

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Science Alimentaire
Spécialité/Option: Production et Transformation Laitières
Département: Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

**Essais de fabrication, suivi de qualité et
comparaison de divers fromages frais lactiques**

Présenté par :

**DAGAMAÏSSA Mariam
DIAWARA Awa**

Membres de jury :

Président : Dr. BOUDALIA Sofiane	Université de Guelma
Encadreur : Pr. CHEMMAM Mabrouk	Université de Guelma
Examinatrice : M^{me} LEKSIR Choubaila	Université de Guelma

Juin, 2018

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Listes des photos	
Liste des annexes	
Résumé	
Introduction générale	1
1. Problématique	
2. Objectifs de l'étude	2
Etude bibliographique	
Chapitre I : Le lait cru de vache	3
Introduction	
1. Définition	
2. La composition du lait	4
a. L'eau	5
b. Matière grasse	
c. Matière azotée	
d. Les glucides	6
e. Matière minérale	7
f. Biocatalyseurs (Enzymes et vitamines)	8
3. La variabilité de la composition du lait	9
3.1 Facteurs intrinsèques	
a. Facteurs génétiques	
b. Stade de lactation	
c. Age et nombre de vêlage	10
d. État sanitaire	

3.2 Facteurs extrinsèques	
a. Alimentation	
b. Saison et climat	11
4. Caractéristiques organoleptique	
4.1 Qualité organoleptique	
4.2 Examen organoleptique	12
5. Caractéristiques physico-chimique	
5.1 La densité du lait	
5.2 Le pH du lait	
5.3 L'acidité du lait	13
6. Caractéristiques microbiologique	
6.1 Contamination initiale	14
6.2 Microflore lactique du lait	
6.3 Source de contamination	
6.4 Principales activités des micro-organismes dans le lait	15
7. Traitement du lait et transformation	
Chapitre II : L'aptitude fermentaire du lait cru de vache	17
Introduction	
1. Aptitude à la coagulation du Lait	
2. Rendement fromagers	21
Etude expérimentale	
I. Matériels et Méthodes	23
1. Echantillonnage	
1.1 Prélèvement du lait	24
1.2 Techniques de prélèvement	
1.3 Milieux de cultures utilisés	
2. Analyses physico-chimique du lait cru de vache	25
2.1 Mesure du pH	

2.2 Détermination de la densité du lait	26
2.3 Détermination de l'acidité titrable	27
2.4 Détermination de la teneur en matière grasse	28
2.5 Détermination du taux d'extrait sec	29
2.6 Détermination du taux de cendre	30
3. Analyses microbiologiques : Caractérisation bactériologique du lait cru	
3.1 Préparation des échantillons	
3.1.1 Prise d'essai	
3.1.2 Les produits liquides	31
3.2 Recherche et dénombrement bactériologique	32
3.2.1 Recherche et dénombrement des flores aérobies mésophile totaux à 30°C	
3.2.2 Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide)	33
3.2.3 Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito réducteurs	34
3.2.4 Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus	35
3.2.5 Recherche de Salmonella	36
4. Processus de fabrication du fromage frais lactique à partir de lait de vache)	37
4.1 Transformation du lait en fromage	38
4.1.1 Pasteurisation à 72°C pendant 15 secondes	
4.1.2 Coagulation du lait	39
a. Coagulation par ferment commerciale (Danisco)	
b. Coagulation par emprésurage	40
4.1.3 Décaillage	41
4.1.4 Egouttage	
4.1.5 Retournement	42
4.1.6 Démoulage	
4.2 Les analyses physico-chimiques des différents fromages fabriqués	44
4.2.1 Détermination du poids	
4.2.2 Détermination du pH des échantillons de fromage	
4.2.3 Détermination de l'acidité titrable des échantillons de fromage	45

4.2.4 Détermination de l'extrait sec des échantillons de fromage	46
4.2.5 Détermination du taux de cendre	
4.2.6 Détermination du taux d'humidité	
4.2.7 Détermination du rendement fromager	
II. Résultats et Discussions	48
A. Résultats	
1. Résultats des analyses physico-chimiques de lait cru de vache	
2. Résultats des analyses bactériologiques de lait cru de vache	52
2.1 Recherche et dénombrement des flores aérobies mésophile totaux à 30°C	
2.2 Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide)	53
2.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux	54
2.2.2 Recherche et dénombrement des coliformes fécaux	
2.3 Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito réducteurs	56
2.4 Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus	
2.5 Recherche de Salmonella	58
3. Résultats des analyses physico-chimiques des fromages	60
B. Discussions générale des différents résultats	65
1. Discussion des résultats d'analyses physico-chimiques de lait cru de vache	
2. Discussion des résultats d'analyses bactériologiques de lait cru de vache	67
3. Discussion des résultats d'analyses physico-chimiques des fromages	68
Conclusion générale	70
Références bibliographiques	
Annexes	

Remerciements

Avant tout, nous remercions le tout puissant ALLAH, de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance en premier lieu au Pr **CHEMMAM Mabrouk**, notre encadreur de mémoire, que nous remercions vivement de nous avoir accompagné, soutenu et encouragé tout au long de ce mémoire et de nos études.

Votre rigueur et votre savoir nous ont guidés au fil de l'avancement de ce travail. Nous vous serions infiniment reconnaissant de votre extrême gentillesse, du temps que vous nous avez consacré, de votre patience et de vos Conseils toujours avisés, que vous nous avez donnés.

Il serait ingrat de notre part d'oublier **l'ensemble du corps professoral** ainsi que **l'ensemble du personnel de la faculté des sciences de la nature et de la vie**, pour l'aide qu'ils nous ont apporté durant notre cursus, nous les Remercions chaleureusement.

Nous exprimons notre sincère gratitude aux membres du jury :

Monsieur **BOUDALIA Sofiane** qui nous a fait honneur de présider le jury de ce mémoire ce Travail.

Madame **LEKSIR Choubaila** qui a accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également à monsieur **TADJINE Dahmane** pour son aide et son soutien tant moral que matériel

Nous exprimons également notre reconnaissance à tout ceux et toutes celles qui nous ont entouré et soutenu tout au long de nos études et pendant l'élaboration de ce mémoire notamment l'ensemble des **étudiants étrangers de Guelm** votre aide tant précieuse que nécessaire nous a permis de mener à bien ce travail.

DAGAMAISSA Mariam/DIAWARA Awa

Dédicaces

Avec fierté et gratitude, nous dédions ce travail :

A nos **très chers et gracieux parents** :

- ❖ Nos pères : **Mr DAGAMAISSA Hamadoun** et **Mr DIAWARA Assana**, un grand merci pour Votre soutien tant moral que matériel, pour votre encouragement tout au long de notre scolarité, pour votre patience et surtout pour vos qualités humaines.
- ❖ Nos mères : **Mme DAGAMAISSA Aoua SANGHO** et **Mme DIAWARA Safiatou CISSE** un grand merci pour votre immense amour, votre grande tendresse, votre compréhension et votre dévouement. Merci à vous d'avoir toujours cru en nous.

Mais également à l'endroit de :

- ❖ Nos très chers frères et sœurs: **DAGAMAISSA Alassane et Aminata ; DIAWARA Oumou, Fatoumata et Zeinabou** qui nous ont toujours encouragé et soutenu et pour qui nous avons toujours eu le devoir d'être des exemples
- ❖ Tous les membres de **nos familles respectives**

Pour terminer, à **tous nos amis**, et à **tous ceux** qui nous ont aidés, d'une façon ou d'une autre, durant la rédaction de ce mémoire.

Liste des abréviations

- Ai** : La fermeté du caillé initiale
- As** : La fermeté du caillé standardisé
- BLVB**: Gélose Lactosée Biliée au Vert Brillant
- CO₂**: Dioxyde de Carbone
- EPT**: Eau Peptonée Tamponnée
- EST** : Extrait sec total
- FAO**: Food and Agriculture Organization
- FMAT**: Flore Mésophile Aérobie Totale
- Ind**: Indice
- ISO**: International Organization for Standardization
- JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne
- Ki** : Le temps de raffermissement initial
- Ks** : Le temps de raffermissement standardisé
- MS** : Matière sèche
- NPN**: Azote Non Protéique
- NCN**: Azote Non Caséiniques
- PCA**: Plate Count Agar
- R** : Rendement
- Ri**: Le temps de prise initiale
- Rs** : Le temps de prise standardisé
- TSE** : Tryptone Sel Eau
- UHT**: Ultra Haute Température
- VF** : Viande Foie

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition moyenne du lait de vache (g/l)	4
Tableau 2. Caractéristiques moyennes des résultats d'aptitude à la coagulation	19
Tableau 3. Liaison entre les paramètres biochimiques et les paramètres d'aptitude à la coagulation au ph initial du lait	19
Tableau 4. Liaison entre les paramètres biochimiques et les paramètres d'aptitude à la coagulation au ph standardisé (6,6 ou 6,5) du lait	21
Tableau 5. Echantillonnage des laits de fermes	23
Tableau 6. Résultats de la moyenne des paramètres physico-chimique des laits de fermes	51
Tableau 7. Dénombrement de la FMAT des laits crus dans les différentes fermes	52
Tableau 8. Dénombrement des coliformes totaux des laits crus des différentes fermes	54
Tableau 9. Dénombrement des coliformes fécaux des laits crus des différentes fermes	55
Tableau 10. Dénombrement des clostridiiums sulfite réducteurs	56
Tableau 11. Identification des bactéries contaminant	58
Tableau 12. Bactéries recherchés dans le lait cru des fermes (UFC/ml)	59
Tableau 13. Résultats des analyses physico-chimiques des cinq échantillons de fromage	60
Tableau 14. Les étapes de fabrication des 5 fromages avec leurs paramètres physico-chimiques	63

Liste des figures

Figure 1. Carte de la Wilaya de Guelma	24
Figure 2. Schéma de fabrication du fromage frais lactique de vache	45
Figure 3. Histogramme de la moyenne du pH des laits de ferme	48
Figure 4. Histogramme de la moyenne d'acidité titrable des laits de ferme	49
Figure 5. Histogramme de la densité moyenne des laits de ferme	49
Figure 6. Histogramme du taux d'extrait sec total des laits de ferme	50
Figure 7. Histogramme du taux de cendre des laits de ferme	50
Figure 8. Histogramme du Taux de matière grasse des laits de fermes	51
Figure 9. Taux de flore mésophile aérobie totale sur milieu PCA à 30 °C	53
Figure 10. Taux de coliformes totaux	54
Figure 11. Taux de coliformes fécaux	55
Figure 12. Les histogrammes des paramètres physico-chimiques des différents fromages	62
Figure 13. Histogramme du rendement fromager des fermes	69

