**F)**

**FAO**, *Le Lait et les Produits Laitiers dans la Nutrition Humain*. Rome : FAO, 1995. 293 p. Collection FAO : Alimentation et nutrition.

**Fonteneau S.** *Comment faire les fromages frais, fermentés, affinés*. Editions Rustica, 1997. 110 p.

**Fox P.F.**, *Cheese: Chemistry, Physics, and Microbiology - General aspects* 2<sup>e</sup> éd. London: Springer-Science + Business Media, B.V., 1993. Biochemistry of Cheese ripening, p. 397-446.

**Fox P. F., Folkertsma B.** *Use of Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening*. Journal of Dairy Research, 1992, vol. 59, p. 217-224.

**Fox P. F., et McSweeney P. L. H.** *Proteolysis in cheese during ripening*. Food Review International, 1996, vol. 12, p. 457-509.

**Fox P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T. M., et Guinee T.P. (ED.)**. *Cheese, Chemistry, physics and microbiology. General Aspects*. 3<sup>ème</sup> éd. San Diego : Elsevier Academic press, 2004. 530 p.

**Franco I., Prieto B., Bernardo A., Prieto J.G., et Carballo J.** *Biochemical changes throughout the ripening of a traditional Spanish goat cheese variety (Babia-Laciana)*. International Dairy Journal, 2003, vol. 13, p. 221-230.

**G)**

**Gaborit P., Menard A., et Morgan F.** *Impact of ripening strains on the typical flavour of goat cheeses*. International Dairy Journal, 2001, vol. 11, p. 315-325.

**Gaddour A., Najari S., Aroum S., et Abdenni M.** *Study of authentic cheese manufactured from local goat milk in Tunisian arid land.* International Journal of Current Microbiology and Applied, 2013, vol. 2, p.315-317.

**Garrigues M.** *La filière des producteurs fermiers de fromage au lait cru et la maîtrise de la qualité sanitaire dans le département de l'Aveyron.* Thèse d'exercice : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2004. 83 p.

**Gobbetti M., Folkertsma B., Fox P.F., Corsetti A., Smacchi E., De Angelis M., Rossi J., Kilcawley K., et Cortini M.** *Microbiology and biochemistry of Fossa (pit) cheese.* International Dairy Journal, 1999, vol 9, p. 763-773.

**Granville A., et Desmet F.** *Détermination de la teneur en matière grasse des fromages, au moyen du butyromètre gerber.* Le Lait, 1951, vol. 31, p. 501-505.

#### H)

**Hayaloglu, A.A., Guven, M., Fox, P.F., Hannon, J.A., et McSweeney, P.L.H.** *Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined strains of Lactococcus.* International Dairy journal, 2004, vol.14, p. 599–610.

**Hebert A.** *Ecosystème fromager : de l'étude du métabolisme du soufre chez Kluyveromyces lactis et Yarrowia lipolytica à l'interaction entre Kluyveromyces lactis et Brevibacterium aurantiacum.* Thèse de doctorat de microbiologie : Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Paris. 2010. France. 191 p.

**Houins G., Derouanne CL., et Coppens N.** *Etude comparative de l'activité coagulante et du pouvoir protéolytique de la présure animale et de trois de ses succédanés.* Lait, 1973, vol. 53, p. 529-530.

#### J)

**Jeantet R. (ed.).** *Les poudres laitières et alimentaires-Techniques d'analyse.* Paris : Lavoisier, 2012. 194 p.

**Jeronimo E., et Malcata F.X.** *Composition and Health Effect*. Encyclopedia of food and health, 2016, p. 741-747.

**Jin Y.K., et Park Y.W.** *Effects of Aging Time and Temperature on Proteolysis of Commercial Goat Milk Cheeses Produced in the United States*. Journal of Dairy Science, 1995, vol. 78, p. 2598-2608.

**K)**

**Kacimi S.** *La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution?*. Journal of Social Sciences, 2013, vol. 4, p. 1-7.

**Kuchroo C. N., et Fox P. F.** *Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures*. Milchwissenschaft, 1982, Vol. 37, p. 331–335.

**L)**

**Lamontagne, M., Claud P.C., Reitz- Aousseur, J., Moineau, S., Gardner, N., Lamoureux, M., Jean, J., et Fliss, I.** *Microbiologie de lait. Science et technologie de lait*. Ecole polytechnique de Montréal. 2002. P. 75- 90.

**Lucas A., Coulon J.B., Agabriel C., Chilliard Y., et Rock E.** *Relationships between the conditions of goat's milk production and the contents of some components of nutritional interest in Rocamadour cheese*. Small Ruminant Research, 2008, vol. 74, p. 91-106.

**M)**

**Mansour A., et Alais C.** *Etude du salage et de l'affinage du fromage en saumure. I. Aspect Biochimique : Evolution de la composition du fromages et rendement*. Le lait, 1972, vol. 52, p. 515-535.

**Marilley L., et Casey M. G.** *Flavours of cheese products: metabolic pathways analytical tools and identification of producing strains*. Int. J. Food Microbiol, 2004, vol. 90, p. 139-159.

**McSweeney P. L. H., et Fox P.F.** *Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening*. Le Lait, 1997, vol. 77, p. 41-76.

**McSweeney P. L. H., et Sousa M. J.** *Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: A review.* Le Lait, 2000, vol. 80, p. 293-324.

N)

**Nollet L.M.L.(Ed.)**. *Handbook of dairy foods analysis.* New York : CRC Press, 2010. 920 p. ISBN : 978-1-4200-4631-1.

**Novella- Rodriguez S., Veciana-Nogués M.T., Roig-Sagués A.X., Trijillo-Mesa A.J., et Vidal-Carou M.C.** *Influence of Starter and Nonstarter on the Formation of Biogenic Amine in Goat Cheese During Ripening.* Journal of Dairy Science, 2002, vol.85, p. 2471-2478.

O)

**Ohiokehai O.,** *Processed Food Products and Nutrient Composition of Goat Milk.* Pakistan Journal of Nutrition, 2003, vol. 2, p. 68-71.

**Olarte C., Sanz S., Gonzalez-Fandos E., et Toor P.** *the effect of commercial starter culture addition on the ripening of an artisanal goat's cheese (Cameros cheese).* Journal of Applied Microbiology, 2000, vol.88, p.421-429.

P)

**Pierre A.D.** *Projet de Création d'une Unité de Fabrication Semi-industrielle de Fromage à Partir du Lait de Chèvre Dans la Région d'ambatolampy.* Ing. Génie Chimique : Université d'Antananarivo. Madagascar, 2010. 135 p.

**Polychroniadou A., et Manolkidis K.S.** *Etude biochimique d'un fromage de chèvre à croûte fleurie fabriqué à l'aide d'extraits coagulants microbiens.* Lait, 1984, vol. 64, p. 469-483.

**Pradal M.,** *La transformation fromagère caprine fermière – bien fabriqué pour mieux valoriser ses fromages de chèvre.* Paris : Lavoisier – Tec & Doc, 2012. 319 p.

**Prieto B., Franco I., Fresno J.M., Lez Prieto J.G., Bernardo A., et Calballo J.** *Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of Leo'n cow milk cheese.* Food Chemistry, 2004, vol. 85, p.389-398.

R)

**Ramet J.P.** *la fromagerie et les variétés de fromage du bassin méditerranéen*. Rome. Etude F.A.O., Production et santé animales, 48.1995.

**Ramet J.P.**, *La fromagerie et les variétés de fromages de bassin méditerranéen*. Rome. FAO, 1985. 187 p.

**Ramet J.P.** *La technologie des fromages au lait de dromadaire (Camelus dromedarius)*. Rome. Etude F.A.O., Production et santé animales, 113. 1993.

**Raynal-Ljutovac K., Le Pape M., Gaborit P., et Barrucand P.** *French goat milk cheeses: An overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance*. Small Ruminant Research, 2011, vol. 101, p. 64-72.

**Remeuf F., Lenoir J., et Duby C.** *Etude des relations entre les caractéristiques physico chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure*. Lait, 1989, vol. 69, p. 499-512.

**Ribeiro. A.C., et Ribeiro S.D.A.** *Specialty products made from goat milk*. Small Ruminant Research, 2010, vol. 89, p.225–233.

**Rodriguez, J., Requena, T., Goudédranche, H., Maubois, J. L., et Juárez, M.** *Accelerated ripening of reduced fat semi-hard cheese from a mixture of cow's, goat's and ewe's ultrafiltrated milk by using a Lac-Prt-strain of Lactococci*. Le Lait. 1996, vol. 76, p. 513-522.

S)

**Sant'Ana A.M.S., Bezerril F.F., Madruga M.S., Batista A.S.M., Magnani M., Souza E.L., et Queiroga R.C.R.E.** *Nutritional and sensory characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both*. Journal of Dairy Science, 2013, vol. 96, p. 7442-7453.