Liste des Photos

Photo 1. Détermination du pH et de la température	26
Photo 2. Détermination de la densité avec le lactodensimètre	27
Photo 3. Détermination de l'acidité titrable	28
Photo 4. La phase de pasteurisation du lait	38
Photo 5. La phase de coagulation du lait	39
Photo 6. Présentation d'un ferment commercial (DANISCO)	40
Photo 7. Présentation de la présure utilisée	40
Photo 8. La phase de décaillage	41
Photo 9. La phase d'égouttage	42
Photo 10. Présentation des fromages après démoulage	42
Photo 11. Détermination du pH du fromage	44
Photo 12. Détermination de l'acidité titrable du fromage	45
Photo 13. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale sur milieu PCA	52
Photo 14. Dénombrement des coliformes totaux	53
Photo 15. Dénombrement des coliformes fécaux	55
Photo 16. Dénombrement de clostridium	56
Photo 17. Dénombrement des Staphylococcus aureus	57
Photo 18. Identification par la galerie Api 20 Staph	57
Photo 19. Dénombrement de salmonelle	58

Liste des annexes

Annexes 1. Milieux de cultures

Annexes 2. Recherche du NPP (Nombre le plus probable) avec la Table de Mac Grady

Annexes 3. Resultat des Plaques API 20 Staph

Annexes 4. Lecture de la galerie miniaturisée API staphylocoque

Résumé

Le lait ainsi que ses dérivés tels que les fromages sont des produits facilement périssables, leur pollution révèle des pratiques d'hygiène douteuses, que même les conditions de réfrigération optimales, ne peuvent en aucun cas les masquer. Ils sont susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine lors de la mise sur le marché.

Le fromage est un produit laitier, riche en protéines, sa fabrication nécessite un lait de bonne qualité avec des paramètres physico-chimiques et bactériologiques adéquats et satisfaisants.

De ce fait nous avons procédé au cours de nos essais pratiques à l'analyse des paramètres physico-chimiques et bactériologiques.

L'analyse physico-chimique montre que le lait des 25 échantillons présente en moyenne un pH de $6,713 \pm 0,094$, une acidité Dornic de $17,680 D^{\circ} \pm 0,988$, une densité de $1,031 \pm 0,002$, un taux de matière sèche de $12,932\% \pm 1,544$, un taux de cendre de $0,627\% \pm 0,082$ taux butyreux de $32,23\% \pm 7,64$.

L'analyse bactériologique est portée sur 3 fermes la F1, F4 et la F5 dont les résultats ont présenté une moyenne de $3,1.10^8$ pour la FMAT, pour les coliformes totaux une moyenne $0,1.10^1$, nous avons la présence des coliformes fécaux ($0,3.10^1$) dans la F1 et une absence dans la F4, F5, il existe d'une manière non significative les clostridium sulfite-réducteur dans la F1 et une absence totale dans la F4 et la F5, une absence totale de staphylocoque Aureus et des salmonelles

Mots clés : Lait, Fromage, Analyse, physico-chimie, Bactériologie, Fabrication.

الملخص :

الحليب ومشتقاته مثل الأجبان هي منتجات قابلة للتلف بسهولة ، ويكشف تلوثها عن ممارسات صحية مشكوك فيها ، حتى ظروف التبريد المثلى لا يمكن أن تحجبها بأي حال من الأحوال. وقد تشكل خطرا على صحة الإنسان عند وضعها في السوق.

الجبين أحد مشتقات الحليب غني بالبروتينات و انتاجه يتطلب نوعية جيدة من الحليب مع العوامل فيزيوكيميائية و البكتريولوجية اللازمة و الكافية

و من هذا بدأنا تجاربنا الميدانية بتحليل الخصائص الفيزيوكيميائية و البكتريولوجية

التحليل الفيزيوكيميائي ل 25 عينة من الحليب أظهرت في المتوسط :

PH: 6.713 ± 0.094 ، حمض دورنيك: 17.80 ± 0.988 ، الكثافة: 1.031 ± 0.002 ، معدل المواد الجافة:

12.932 ± 1.544 % ،معدل الرماد: 0.627 ± 0.082 % معدل الدهون : 32.23 ± 7.64 %

التحليل البكتيريولوجي الذي أجريه على 3 مزارع م 1، م 4، م 5 اعطت نتائجها في المتوسط 3.1

FMAT⁸ 10x ، ومجموع القلونييات متوسط 10x 0.1¹ مع تواجد براز القلونييات (10x 0.1¹) في

م 1 و غيابها في م 4 ، م 5 و هناك تواجد غير مبرر كلوستريديم الكبريت المخفض في المزرعة م 1 و

غياب كامل في م 4، م 5، و غياب كامل للمكورات العنقودية الذهبية والسالمونيلا

الكلمات المفتاحية :

الحليب، الجبن، تحليل، فيزيوكيميائية، البكتريولوجية، تصنيع

Abstract

Milk and its derivatives such as cheese are easily perishable products, their pollution reveals practices of dubious hygiene that even optimal refrigeration conditions, can not in any case hide them. They may pose a risk to human health when placed on the market.

Cheese is a dairy product, rich in proteins, its manufacture requires a good quality milk with adequate physicochemical and bacteriological parameters and satisfactory.

As a result, during our practical tests, we analyzed the physicochemical and bacteriological parameters.

The physicochemical analysis shows that the milk of the samples has on average a pH of 6.713 ± 0.094 , a Dornic acidity of $17.680^\circ \pm 0.988$, a density of 1.031 ± 0.002 , a dry matter content of $12.932\% \pm 1.544$, an ash content of $0.627\% \pm 0.082$ butyl content of $32.23\% \pm 7.64$.

The bacteriological analysis is carried out on 3 farms la F1, F4 and F5 whose results presented an average of $3.1 \cdot 10^8$ for the FMAT, for the total coliforms an average $0.1 \cdot 10^1$, we have the presence of faecal coliforms ($0.3 \cdot 10^1$) in F1 and an absence in F4, F5, there is a non-significant clostridium sulphite-reducer in F1 and a complete absence in F4 and F5, a total absence of Staphylococcus aureus and salmonella

Key words: Milk, Cheese, Analysis, Physical Chemistry, Bacteriology, Manufacturing

Introduction générale

Dans la plupart des pays africains, il y a une augmentation considérable de la demande en protéines animales. Les principaux facteurs de ces changements sont la croissance démographique, l'urbanisation massive, l'accroissement des revenus et la modification des habitudes alimentaires. Le lait des ruminants domestiques constitue l'une des sources de protéines les plus accessibles. Il joue un rôle important non seulement sur le plan nutritionnel, mais également sur le plan économique et socio-culturel. Dans les villages les plus reculés et qui pratiquent l'élevage, les éleveurs produisent du lait en abondance pendant les périodes de haute lactation. Faute de moyens de conservation, ils se trouvent parfois obligés de jeter l'excès de lait. Étant donné que celui-ci est une denrée rapidement périssable, l'essentiel de la production doit être transformé. La méthode de conservation la plus simple est de le transformer en fromage. Ce dernier, de par sa richesse en protéines de bonne qualité, en calcium et en vitamines, constitue un aliment de haute qualité nutritionnelle.

Bien que les microorganismes soient le principal facteur de dégradation du lait, ils sont historiquement utilisés pour sa transformation et sa conservation. La fermentation des produits alimentaires comme le lait est employée depuis l'antiquité en Afrique, Asie et Europe, les premiers laits fermentés étant apparus au Moyen Orient aux alentours du XV et X^{ème} millénaire. Ainsi, la flore microbienne du lait a très tôt été sollicitée pour ses aptitudes acidifiantes et son implication dans la formation du goût, des arômes et de la texture de nombreux produits laitiers, dont les fromages. La fermentation est un phénomène naturel, se produisant lors de la décomposition de la matière organique. Par ailleurs, l'utilisation de la fermentation par l'homme a débuté de manière empirique. Elle était utilisée initialement pour conserver les denrées comme le lait et les dérivés laitiers.

1. Problématique

Le fromage naturel a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation du lait très ancienne puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère en basse Mésopotamie. Source précieuse de protéines, le fromage a été l'un des premiers moyens de conservation du lait, matière première rapidement périssable. Cependant, la coagulation du lait et

l'égouttage du caillé qui en résulte n'offrent qu'une stabilité relative et variable selon les fromages qui sont des produits laitiers « vivants ».

A partir de l'ensemble de ces observations, la problématique centrale peut être formulée de la manière suivante :

« Connaitre et déceler l'impact des caractéristiques physico-chimique et bactériologique sur un Fromage frais lactiques produit à partir de lait de vache ».

2. Objectif de l'étude

Le présent travail vise une meilleure connaissance de la composition des fromages frais lactiques, de ce fait nous avons comme objectif :

- ✓ La réalisation d'analyse physico-chimique sur le lait destinée à la transformation fromagère ;
- ✓ La réalisation d'analyse microbiologique sur le lait destinée à la transformation fromagère ;
- ✓ Obtenir un bon fromage frais lactique avec une bonne caractéristique nutritionnelle et organoleptique.

Etude bibliographique**Chapitre I : Le lait cru de vache****Introduction**

Le lait cru désigne un lait animal brut, qui n'a pas subi de pasteurisation, de stérilisation, de thermisation, de microfiltration, d'ultrafiltration. Un lait cru n'a jamais excédé la température de 40 degrés Celsius, c'est-à-dire proche de la température du corps de l'animal.

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, mais facilement périssable et difficile à conserver, où sa transformation en produit laitier qui lui permet une conservation de longue durée (**Bencherif, 2001**).

Le lait cru est rare dans de nombreux pays où la production laitière est insuffisante. La technique de reconstitution représente ainsi une solution pour offrir un produit proche du lait frais.

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH, voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les micro-organismes et les enzymes. Sa richesse et sa fragilité en font un milieu idéal, où de nombreux micro-organismes comme les moisissures, les levures et les bactéries se reproduisent très vite. Ses vitamines et ses matières grasses peuvent se transformer sous l'influence de la lumière, de l'oxygène, et de la température (**Luquet, 1985**).

Ce chapitre consiste à l'évaluation de quelques paramètres physico-chimiques et microbiologiques du lait cru issue de la traite des vaches de la région de Guelma (Algérie) dans le but d'assurer aux consommateurs un produit sain et de qualité supérieure .

1. Définition

Le lait destinée à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraude : « le lait est le produit intégrale de la traite totale et ininterrompu d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée .Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (**Achezegag et al. 2008**).

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction Il est destinée à la consommation ou à un traitement ultérieur (**FAO, 1998**).

Le lait est un aliment de couleur généralement blanchâtre produit par les mammifères femelles (**Kechaoui, 2013**).

2. La composition du lait

Les principales compositions du lait sont : **Les lipides** (triglycérides), **les protéines** (caséines, albumines, globulines), **les glucides** essentiellement le lactose, **les sels** (sels d'acide phosphorique, sels d'acide chlorhydrique, etc....) (**Larpen, 1997**).

Le lait de vache est un lait caséineux, sa composition générale est représentée au (**Tableau 1**).

Tableau 1. Composition moyenne du lait de vache (g/l) (Mathieu, 1998)

Constituant du lait	Teneur en gramme par litre
Eau	90,2
Sels	9
Glucides (Lactose)	49
Matière grasse	39
Lipides	38
Phospholipides	0,5
Composés liposolubles	0,5
Protéines	32,7
Caséines	28
Protéines dites solubles	4,7
Constituants azotés non protéiques	0,3
Autres constituants (Vitamines, gaz dissous, enzymes)	Traces

Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : **race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite**. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (**Roudaut et Lefranc, 2005**).

Le lait contient également des anticorps, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques (**Vilain, 2010**).

a. L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elles, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (**Mathieu, 1998**).

b. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (**Luquet, 1985**). Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (**Goursaud, 1985**).

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (**Boutonnier, 2008**).

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion.

Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de saveurs indésirables (rancidité-oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation.

c. Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (**Goursaud, 1985**). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles :

- ✓ Alpha-caséines ou caséines α_1 36 % et α_2 10 %
- ✓ Bêta-caséine ou caséine β 34 %
- ✓ Kappa-caséine ou caséine κ 13 %
- ✓ Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux.

La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (**Cayot et Lorient, 1998**).

La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (**Marchin, 2007**).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés.

L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (**Cayot et Lorient, 1998**).

d. Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (**Luquet, 1985**) :



Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (**Morrissey, 1995**).

Fermentation lactique : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyl) responsables de l'arôme des produits laitiers (**Gordon et Loisel, 1991**).

Fermentation propionique : due aux bactéries propionique qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la saveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (**Luquet, 1985**).

Fermentation butyrique : par des bactéries du genre Clostridium qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

Fermentation alcoolique : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés (**Alais, 1975**).

e. Matière minérale

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (**Luquet, 1985**).

Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement bio disponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (**Mathieu, 1998**).

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment **au pH, à la température**, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) **du lait de vache (voisin de 1,2)**, bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de

loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (FAO, 1995).

f. Biocatalyseurs

✓ Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (Blanc, 1982 ; Pougheon, 2001).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescent*, synthétise des protéases exo cellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (Miranda et Gripon, 1986).

Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme). Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylsterase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001).

✓ Vitamines

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait et les vitamines liposolubles (**vitamines A, D, E, et K**) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (**Debry, 2001**).

3. La variabilité de la composition du lait

Le lait qui arrive à l'usine, constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe. Ce caractère rend donc l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits finis.

Deux grands types de variation existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (**Stoll, 2003**).

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

3.1 Facteurs intrinsèque

a. Facteurs génétiques

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (**Veisseyre, 1979**). **Jakob et Hänni** en **2004**, notent l'existence de variantes génétiques A et B issus des mutations ponctuelles. Ces derniers donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variantes génétiques des protéines du lait, notamment ceux de la caséine κ (κ -Cn) et de la β -lactoglobuline (β -Lg), influencent la composition du lait et certains critères de productivité des vaches.

b. Stade de lactation

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite.

Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois.

Ils amorcent ensuite une remontée jusqu'au tarissement. L'amplitude de variation est généralement plus importante pour le taux butyreux que pour le taux protéique.

Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (**Meyer et Denis, 1999**).

c. Age et nombre de vêlage

Veisseyre en 1979, montre que la quantité de lait augmente généralement du 1^{er} vêlage au 5^{eme}, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7^{eme}.

Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. Ces variations dans la composition sont attribuées à la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croît et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang (**Mathieu, 1985**).

d. Etat sanitaire

Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait (**Badinand, 1994**).

Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers.

Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager (**Toureau et al. 2004**).

3.2 Facteurs extrinsèques

a. Alimentation

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, selon **Coulon et Hoden en (1991)**, le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés

(lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (**finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments**).

b. Saison et climat

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (**Coulon et al, 1991**).

A partir des travaux réalisés par **Spike et Freeman en (1967)** cité par **Coulon et al. en (1991)**, il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent 3g/Kg pour le taux butyreux et près de 2g/Kg pour le taux protéique.

Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (**Walter, 1988**).

4. Les caractéristiques organoleptiques du lait

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (**Cniel, 2006**).

4.1 Qualité organoleptique

La qualité organoleptique d'un produit se dégrade au fil du temps, la durée de stockage, la température et leur action combinée affectent considérablement les attributs sensoriels totaux.

Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques typiques qui concernent la couleur, l'odeur, la saveur, la viscosité etc.

4.2 Examen organoleptique

Lorsqu'il achète un produit laitier, le consommateur base son choix sur les critères de qualité suivants : la saveur, l'apparence, la durée de conservation, la valeur nutritive et l'innocuité. Les changements dans la qualité sensorielle sont également à prendre en compte.

L'examen organoleptique est essentiel pour apprécier les qualités de tous les produits, et s'avère le critère le plus fiable.

5. Les caractéristiques physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par **sa densité, son pH et son acidité**. Sur le plan physique, c'est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses).

Son pH est compris entre **6.5 et 6.8** pour le lait de vache ;

L'acidité du lait augmente avec le temps suite à la transformation du lactose en acide lactique. Cette acidité permet d'avoir un indicateur du degré de conservation (**Dillon, 2008 ; Hebboul et al. 2005**).

5.1 La densité du lait

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C.

5.2 Le pH du lait

Le pH du lait de vache est proche de la neutralité, comprise entre 6,5 et 6,8.

En moyenne 6,7 plus ou moins, il s'agit d'un paramètre qui montre le phénomène de fraîcheur, Il mesure la concentration des ions H⁺ en solution.

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrable différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (**Dieng, 2001**).

5.3 L'acidité du lait

Elle est exprimée en Degré Dornic °D (Unité de mesure) ; 1°D = 0,1 g/l c'est-à-dire pour 1,8 d'acidité Dornic on a $1,8 \times 10 = 18$ °D. On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine.

L'acidité Dornic est la résultante de l'acidité naturelle du lait (liée à sa richesse en protéines et minéraux) à laquelle vient s'ajouter l'acidité développée (grâce à l'action des ferments lactiques qui transforment le lactose du lait en acide lactique). C'est un indicateur du degré de conservation du lait.

6. Les caractéristiques microbiologiques du lait

Le lait et les produits laitiers peuvent contenir des micro-organismes pathogènes pour l'homme et être des agents de transmission de maladies contagieuses. Ces germes dont les origines sont variées (mamelle, environnement, homme... etc.) peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaire en infectant l'organisme des consommateurs, **(Jeantet et al. 2008)**.

Les micro-organismes du lait sont répartis, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore de contamination.

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus* et *Lactobacillus*).

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « Lacténines » mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) **(Guiraud, 1998)**.

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire.

6.1 Contamination initiale

Les microorganismes interviennent par leur nombre. En effet lorsque le nombre de germe est élevé, la phase de latence est courte et l'espèce prédominante s'impose par la loi du plus grand nombre.

6.2 Microflore lactique du lait

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH.

Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes (**Alais, 1984 ; Claude et Champagne, 1998**). L'ensemble de ces caractères précieux permet aux bactéries lactiques un développement plus rapide que les espèces considérées comme nuisibles.

Très peu d'espèces résistent à la pasteurisation basse (63°C pendant 30mn). Elles produisent des substances inhibitrices et antibiotiques qui sélectionnent les bactéries non lactiques au profil des bactéries lactiques.

Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* (**Luquet et Corrieu, 2005**).

6.3 Source de contamination

Le lait est généralement contaminé par une grande variété de microorganismes d'origine diverses. Cette contamination peut provenir de l'animal (intérieur ou extérieur de la mamelle), de l'environnement où se fait la traite (sol, atmosphère, eau ...) et du matériel servant à la collecte du lait (machines à traire, filtre, récipients divers) mais aussi de l'homme.

Certains microorganismes peuvent présenter un danger pour le consommateur du lait cru ou de produits fabriqués avec du lait cru. D'autres sont seulement des agents

d'altération de ces produits ; ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirables (**Richard, 1990 et Guiraud, 1998**).

6.4 Principales activités des micro-organismes dans le lait

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Parmi ces activités on peut citer l'acidification, la protéolyse, la lipolyse, la production de gaz.

L'acidification : c'est une production d'acide lactique à partir du lactose par les ferments lactiques lors de leur croissance.

La protéolyse : c'est la dégradation des protéines du lait avec formation de peptides dont certains donnent des mauvais goûts aux produits laitiers.

La lipolyse : c'est la libération d'acides gras à partir des triglycérides du lait, entraînant un goût de rance.

La production de gaz : certaines bactéries (hétéro fermentaires, bactéries telluriques) au cours de leur croissance produisent des gaz. Dans le cas de certains fromages on peut assister à l'apparition d'un défaut d'aspect, dû à la production de gaz, associé ou non à un défaut de goût.

Enfin, certains microorganismes ne semblent pas présenter les inconvénients cités plus haut. Leur présence en grand nombre dans le lait est toutefois l'indication d'une mauvaise hygiène générale au stade de la production du lait. Ces microorganismes peuvent être considérés comme « indicateurs » d'une hygiène défectueuse.

7. Traitement et transformation du lait

Compte tenu de son caractère très périssable, le lait subit de nombreux traitements ayant pour but de prolonger sa durée de conservation et d'éliminer tout risque avec la santé du consommateur.