**Serhan M.** *Valorisation durable des laits de chèvre de la region du Nord Liban. Transformation en fromage Darfieh et etablissement de caracteristiques physico- chimiques et microbiologiques en vue de la creation d'une appellation d'origine*. Thèse de doctorat : Institut National Polytechnique de Lorraine, 2008. 199 p.

**Sgharbi E.** *Non Starter Lactic Acid Bacteria During Cheese Ripening-Survival, Growth and Production of Molecules Potentially Involved in Aroma Formation.* Thèse de doctorat : Università Degli Studi Di Parma, 2012, 104 p.

**Shakeel-Ur-Rehmane, McSweeney P.L.F., et Fox P.F.** *Protocol for the manufacture of miniature cheeses.* Lait, 1998, vol.78, p. 607-620.

**Shalabi S. I., et Fox P. F.** *Electrophoretic analysis of cheese, comparison of methods.* Irish Journal of Food Science and Technology, 1987, vol. 11, p. 135–151.

**Solaiman S.G.** *Goat Science and Production.* Singapor : Wiley BlackWell, 2010. Milk Production, p. 275-292.

**St-Gelais D., Baba Ali, O., et Turcot, S.** *Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation,* cité par : Bruno ZELLER (2005). *Le fromage de chèvre : spécificités technologiques et économiques.* Thèse de doctorat : Université Paul-Sabatier de Toulouse. France, 2000.

**St Gelais, D., Gaétan P.T., Couture R., et Drapeau, R.** *Fromage. Science et technologie du lait.* Presses Internationales Polytechnique, 2002. P. 349-415.

T)

**Tejada L., Abellan A., Cayuela J.M., Martinez-Cacha A., et Fernandez Salguero J.** *Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant.* International Dairy Journal, 2008, vol. 18, p. 139-146.

**Trujillo A.J., Buffa M., Casals L, Fernández P., et Guamis B.** *Proteolysis in goat cheese made from raw, pasteurized or pressure-treated milk.* Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2002, vol. 3, p.309-319.

V)

**VASSAL L., et Gripon G.C.** *L'amertume des fromages à pâte molle de type Camembert : rôle de la présure et de *Penicillium caseicolum*, moyens de la contrôler.* Le lait, 1984, vol 64, p. 397-417.

**Vignola C.L.**, *Science et technologie du lait*. Presses internationales polytechnique, 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, p. 608.

W)

**Walstra P., Wouters J.T.M., et Geurts T.J. (Ed.)**. *Dairy Science and Technology*. 2<sup>ème</sup> éd. USA : CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. 768 p.

**Walther B., Schmid A., Sieber R., et Wehrmuller K.** *Cheese in nutrition and health*. Journal of Dairy Science and Technology, 2008, vol. 88, p. 389-40.

**Weimer B.C.** *Improving the flavor of cheese*. Washington, D.C. : CRC press- Woodhead Publishing Limited, 2007. 501 p.

Z)

**Zeller B.** *Le fromage de Chèvre : Spécificités Technologiques et Economiques*. Thèse de Doctorat : Ecole Nationale Vétérinaire-Toulouse. Toulouse, 2005. 81 p.

**Zeng S.S., Soryal K., Fekadu B., Bah B., et Bopham T.** *Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition*. Small Ruminant Research, 2007, vol. 69, p. 180-186.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.038>.

<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.smallrumres.2016.05.011>.



# *Annexes*

## Annexe I

**Tableau 1** : Analyse du pH entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
60jour ~ 1jour	0,195	11,759	2,571	< 0,0001	Oui
60jour ~ 30 jour	0,080	5,394	2,571	0,003	Oui
30 jour ~ 1jour	0,115	6,935	2,571	0,001	Oui

**Tableau 2** : Classement et regroupements des groupes non significativement différents du pH :

Modalités	Moyenne	Regroupements
60jour	5,500	A
30 jour	5,420	B
1jour	5,305	C

**Tableau 3** : Analyse du lactate entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
30jour ~ 1jour	0,430	4,619	2,571	0,006	Oui
30jour ~ 60 jour	0,210	2,522	2,571	0,053	Non
60 jour ~ 1jour	0,220	2,363	2,571	0,064	Non