Il existe deux types de traitement thermique : la stérilisation et la pasteurisation.

La stérilisation se fait à une température supérieure à 100°C. Elle a pour but de détruire l'ensemble des germes. Pour la stérilisation du lait commercialisé UHT (Ultra High

Température), la méthode vise la réduction du nombre de germes thermophiles par un facteur de 10^9 afin de prévoir une marge de sécurité.

La pasteurisation se fait à température inférieure à 100°C et ne vise à détruire que les germes pathogènes présents sous forme végétative. La pasteurisation est couplée à la réfrigération afin de stabiliser le produit.

La destruction des microorganismes est fonction donc de deux paramètres : la température et la durée du traitement (**Alais, 1984 et Vignola, 2002**).

Le lait peut être transformé, par des actions enzymatiques ou microbiennes, en produits ayant acquis de nouvelles qualités alimentaires et organoleptiques et présentant une conservation accrue (**Guiraud, 1998**).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait cru qui constitue, pour elles un excellent substrat nutritifs.

Au cours de leurs multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz, des substances aromatiques, de l'acide lactiques, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsable de pathologie chez l'homme (**Anonyme, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al. 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

Chapitre II : Aptitude fermentaire

Introduction

L'aptitude fermentaire du lait à la coagulation est un des facteurs déterminants de la quantité de fromage produite et de sa qualité. Elle dépend en partie de la composition chimique du lait, dont les principaux facteurs de variations ont été largement étudiés (**Sutton 1989, Hoden et Coulon 1991**). Elle dépend aussi de facteurs génétiques (race et/ou variantes génétiques des protéines) (**Gros Claude 1988, Aleandri et al 1990**). Si l'on connaît assez bien les relations entre les principaux critères de l'aptitude fermentaire à la coagulation du lait (temps de coagulation, fermeté du gel et temps de raffermissement) et sa composition chimique (**Remeuf et al 1989, Vertès et al 1989**), l'effet spécifique des facteurs de production (en particulier de l'alimentation) et leurs interactions avec les facteurs génétiques ou saisonniers n'a fait l'objet que de peu de travaux (**Grandison et al 1985, Vertès et Hoden 1989, Laurent et al 1992**).

Aujourd'hui, les consommateurs recherchent des produits de meilleure qualité, plus typés dont l'origine est connue et présentant une bonne image quant aux méthodes de production en rapport avec l'environnement et le bien-être des animaux. La qualité des laits et des produits laitiers représente en fait une notion complexe, non seulement parce qu'elle possède plusieurs dimensions telles que le goût, l'odeur, l'arôme, la texture, la valeur hygiénique et la valeur nutritive pour l'homme, mais aussi parce que la notion de qualité se pose différemment selon les points de vue (producteur, transformateur, distributeur, consommateur) et le type de transformation. Ainsi, les exigences des transformateurs, qui ont des exigences vis à vis de la qualité des laits en dépendent fonction du produit visé, et ils pourraient aussi valoriser directement certaines propriétés des laits ou, au contraire, ajuster les conditions de fabrication aux caractéristiques des laits

1. Aptitude à la coagulation du Lait

La coagulation du lait par la présure et/ou par acidification est la première étape de la fabrication d'un fromage qui peut être considéré comme le résultat d'un processus dans lequel la caséine et les matières grasses sont concentrées après élimination du lactosérum. Pour le fromager, le comportement du lait lors de la

coagulation joue un rôle important sur le bon déroulement des étapes ultérieures de la fabrication fromagère (**Martin et Coulon, 1995**). La mesure de l'aptitude à la coagulation permet de caractériser le comportement du lait lors de la mise en place de la formation du gel. Celle-ci peut être mesurée à l'aide d'un **Formagraph** qui est un viscosimètre de torsion composé d'un ensemble de 10 cuves de 10 ml. Dans chaque cuve, plonge un anneau relié à un miroir qui réfléchit un rayon lumineux sur un papier photosensible.

Les cuves sont animées d'un mouvement oscillatoire de faible amplitude (4"45'). A la fin de chaque oscillation du support, y a une émission périodique d'un flash lumineux. A l'état liquide, l'anneau n'est pas entraîné; lorsque la coagulation débute, l'anneau se trouve progressivement entraîné et le spot lumineux réfléchi par le miroir trace une courbe en forme de diapason sur le papier photosensible. Cet appareil permet de mesurer :

- ✓ Le temps de prise (R en min),
- ✓ 2) Le temps de raffermissement (K20 en min) qui correspond au temps nécessaire pour obtenir un écartement de 20 mm entre les 2 branches du tracé et qui représente l'inverse de la vitesse d'organisation du gel
- ✓ et enfin 3) la fermeté du caillé (A30 ou Ar en mm) qui est obtenue par la distance entre les 2 branches du diapason après 30 min ou une fois le temps de prise . Cet appareil entièrement manuel a souvent été remplacé par d'autres-techniques. Toutefois il reste utilisé en routine en Italie pour classer les laits avant leurs transformations en Parmigiano (**Zannoni et Annibaldi, 1981**) dans la mesure où les paramètres observés sont reliés au rendement fromager.

Ils ont recherché les relations entre ces les différents paramètres mesurés au Formagraph et la composition des laits à partir d'une base de données constituée des résultats de 12 essais .Neuf essais correspondaient à des études en lot (151 données) et 3 essais ont permis d'isoler le facteur individu (61 données). Sept essais testaient la complémentation azotée dont 5 la supplémentation en acides aminés protégés, quatre essais testaient la nature de l'énergie et l'essai considérait les interactions énergie x azote. Pour chaque essai, 11 paramètres biochimiques ont été mesurés (**Hurtaud et al, 1995**) : teneur en matières azotées et protéines totales, en caséines, rapport caséines sur protéines, matières azotées non protéiques (**NPN**), ou non caséiniques (**NCN**), teneur en calcium total, soluble et colloïdal,

teneur en lactose, teneur en matière sèche. L'aptitude à la coagulation des laits a été mesurée à leur pH initial (**Ri, K20i et A30i**) ou à un pH standardisé à **6,6** ou **6,5** avec de l'acide lactique (**Rs, K20s et A30s**) (**Tableau 2**). La mesure au pH initial était un reflet du représentait le comportement technologique du lait à la sortie de la mamelle alors que la mesure au pH standardisé symbolisait rendait plutôt compte du le comportement du lait en fromagerie après acidification.

Tableau 2. Caractéristiques moyennes des résultats d'aptitude à la coagulation

	Moyenne		Minimum		Maximum	
	Lots	Ind	Lots	Ind	Lots	Ind
Ri	18,8	17,3	12,1	8,5	30,7	27,2
k20i	9,5	8,2	4,7	3,1	25,4	22,6
A30i	25,1	30,7	1,7	1,2	4,8	52,5
Rs	15,4	11,7	10,0	5,0	23,1	21,2
k20s	7,3	5,6	3,1	2,5	15,4	12,2
a30s	34,8	43,2	7,5	22,0	58,0	58,7

Le pH initial du lait a un effet déterminant sur les 3 paramètres de coagulation bien que pour bien que pour le temps de raffermissement, ce ne soit ce ne soit pas le paramètre statistiquement le plus significatif (**Tableau 3**). La teneur en calcium colloïdale intervient dans le début de la coagulation (Ri), puis et la teneur en caséines joue un rôle primordial dans la mise en place du gel (K20 et A30). Aucun autre paramètre biochimique mesuré n'a d'influence significative sur le début de la coagulation à pH initial.

Tableau 3. Liaison entre les paramètres biochimiques et les paramètres d'aptitude à la coagulation au ph initial du lait

	Effet teneur en caséines	Effet Ph initiale	R ²	Pente de la droite de régression (données corrigées)
Lots				
Ri	-	< 0,001	0,67	50,6
K20i	< 0,001	-	0,51	-0,59
A30i	-	< 0,001	0,61	-130,8
Individus				
Ri	-	< 0,001	0,63	46,9
K20i	< 0,001	-	0,53	-0,61
A30i	-	< 0,001	0,60	-115,3

L'effet du pH sur le temps de prise et la fermeté avait déjà été décrit (**Storry et Ford, 1982 ; Okigbo et al, 1985 ; Remeuf et al, 1991 et Martin et Coulon, 1995**). Il pourrait refléter l'activation de la présure aux pH plus faibles. Le pH originel des laits pourrait aussi refléter certains aspects de leur composition : distribution du calcium et du phosphore entre les micelles de caséine et le sérum qui pourrait avoir un impact sur le temps de prise (**Grandison et al, 1984**). **Martin et Coulon (1995)** ont mis en évidence une relation linéaire entre la fermeté du gel mesurée à une fois le temps de prise (et non à 30 min) et la teneur en protéines fromageables ($f : 0,72$). La mesure de la fermeté à une fois le temps de prise ne serait plus reliée au pH initial du lait. L'ajustement du pH conduit en général à réduire les temps de prise et de raffermissement et à augmenter la fermeté (**Tableau 2**). A pH standardisé (**Tableau 4**), le temps de raffermissement et la fermeté du caillé sont essentiellement sous la dépendance de la teneur en caséine comme cela avait déjà été montré (**Marziali et Ng-Kwai-Hang, 1986 ; Remeuf et al, 1991**). Certains éléments de composition du lait comme la teneur en citrate peuvent influencer négativement sur ces paramètres (**Grandison et al, 1984**). Le temps de prise dépend du rapport Ca colloïdal/caséine ou plus simplement de la seule teneur en calcium colloïdal. Le sodium, minéral non mesuré lors de nos études, aurait un effet négatif sur ce paramètre (**Grandison et al, 1984**). La teneur en caséine a été dans tous les cas un prédicateur plus précis que la teneur en protéines totales. Les variantes génétiques des protéines (caséines ou protéines solubles) peuvent également avoir un impact sur l'aptitude à la coagulation. Sur des laits individuels à teneurs en caséines comparables, le variant B de la caséine K conduit à un gel plus ferme de 46 Ya par rapport au variant A (**Macheboeuf et al, 1993**). Sur des laits de troupeau où les écarts de variantes sont plus faibles, **Martin et Coulon (1995)** ont confirmé que, à la même teneur en protéines coagulables, les laits pour lesquels le variant B de la caséine K est plus fréquent conduisent à un gel plus ferme. De la même façon, le polymorphisme de la

b-lactoglobuline a un effet sur le temps de prise. L'ensemble de ces relations traduit à la fois les variations entre traitements et entre individus puisque les pentes varient peu entre les 2 types d'essai. Elles semblent aussi assez robustes en fonction du facteur initial de variation puisque les interactions de pente covariable-essai ne sont que rarement significatives.

Tableau 4. Liaison entre les paramètres biochimiques et les paramètres d'aptitude à la coagulation au ph standardisé (6,6 ou 6,5) du lait

	Effet teneur en caséine	Effet calcium colloïdal	R ²	Pente de la droite de régression (données corrigées)
Lots				
Rs	-	< 0,001	0,70	-0,008
K20s	< 0,001	-	0,60	-0,45
A30	< 0,001	-	0,59	1,49
Individus				
Rs	-	NS	0,67	0,45
K20s	< 0,001	-	0,61	-0,44
A30s	< 0,001	-	0,70	1,53

La mesure de l'aptitude à la coagulation avec le Formagraph présente certains biais. Un lait très riche en caséines et coagulant donc très vite présente des phases de rétraction (synérèse) avant les 30 min qui correspondent à la lecture de la fermeté. Dans ce cas, la mesure de la fermeté à 30 min est sous-estimée et il n'existe pas véritablement de moyens de correction. De plus, toutes les mesures sont manuelles et l'effet opérateur peut être important si la technique de mesure du tracé n'est pas définie correctement. Ce problème peut être partiellement résolu par l'utilisation d'un témoin interne (ils ont utilisé dans tous leurs essais un lait en poudre témoin) ou par l'utilisation de la version informatisée de l'appareil actuellement en vente sur le marché italien (Lattodynamographo, Foss Electric, Italie). Il existe également une des méthodes optiques équivalente (proche infra-rouge, Optigraph) ou une des méthodes thermiques (Coagulomètre SGT-INRA) pour la mesure du temps de prise et l'évaluation du temps de décaillage qui permettent de mesurer des paramètres de coagulation analogues (ces 2 appareils étant commercialisés par la société Ysebaert, France).

2. Rendement fromagers

Dans les procédés fromagers conventionnels s'il existe différentes façons d'exprimer le rendement fromager. Généralement, il exprime la quantité de fromage obtenue à partir d'une quantité donnée de lait, souvent 100L ou 100kg. Quelle que soit l'expression utilisée, il faut être prudent lorsque l'on fait des comparaisons de rendements. Les méthodes permettent de comparer des rendements pour des fromages ayant des

compositions identiques obtenus à partir de laits d'une même composition et de mettre en évidence l'incidence de la variabilité des composants du lait, seuls ou dans leur ensemble, sur le rendement. Il faut s'assurer d'un bilan pondéral correct de la transformation du lait en fromage pour valider le rendement. L'élément ayant la variabilité la plus importante dans la composition des fromages est la teneur en eau ; elle peut engendrer des écarts de rendement, ne permettant pas la comparaison de fabrications successives ou réalisées à partir de procédés différents.

Etude expérimentale

I. Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et la vie, durant la période de Mars à Mai ; dont l'objectif est de rechercher la propriété physico-chimique et la propreté hygiénique et microbiologique du lait cru.

Le but de travail

Le but de ce travail est de faire une étude sur les propriétés physico-chimiques de **25échantillons de lait** soit la détermination du pH, de la densité moyenne, de l'acidité titrable, du taux d'extrait sec, de la teneur en cendre, de la teneur en matière grasse, et de réaliser un contrôle microbiologique avec recherche de la propreté hygiénique sur les 3 échantillons ;

D'une manière spécifique il s'agira de rechercher et dénombrer les germes suivants: flores mésophiles aérobies totales (FMAT), coliformes totaux et coliformes fécaux, staphylocoques présumés pathogènes, clostridium sulfito-réducteur et de salmonelles.

1. Echantillonnage : présentation de la région d'étude wilaya de Guelma

Le lieu de la collecte est situé dans la wilaya de Guelma, **25échantillons** de lait cru de vache de deux races (**la race mixte et la race laitière**) collectés de manière aléatoire sont utilisés dans notre étude.

Tableau 5. Echantillonnage des laits de fermes

Echantillonnage	Communes
F1	Bouhegouf
F2	Ain Makhlouf
F3	Ain Makhlouf
F4	Ain Larbi
F5	Tamlouka



Figure 1. Carte de la Wilaya de Guelma

- ✓ Les laits de vache utilisés sont des laits crus entiers de petit mélange (5 à 15 femelles) de la race laitière : Pie noire et de la race mixte : pie rouge
- ✓ Le lait est utilisé principalement pour la commercialisation
- ✓ 25 échantillons collectés dans notre étude dont 5 échantillons par ferme.
- ✓ La collecte du lait s'est effectuée durant la période s'étalant du mois de mars au mois d'avril 2017.
- ✓ Type d'élevage semi intensif.

1.1 Prélèvement du lait

Tous les prélèvements de lait se sont déroulés dans les conditions optimales d'hygiène.

1.2 Techniques de prélèvement

Le lait a été prélevé puis transporté à l'aide d'une glacière contenant deux à trois outres de CO₂ ou carboglaces congelées pour le transport des échantillons.

1.3 Milieux de cultures utilisés (Annexes 1)

Il s'agit du matériel habituel des laboratoires de microbiologie alimentaire. Il peut être regroupé en quatre catégories : les milieux de cultures et les réactifs, le matériel de stérilisation, le matériel d'incubation, la verrerie et les instruments de prise d'essais. Pour les analyses microbiologiques, nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- ✓ Plate Count Agar (milieu PCA) pour les germes aérobies mésophiles.
- ✓ Milieux VBL + Cloche de Durham en tubes pour les coliformes totaux.
- ✓ Milieux Schubert + Cloche de Durham et réactif de Kovacs pour les coliformes fécaux.
- ✓ Chapman pour les staphylocoques.
- ✓ Milieux Viande foie (Liver Agar) pour l'identification de Clostridium sulfite-réducteur.
- ✓ Milieu riche Eau Peptonée Tamponnée (EPT) ; milieu Ectoène pour les salmonelles.

2. Les analyses physico-chimiques : caractérisation physico-chimique du lait cru

2.1 Mesure du pH

Juste après la traite, la température du lait est mesurée à l'aide d'un thermomètre. Dès l'arrivée des échantillons de lait cru au laboratoire, le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Avant d'entreprendre des mesures, l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet, puis rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier buvard.

Mode opératoire

- ✓ Homogénéiser l'échantillon et laisser reposer 10mn.
- ✓ Mettre 100 ml de lait dans le bécher.
- ✓ Mesurer le pH à 20°C.
- ✓ La mesure se fait par immersion du bout de l'électrode dans le lait.

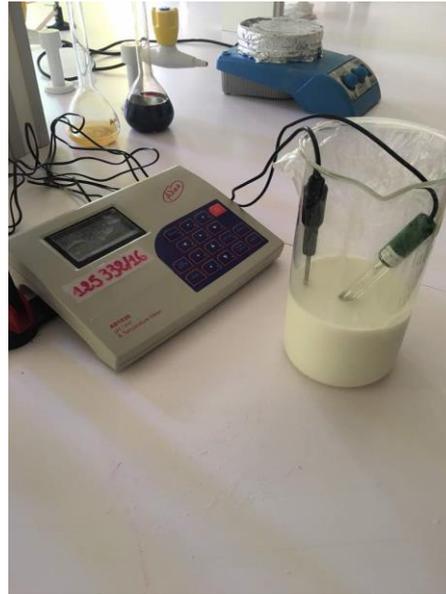


Photo 1. Détermination du pH et de la température

2.2 Détermination de la densité du lait

✓ **But**

Etude du mouillage du lait.

✓ **Principe**

La densité d'un liquide exprime le rapport entre la masse volumique de ce liquide et celle d'un même volume d'eau à 15 °C.

La densité est mesurée à l'aide d'un thermo-lactodensimètre.

Mode opératoire

- ✓ Homogénéiser l'échantillon 37-40°C puis le refroidir et le laisser au repos pendant 30mn environ dans une enceinte à 20°C afin de permettre à la température de se stabiliser.
- ✓ Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée pour éviter la formation de mousse, la remplir complètement (**Voir Photo 2**).
- ✓ Plonger doucement le lactodensimètre dans l'axe de l'éprouvette et en la retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre.
- ✓ Imprimer un léger mouvement de rotation.
- ✓ Après une minute, noter la température et lire la densité au sommet du ménisque, l'œil étant placé perpendiculairement à l'axe du densimètre et au niveau du sommet du ménisque pour éviter toute erreur.



Photo 2. Détermination de la densité avec le lactodensimètre

2.3 Détermination de l'acidité titrable

✓ **But**

Dosage de l'acide lactique par la soude NaOH

✓ **Principe**

Le titrage de l'acidité du lait se fait par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

Mode opératoire

- ✓ Introduire 10ml de l'échantillon pour essai dans un bécher de 100ml.
- ✓ Ajouter 3 à 4 gouttes de solution de phénolphtaléine.
- ✓ Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1N jusqu'au début du virage au rose (**voir Photo 3**).

On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes.

- ✓ La lecture de la chute de la burette est faite. Nous avons exprimé le résultat en degré Dornic (°D).



Photo 3. Détermination de l'acidité titrable

2.4 Détermination de la teneur en matière grasse

Le taux de matière grasse est un paramètre important dans la détermination de l'aptitude à la transformation fromagère d'un lait. Il est déterminé par la méthode acido-butyrométrique de Gerber.

✓ Principe

Mesure de la matière grasse par désagrégation des protéines par centrifugation. Après ajout d'alcool iso-amylique et centrifugation, les gouttelettes de graisse qui se réunissent en une couche claire sont évalués quantitativement grâce à une échelle adéquate.

Mode opératoire

- ✓ Introduire dans le butyromètre, avec une pipette de sureté ou un doseur, 10 ml d'acide sulfurique en évitant de mouiller le col.
- ✓ Introduire dans le butyromètre 11 ml de lait préalablement homogénéisé en le laissant couler très lentement pour éviter son mélange prématuré avec l'acide.
- ✓ Déposer à la surface du lait 1 ml d'alcool iso amylique.

Adapter un bouchon sec et bon état.

- ✓ Agiter le butyromètre jusqu'à la dissolution complète de la caséine qui a été coagulée au début du mélange.