**Tableau 4** : Classement et regroupements des groupes non significativement différents du lactate :

Modalités	Moyenne	Regroupements
30 jour	1,290	A
60jour	1,080	A B
1jour	0,860	B

**Tableau 5** : Analyse du lactate/MS entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
30jour ~ 1jour	0,445	2,447	2,571	0,058	Non
30jour ~ 60 jour	0,433	2,661	2,571	0,045	Oui
60 jour ~ 1jour	0,012	0,067	2,571	0,949	Non

**Tableau 6** : Classement des groupes non significativement différents de lactate/MS

Modalités	Moyenne	Regroupements
30jour	1,883	A
60 jour	1,450	B
1jour	1,438	B

**Tableau 7** : Analyse de l'humidité entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
1jour ~ 60jour	14,445	4,595	2,571	0,006	Oui
1jour ~ 30 jour	8,888	2,827	2,571	0,037	Oui
30 jour ~ 60jour	5,557	1,976	2,571	0,105	Non

**Tableau 8** : Classement et regroupements de non significativement différents de l'humidité

Modalités	Moyenne	Regroupements
1 jour	39,995	A
30 jour	31,107	B
60 jour	25,550	B

**Tableau 9** : Analyse de la matière sèche entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
60jour ~ 1jour	14,445	4,595	2,571	0,006	Oui
60 jour ~ 30 jour	5,557	1,976	2,571	0,105	Non
30 jour ~ 1jour	8,888	2,827	2,571	0,037	Oui

**Tableau 10** : Classement et regroupements de non significativement différents de la MS

Modalités	Moyenne	Regroupements
30 jour	74,450	A
60 jour	68,893	A
1 jour	60,005	B

**Tableau 11** : Analyse de cendres entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
60jour ~ 1jour	3,042	5,336	2,571	0,003	Oui
60 jour ~ 30 jour	0,453	0,889	2,571	0,415	Non
30 jour ~ 1jour	2,588	4,541	2,571	0,006	Oui

**Tableau 12** : Classement et regroupements de non significativement différents de cendres

Modalités	Moyenne	Regroupements
30 jour	6,477	A
60 jour	6,023	A
1 jour	3,435	B

**Tableau 13** : Analyse des acides aminés libres entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
60jour ~ 1jour	34,590	4,520	2,571	0,006	Oui
60 jour ~ 30 jour	22,620	3,305	2,571	0,021	Oui
30 jour ~ 1jour	11,970	1,564	2,571	0,179	Non

**Tableau 14** : Classement des groupes de non significativement différents des acides aminés libres

Modalités	Moyenne	Regroupements
60 jour	35,400	A
30 jour	12,780	B
1 jour	0,810	B

**Tableau 15** : Analyse des protéines/MS entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
1jour ~ 60 jour	1,254	0,360	2,571	0,734	Non
1jour ~ 30 jour	1,208	0,347	2,571	0,743	Non
30 jour ~ 60 jour	0,047	0,015	2,571	0,989	Non

**Tableau 16** : Classement et regroupements de non significativement différents des protéines/MS

Modalités	Moyenne	Regroupements
1 jour	22,646	A
30 jour	21,439	A
60 jour	21,392	A

**Tableau 17 :** Analyse des protéines solubles dans l'eau entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

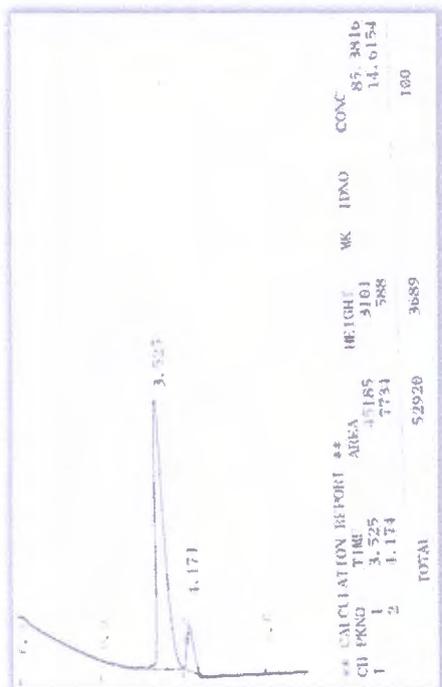
Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
1jour ~ 60 jour	0,238	2,309	2,571	0,069	Non
1jour ~ 30 jour	0,060	0,577	2,571	0,589	Non
30 jour ~ 60 jour	0,179	1,936	2,571	0,111	Non