- ✓ Procéder à la centrifugation sans laisser refroidir le butyromètre à 1000-2000 tours pendant 5 minutes.
- ✓ Sortir le butyromètre de la centrifugeuse et le placer pendant 5 minutes dans un bain-marie à 65-70°C. Veiller à ce qu'il soit complètement immergé.
- ✓ Sortir le butyromètre du bain-marie, le placer verticalement et amener par une manœuvre appropriée du bouchon le plan inférieur de la colonne grasse en coïncidence avec une division représentant un nombre de dizaines de grammes de matière grasse.
- ✓ Assurer l'immobilité de la colonne grasse en maintenant le bouchon et lire le niveau le plus bas du ménisque supérieur de cette dernière en maintenant le butyromètre en position verticale et en effectuant la lecture perpendiculairement à l'appareil.

Le nombre de grammes de matière grasse par litre = valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.

Remarque : Nous tenons à préciser que pour la détermination de la matière grasse, cette dernière a été réalisée dans un laboratoire privé par notre Co-Encadreur.

2.5 Détermination du taux d'extrait sec

Le taux de matière sèche ou l'extrait sec d'un aliment de manière globale donne une idée sur sa composition en matières organiques (surtout) et inorganiques, permettant ainsi de déduire s'il est globalement nutritif ou pas.

Mode opératoire

- ✓ Peser la capsule en verre séchée et refroidie.
- ✓ Y introduire 5 ml de lait.
- ✓ Mettre dans l'étuve réglée à 103-104°C pendant 3 heures.
- ✓ Retirer la capsule de l'étuve et la mettre dans le dessiccateur
- ✓ Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.
- ✓ Peser à 0,001 g près.

Expression des résultats

Calculer le taux de matière sèche selon la formule :

$$MS = (M_1 - M_0 / M_2 - M_0) \times 100 \%, \text{ avec :}$$

M_0 : Masse en gramme de la capsule vide.

M_1 : Masse en gramme de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

M_2 : Masse en gramme de la capsule et de la prise d'essai.

2.6 Détermination du taux de cendre

Mode opératoire

- ✓ Peser la capsule séchée et refroidie.
- ✓ Introduire 5 ml de lait dans la capsule.
- ✓ Mettre dans le four pasteur à 550 °C pendant 3 heures.
- ✓ Retirer la capsule du four et la mettre dans le dessiccateur.
- ✓ Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.
- ✓ Peser à 0,001g près.

Puis calculer le taux de matière sèche selon la formule :

$$\text{Taux de cendre} = (M_1 - M_0 / V) \times 100 ;$$

M_1 : Masse en gramme de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

M_0 : Masse en gramme de la capsule vide.

V : Volume de la prise d'essai.

3. Les analyses bactériologiques : caractérisation bactériologique du lait cru

3.1 Préparation des échantillons

3.1.1 Prise d'essai

Les laits étant des produits liquides constitueront d'emblée donc une solution mère. Les produits laitiers (laits secs en poudre , yaourt , fromages , desserts lactés et autres étant des produits solides , feront l'objet de dilution décimale, mais au préalable il est nécessaire de procéder à leur homogénéisation à l'aide de techniques et d'appareils appropriés (broyeurs homogénéisateurs , stomacher..).

Les prises d'essai sont effectuées sur l'échantillon homogénéisé en tenant compte de deux facteurs essentiels à savoir :

- ✓ Le nombre de pièces soumises à l'analyse d'une part ;
- ✓ Les opérations analytiques à conduire...

Mais, en général, on prélève trois fois 25 ml ou 25 gr :

- ✓ Les premiers serviront à l'analyse bactériologique courante,
- ✓ Les seconds serviront à la recherche de Salmonella – Shigella,
- ✓ Les troisièmes serviront à la recherche des Listeria.

3.1.2 Les produits liquides

Dans le cas des produits liquides, le mélange de trois à cinq sachets de lait par exemple constituera la solution mère (SM = 1).

Dilutions décimales :

- ✓ Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la SM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant : cette dilution est alors au 1/10 ou 10^{-1} .
- ✓ Introduire par la suite 1ml de la dilution 10^{-1} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant : cette dilution est alors au 1/100 ou 10^{-2} .
- ✓ Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la dilution 10^{-2} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est alors au 1/1000 ou 10^{-3} , ainsi de suite jusqu'à la dernière dilution.

Remarque :

- 1- Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer de pipettes entre chaque dilution.
- 2- Contrairement à cela, lors de l'ensemencement il est recommandé de commencer par la plus forte dilution à savoir 10^{-3} dans le but justement de ne pas changer de pipettes. On travaillera alors à l'aide d'une pipette graduée en verre stérile de 5 ml.

3.2 Recherche et dénombrement bactériologique

3.2.1 Recherche et dénombrement des flores mésophile aérobie totale à 30°C

Appelés aussi "Flore totale" ou nombre très approximatif des germes qui se trouvent dans les produits alimentaires. Ces micro-organismes peuvent par leurs quantités dégrader la denrée, altérer sa qualité marchande et provoquent des troubles digestifs ou allergiques chez le consommateur. La flore peut être saprophyte ou pathogène, originelle ou apportée lors des manipulations.

✓ **But**

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

Mode opératoire

- ✓ A partir des dilutions décimales allant de 10^{-7} à la SM, porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri contenant 12 à 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45\text{ °C} \pm 1$ préparée à cet usage et numérotée.
- ✓ Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.
- ✓ Laisser solidifier sur la paillasse.

✓ **Incubation**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30 °C pendant 72 h avec :

- ✓ Première lecture à 24 h ;
- ✓ Deuxième lecture à 48 h ;
- ✓ Troisième lecture à 72 h.

✓ **Lecture**

Les colonies des FMAT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

✓ **Expression des résultats**

Le dénombrement s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte les facteurs suivants :

- ✓ Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies,
- ✓ Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution,
- ✓ Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

3.2.2 Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h, à une température comprise entre 36 et 37 °C, selon la norme **ISO**.

Les coliformes fécaux ont les mêmes caractères des coliformes totaux, mais ils sont capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 h à une température de l'ordre de 44 °C.

✓ **But**

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et contamination fécaux (*E. coli*), est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale (**Joffin et Joffin ;(1999)**). Leur présence dans le lait permet de déceler une contamination fécale.

Mode opératoire

- ✓ Préparer les dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-3} de l'échantillon à analyser ;
- ✓ Ensemencer une série de 9 tubes (avec cloche de Durham) de BLVB comme suite : 10^{-1} repartit entre 3 tubes (avec cloche de durham) ; 10^{-2} repartit entre 3 tubes (avec cloche de durham) ; 10^{-3} repartit entre les 3 autres tubes (avec cloche de durham) restants avec 1ml de l'échantillon ;
- ✓ Incuber à 37°C pendant 48h ;
- ✓ A partir des tubes positifs de BLVB, ensemencer par 1ml un tube de 10 ml contenant l'eau Peptonée exempt d'indole (avec cloche de Durham)
- ✓ Incuber à 44°C pendant 24h ;
- ✓ Après l'incubation ajouter au tube quelques gouttes de réactifs de Kovacs.

✓ **Expression des résultats**

On constate un trouble et la production de gaz dans les tubes positives ;

Après incubation, on observe un trouble et un changement de couleur dans le tube contenant l'eau Peptonée exempt d'indole ;

Après l'addition de réactif de Kovacs on observe qu'il y a production de Gaz et un anneau rouge à la surface du tube ;

Le nombre de coliformes est déterminé avec la table de Mac Grady (**Annexes2**)

3.2.3 Recherche et dénombrement des Clostridium sulfite réducteurs

Les Anaérobies Sulfite – Réducteurs sont des bactéries anaérobies strictes, de forme bacille à gram positif, catalase négative, mobiles, sporulés, appartenant à la famille des Bacillaceae, hôte habituel du tube digestif de l'homme, leurs spores ont une résistance considérablement dans les milieux naturels, ils ont un pouvoir de détruire le sulfite de sodium et donner en présence du fer, du sulfure de fer d'où une coloration noire. (**Bourgeois et al, 1996**)

Mode opératoire

✓ Préparation du milieu

Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de gélose viande foie (VF), le refroidir dans un bain d'eau à 45 °C puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfate de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement. Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45 °C jusqu'au moment de l'utilisation.

✓ Enrichissement

Les tubes contenant les dilutions 10^{-3} à la SM seront soumis :

D'abord à un chauffage à 80 °C pendant 8 à 10 min, Puis à un refroidissement immédiat sous courant d'eau, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées. A partir de ces conditions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre, puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prêt à l'emploi. Laisser sur la paillasse pendant 30 min.

✓ Incubation

Ces tubes seront ainsi incubés à 46 °C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 h.

✓ Lecture

Les colonies des Anaérobies Sulfito – Réducteurs apparaissent de couleur noire. La première lecture doit se faire impérativement à 16 h, car, d'une part ces colonies sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm.

Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 h voire 48 h.

✓ **Expression des résultats**

Trouver la moyenne arithmétique des colonies pour chaque dilution ;

Multiplier les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante ;

Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies des deux dilutions.

3.2.4 Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus

Les Staphylococcus aureus appartiennent à la famille de Micrococcaceae. Ce sont des cocci à Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, immobiles, halophiles, se divisent en plusieurs plans en formant des amas irréguliers, coagulase, protéase et catalase positives. (Bourgeois et al, 1996), il est moins fréquemment retrouvé mais il est pathogène, le nom d'espèce (aureus signifie « or ») vient que sur gélose, les colonies de S.aureus sont pigmentées (couleur dorée) alors que les autres espèces forment des colonies blanches.

✓ **But**

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

Mode opératoire

- ✓ Au préalable faire des dilutions décimales de la dilution 10^{-1} à 10^{-4} ;
- ✓ Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ;
- ✓ Refroidir et maintenir à 44° - 47°C ;
- ✓ Couler le milieu dans les boîtes de Pétri stériles ;
- ✓ Laisser solidifier sur une surface froide ;

- ✓ Transférer à 0,1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans les boîtes de Pétri ;
- ✓ Étaler l'inoculum à la surface du milieu à l'aide d'un étaleur stérile ;
- ✓ Incuber à 37°C pendant 48h.
- ✓ **Lecture**

Les staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol avec modification de la teinte du milieu du rose en jaune. Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu. Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol.