**Tableau 18 :** Classement et regroupements de non significativement différents des protéines solubles dans l'eau

Modalités	Moyenne	Regroupements
1 jour	5,240	A
30 jour	5,181	A
60 jour	5,002	A

Annexe II

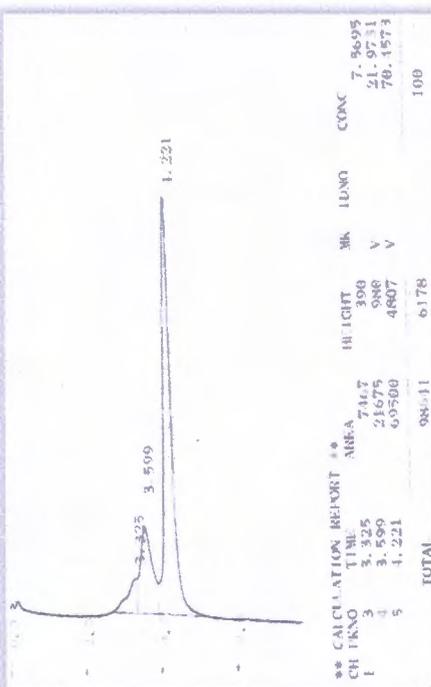
Les chromatogrammes des étalons utilisés



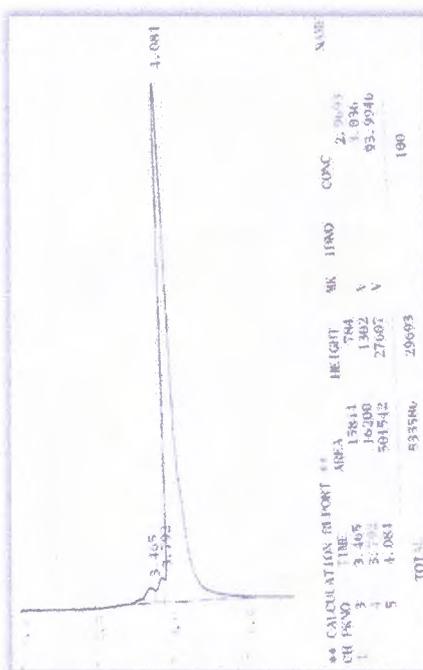
Glycine



DL Phénylalanine



Cystéine



DL Arginine

## Annexe IV

### Préparation du gel de migration

Nous avons utilisé un gel de polyacrylamide selon la méthode d'**ANDREWS (1983)**, modifiée par **Shalabi et Fox (1987)**, composé de deux gels à des concentrations différentes :

- **Le gel de séparation** : est préparé par la dissolution de 24 g d'acrylamide et 1,0 g N, N – méthylène bisacrylamide dans 200 ml du tampon Tris-HCL.
  - **Le tampon Tris-HCL** : (40 g Tris + 260 g urea + 4,0 ml de HCL concentré et dilué à 1 litre, pH 8,9).

Immédiatement avant l'utilisation, 100µL N, N, N-N, tetra-méthyl-éthylène-diamine (TEMED) et 80 mg de persulfate d'ammonium sont introduits dans la cellule d'électrophorèse (30 minutes).

- **Gel de concentration** : est préparé par la dissolution de 4 g d'acrylamide et 0,2 g bis dans 100 ml du tampon de gel de concentration ; 50 µl de (TEMED) et 40 mg du persulfate d'ammonium sont utilisés comme des catalyseurs de polymérisation.
  - **Le tampon de gel de concentration** : (7,5 g Tris + 260 g urea + 4,0 ml d'HCL concentré, dilué dans l'eau et compléter pour 1 litre à pH 7,6).
- **Le tampon d'électrode** : contient 18 g de Tris et 87,5 g de glycine.

Après que le gel d'espacement est polymérisé, le gel est préalablement exécuté à 50 Ma (~ 100 v).

Les gels sont colorés directement par la méthode de **Blakesley et Boezi (1977)**, avec le *bleu brillant de coomassie (G-250)*. Et décolorés en utilisant l'eau distillée

## Annexe V

### La préparation du colorant (Blakesley et Boezi 1977)

Une solution aqueuse du bleu brillant de Coomassie (G-250) à 0,2% (p/v) (Xylène Brilliant Cyanine G), est ajoutée à un volume égal de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2N). Après que la solution est bien mélangée, laisser reposer pendant au moins 3 h. le précipité obtenu est éliminé par un papier Whatman N° 1. Le volume du filtrat (brun limpide) est mesuré, et un 9/10 volume de KOH est ajouté, produisant une solution pourpre foncé.

100% (p / v) de la TCA (12% (p / v)) est ajouté à la solution pourpre foncé, pour l'obtention d'une solution bleue claire prêt à l'emploi. La solution colorée peut être stockée pendant plusieurs mois sans perte d'efficacité. Il peut être réutilisé plusieurs fois, mais le pH de la solution doit être inférieur à 1,0.

- **Procédure de coloration :**

Après la manipulation d'électrophorèse, le gel de Polyacrylamide est additionné directement à la solution de coloration. Et après 30 minutes, des bandes contenant 5-10 µg de protéines seront évidentes.

Le développement de la couleur pour une sensibilité maximale est atteint de 5-8 heures. La décoloration est s'effectue dans l'eau (10-15 ml), il y avait une intensification de la couleur marquée avec des bandes de protéines colorées.

Après avoir décoloré, les plaques de gel ont été numérisés par un scanner (logiciel HP scan Jet, Scan jet 6300 C, Hewlett Packard, City, USA).

Présenté par : DELLOUCHE Mohammed  
BOUHOUCHE Ahmed

Encadreur : Mr. RAHMOUNE Y.

Date de soutenance : /06/2016

### Thème

Contribution à la caractérisation d'un fromage affiné de chèvre « Saint amour »

Nature du diplôme : Master 2 en biologie Option : Contrôle de qualité des produits alimentaires

### Résumé

L'objectif de ce mémoire est de contribuer à l'étude de la caractérisation d'un fromage affiné de chèvre « *Saint amour* » fabriqué dans une ferme artisanale localisée dans la région « Ouacif » de la willaya Tizi-Ouzou.

Trois échantillons de fromage *Saint amour* collectés dans trois stades d'affinage (1, 30 et 60 jour), ont été analysés et l'évolution des paramètres physicochimiques, les différentes fractions azotées, les acides aminés libres ainsi que la protéolyse par l'utilisation d'une EGPA-Urée et RP-HPLC ont été effectués.

Les résultats ont montré que les échantillons collectés ont une teneur en matière sèche et en cendres relativement élevées au cours de l'affinage, un pH légèrement acide et proche de la neutralité, une acidité et une matière grasse presque stables entre les trois échantillons, et une faible activité protéolytique.

Mots Clés : Fromage affiné, chèvre, protéolyse, chromatographie, électrophorèse.

### Abstract

The aim of this study is to contribute to the characterization of a ripened goat milk cheese "*Saint amour*" made in a traditional farm located in the area "Ouacif" of the Tizi-Ouzou wilaya.

Three samples of cheese *Saint amour* collected in three stages of ripening (1, 30 and 60 days) were analyzed and the evolution of physicochemical parameters, different nitrogen fractions, free amino acids and proteolysis by the use of a Urea- PAGE and RP-HPLC were performed.

The results showed that the collected samples have a dry matter and ash content relatively high during ripening, a slightly acidic pH near to neutrality, acidity and fat almost stable, and low proteolytic activity.

Key words: Ripened cheese, goat; chromatography, electrophoresis, proteolysis,

### المخلص

الهدف الرئيسي من هذه المذكرة هو المساهمة في دراسة عين الماعز الناضج " *Saint amour* " المصنوع في مزرعة تقليدية تقع في منطقة " واصيف " لولاية تيزي وزو. ثلاث عينات من الجبن " *Saint amour* " التي تم جمعها في ثلاث مراحل من النضج (1 و 30 و 60 يوما) قد تم تحليلها وقد تمت دراسة تطور الخصائص الفيزيائية والكيميائية، مختلف الأجزاء الأزوتية والأحماض الأمينية الحرة وكذلك التحلل البروتيني عن طريق استخدام تقنية الفصل الكهربائي "EGPA-Urée" والكروماتوغرافيا "RP-HPLC".

وأظهرت النتائج أن العينات التي تم جمعها لديها محتوى المادة الجافة والرماد عال نسبيا خلال النضج، وقيمة ال pH قريبة من المحايدة، اما نسبة الدهون ودرجة الحموضة فهما ثابتتين تقريبا بين العينات الثلاث مع وجود فعالية محللة للبروتين منخفضة.

الكلمات المفتاح: الجبن الناضج، الماعز، الكروماتوغرافيا، الفصل الكهربائي، التحلل البروتيني.