- ✓ **Expression des résultats**

Calculer pour chacune des boîtes de pétri, le nombre de Staphylocoque en multipliant les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante ;

Faire ensuite la moyenne arithmétique des résultats trouvés.

3.2.5 Recherche de Salmonella

Les salmonelles sont des entérobactéries bacilles à gram négatif, mobiles, anaérobies facultatif à forte contagiosité et mobiles grâce à une ciliature péritriche. (Anonyme, 2009).

- ✓ **But**

La recherche des salmonelles permet de savoir si le produit est propre à consommer ou non (Leveau et Bouix, 1993), car les salmonelles sont responsables de gastro-entérites, de toxi-infections alimentaires, des fièvres typhoïde et paratyphoïde (Anonyme, 2009).

Mode opératoire

La recherche de Salmonella nécessite une prise d'essai à part.

- ✓ **Pré-enrichissement**

Mettre 25 g de produit à analyser dans un flacon de 225 ml de TSE et bien homogénéiser puis incuber à 37 °C pendant 18 h

- ✓ **Enrichissement**

L'enrichissement doit s'effectuer sur deux milieu sélectifs différents à savoir que :

- Le milieu de Rappaport Vassiliadis réparti à raison de 10 ml par tube,

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

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

- 0,1 ml pour le tube de Rappaport Vassiliadis,
- 10 ml pour le flacon de Sélénite Cystéine.

✓ **Incubation**

Elle se fait à 37 °C pendant 24 h.

✓ **Lecture**

Une réaction positive est indiquée par le virage de la couleur du milieu au rouge brique.

✓ **Isolement**

Le tube et/ou le flacon positifs fera/feront l'objet d'un isolement sur le milieu sélectif "Hektoen".

✓ **Lecture**

Les Salmonelles se présentent sous forme des colonies bleues vertes au centre noir sur gélose Hektoen.

4. Processus de fabrication du fromage frais lactique à partir de lait de vache

Le fromage, selon la norme (**Codex Stan 283-1978**), est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum /caséines ne dépasse pas celui du lait. On l'obtient par coagulation complète ou partielle 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 ; ou alors par emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques correspondant à la définition précédente.

4.1 Transformation du lait en fromage

La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage. Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des fromages frais (Evette, 1975). La qualité du lait de fromagerie est fonction de son aptitude à donner un bon fromage, dans des conditions de travail normales, avec un rendement satisfaisant. Elle dépend d'un certain nombre de caractéristiques du produit tels que sa composition chimique, sa richesse en caséines, sa charge microbienne et la nature de sa microflore, son aptitude au développement des bactéries lactiques. Elle dépend aussi de son comportement vis-à-vis de la présure (Remeuf et al., 1991).

Les étapes de fabrication du fromage frais lactique :

4.1.1 Pasteurisation à 72°C pendant 15 secondes

La pasteurisation réduit de manière significative (habituellement d'un facteur de 100 000 pour le lait) le nombre de micro-organismes bénéfiques et néfastes dans le produit pasteurisé, mais certaines formes résistent comme les spores. Lors de la pasteurisation, le seuil de thermorésistance des bactéries pathogènes et de celles qui causent la détérioration des aliments est dépassée. Cette thermorésistance dépend du milieu dans lequel la pasteurisation est pratiquée. Plus le milieu est acide, moins la résistance à la chaleur est élevée. Pour un micro-organisme donné, on connaît le couple temps-température qui assure une diminution par 10 de la population initiale

Après pasteurisation on fait un refroidissement rapide jusqu'à une température de 34°C.



Photo 4. La phase de pasteurisation du lait

4.1.2 Coagulation du lait

La fabrication du fromage nécessite une phase de coagulation du lait, qui permet d'expulsion plus ou moins, une grande partie de l'eau et de matière soluble (le Sérum). On obtiendra ainsi un caillé ou un fromage non affiné (**Lenoir et al. ,1983**).

La coagulation correspond à une modification physico-chimique des micelles de caséine sous l'action d'enzymes protéolytiques et (ou) d'acide lactique. Celles-ci entraînent la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement suivant que ces modifications sont induites par acidification ou par action d'enzymes coagulantes ou encore par l'action combinée des deux (**Eck et Gillis, 1990**).

Nous avons procéder à la coagulation mixte avec un ferment commercial (Danisco) et emprésurage.



Photo 5. La phase de coagulation du lait

a. Coagulation par ferment commerciale (Danisco)

Laisser coaguler pendant 3 heures



Photo 6. Présentation d'un ferment commercial (DANISCO)

b. Coagulation par emprésurage

Laisser coaguler pendant 12heures



Photo 7. Présentation de la présure utilisée

4.1.3 Décaillage

Le décaillage est la phase de découpage du caillé (**Voir Photo 10**), il sert à éliminer une partie du lactosérum emprisonné dans la masse coagulée en multipliant les surfaces de sortie du sérum : c'est le début de l'égouttage.

Le décaillage est une phase délicate qui conditionne la qualité finale du produit et son rendement.



Photo 8. La phase de décaillage

4.1.4 Egouttage

L'égouttage est l'étape qui permet la séparation d'une partie de lactosérum, après rupture mécanique du coagulum, par moulage et dans certains cas par pression. Ce qui conduit à l'obtention du caillé. Son but est non seulement de régler la teneur en eau du caillé, mais aussi la minéralisation de ce dernier et son délactosage. Durant cette phase, ce sont presque 80% de l'eau contenue dans le caillé qui est extraits. Lors de l'égouttage, deux types de facteurs interviennent:

- ✓ Un facteur biologique : acidification ou « fermentation lactique », génératrice de porosité dans le caillé.
- ✓ Un facteur mécanique qui se déroule en plusieurs phases : le découpage, le brassage, le chauffage et enfin le pressage. Cette étape est essentielle car c'est la

conjugaison de ces facteurs qui va déterminer la dureté et l'onctuosité du fromage à venir.



Photo 9. La phase d'égouttage

4.1.5 Retournement

8h après l'égouttage on procède au retournement du fromage

4.1.6 Démoulage

Après toutes ces opérations on démoule le fromage lorsqu'il sera débarrassé totalement du lactosérum.



Photo 10. Présentation des fromages après démoulage

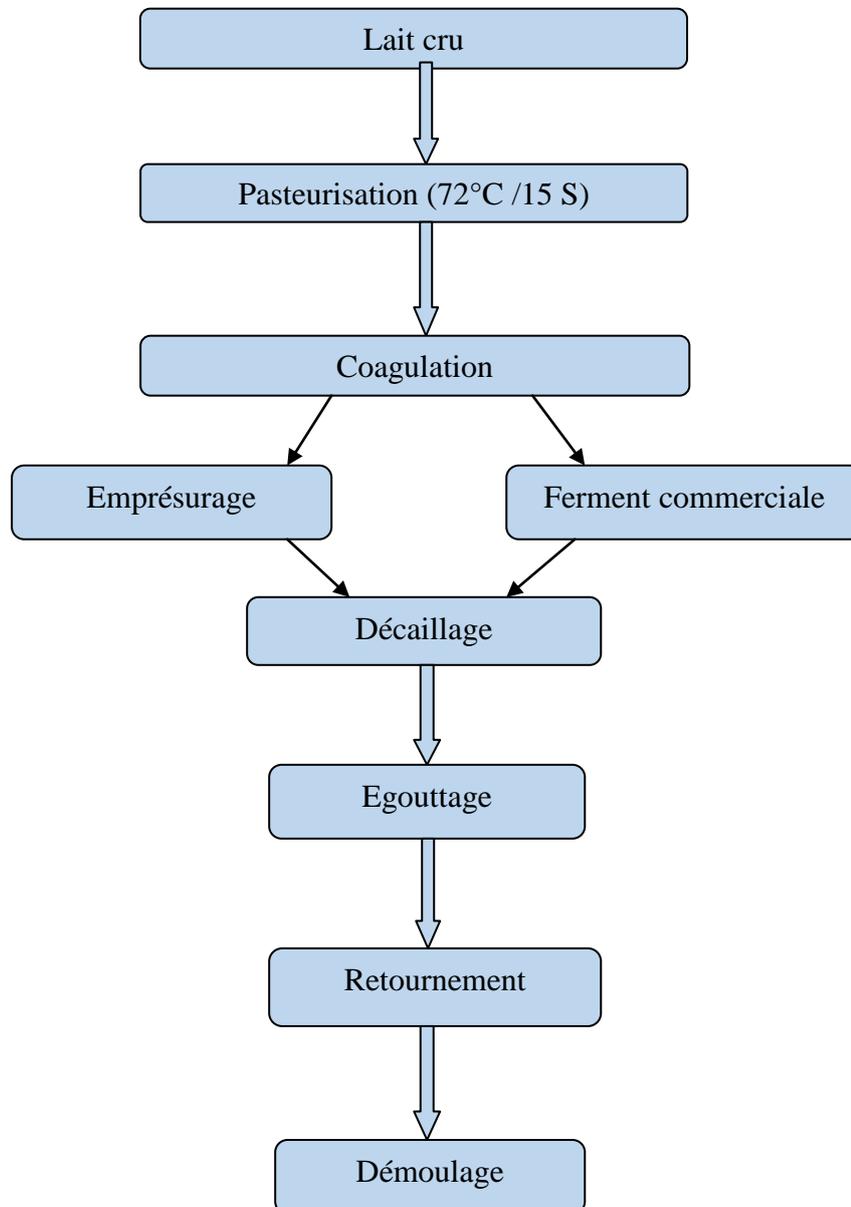


Figure 2. Schéma de fabrication du fromage frais lactique de vache

4.2 Les analyses physico-chimiques des différents fromages fabriqués

Les analyses physico-chimiques sont effectuées dans le but de vérifier la composition et la qualité physico-chimique des produits (échantillons de fromage).

4.2.1 Détermination du poids

Après égouttage le fromage est mis dans un pot puis pesé à l'aide d'une balance électronique.

4.2.2 Détermination du pH des échantillons de fromage

Mode opératoire

- ✓ Peser 10g de fromage dans la capsule.
- ✓ Avec 90 ml d'eau distillée, mélangé avec les 10g de fromage ;
- ✓ Puis homogénéiser.
- ✓ Le pH de l'échantillon est déterminé après quelques minutes en utilisant un pH-mètre numérique où l'électrode a été insérer directement dans l'échantillon **(Voir Photo 11)**.
- ✓ La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil ;
- ✓ Trois répétitions sont réalisées **(Owusu-Kwarteng et al, 2012)**.



Photo 11. Détermination du pH du fromage

4.2.3 Détermination de l'acidité titrable des échantillons de fromage

Mode opératoire

- ✓ Peser 10g de fromage et mélangé avec 90 ml d'eau distillée.
- ✓ Bien homogénéiser le mélange, puis 10 ml de cette suspension titrée par l'hydroxyde de sodium, en présence de phénolphtaléine.
- ✓ La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur (rose pâle), (**Voir Photo 12**).
- ✓ Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage ($^{\circ}\text{D/g}$) (**Afnor, 1986**).

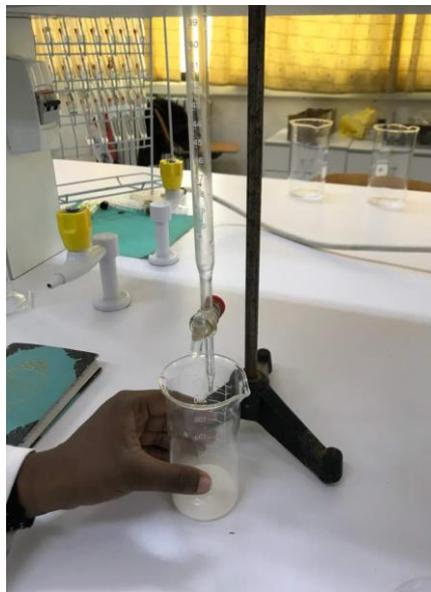


Photo 12. Détermination de l'acidité titrable du fromage

4.2.4 Détermination de l'extrait sec des échantillons de fromage

Mode opératoire

- ✓ Peser la capsule en verre séchée et refroidie.
- ✓ Introduire 5g de fromage dans la capsule.
- ✓ Mettre dans l'étuve réglée à 103-105°C pendant 3 heures.
- ✓ Retirer la capsule de l'étuve et la mettre dans le dessiccateur.
- ✓ Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.
- ✓ Peser à 0,001 près.

Calculer le taux de matière sèche par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche(EST)} = (M_1 - M_0 / M_2 - M_0) \times 100 \text{ avec,}$$

M_1 : Masse en g de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement

M_0 : Masse en g de la capsule vide

M_2 : Masse en g de la capsule vide + le poids du fromage avant étuvage.

4.2.5 Détermination du taux de cendre des fromages

Mode opératoire

Peser la capsule séchée et refroidie.

Introduire 5g de fromage dans la capsule

Mettre dans le four à moufle pendant 3heures à 550°C

Retirer la capsule du four et la mettre dans le dessiccateur.

Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

Peser à 0,001 près.

Calculer le taux de cendres avec la formule suivante :

$$\text{Taux de cendres} = (M_1 - M_0/M) \times 100 ;$$

M_1 : Masse en g de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement

M_0 : Masse en g de la capsule vide

M : Masse en g de la prise d'essai.

4.2.6 Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est généralement calculé par la formule suivante :

$$\text{Hm}\% = 100 - \text{Taux EST(MS)}$$

4.2.7 Détermination du rendement fromager

Cette valeur étant définie comme étant la quantité de fromage fabriquée à partir d'une quantité de lait engagée ; à partir de là seront déterminés les calculs économiques et les prévisions de bonne production fromagère.

Le calcul se fait suivant la formule :

$$\text{Rendement \% R} = (F / L + 1) \times 100 ;$$

F : étant la masse du fromage obtenu (en g)

L : étant la masse du lait utilisée (en g)

L : étant la masse de ferment liquide ajoutée (0,01g).

II. Résultats et Discussions

A. Résultats

1. Résultats des analyses physico-chimiques de lait cru de vache

- ✓ Les températures mesurées immédiatement avant les manipulations au laboratoire sont comprises entre **16** et **23 °C** à un pH donné.
- ✓ Le pH varie de **6,55** à **6,85** avec une moyenne de **6,713** à **20,6 °C** sur **25** échantillons sur 5 fermes.

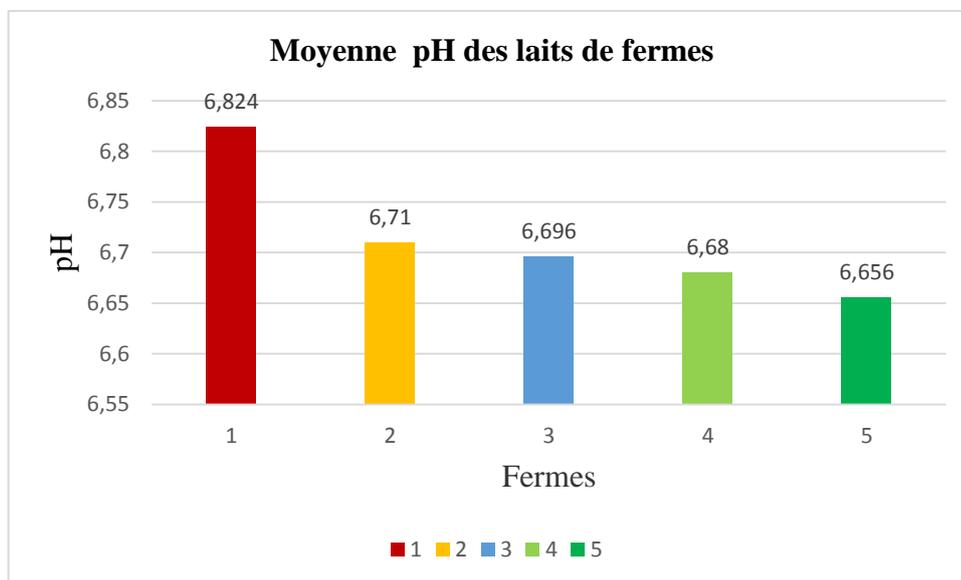


Figure 3. Histogramme de la moyenne du pH des laits de ferme

- ✓ La valeur de l'acidité titrable varie de **16** à **19 °D** avec une moyenne de **17,68°D**.

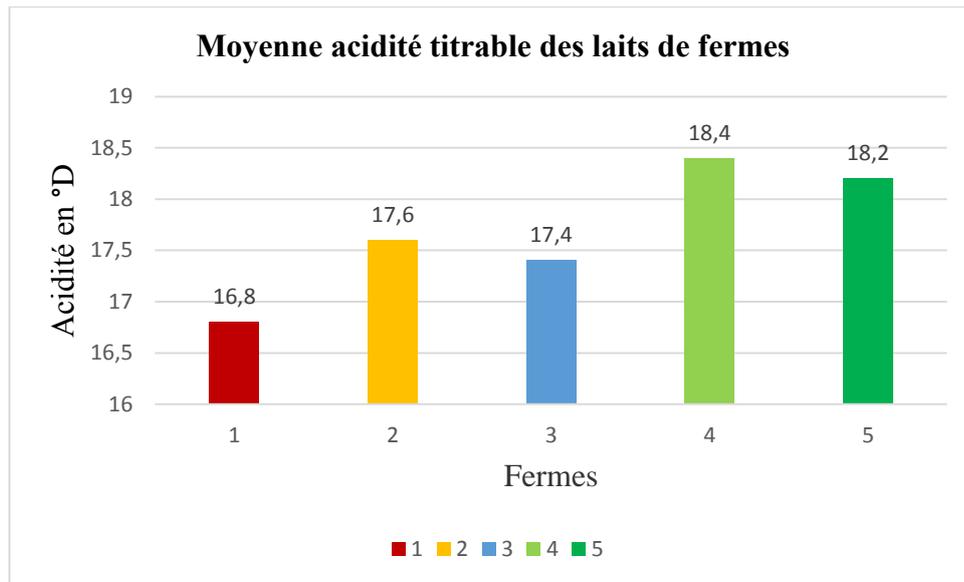


Figure 4. Histogramme de la moyenne d'acidité titrable des laits de ferme

- ✓ La densité mesurée à 20°C est comprise entre **1,027** et **1,033** avec une valeur moyenne de **1,031**.

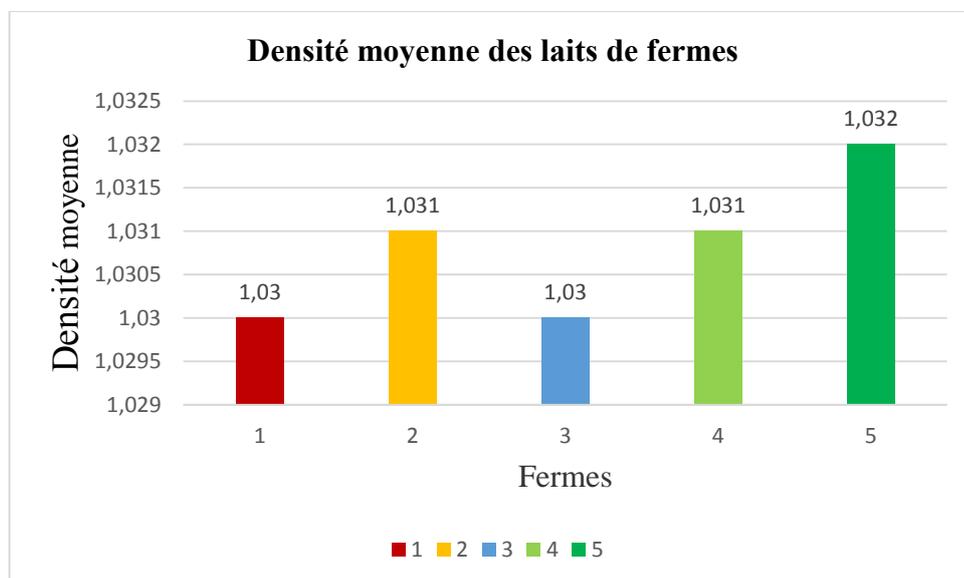


Figure 5. Histogramme de la densité moyenne des laits de ferme

- ✓ La teneur moyenne en matière grasse est de **32,80% ± 7,482**. Le taux d'extrait sec oscille entre **10,28** et **17,06 %** avec une moyenne de **12,932 % ± 1,544** ; Ainsi que le taux de cendre entre **0,47** et **0,76%** avec une moyenne de **0,627 % ± 0,082** pour l'ensemble des 25 échantillons.

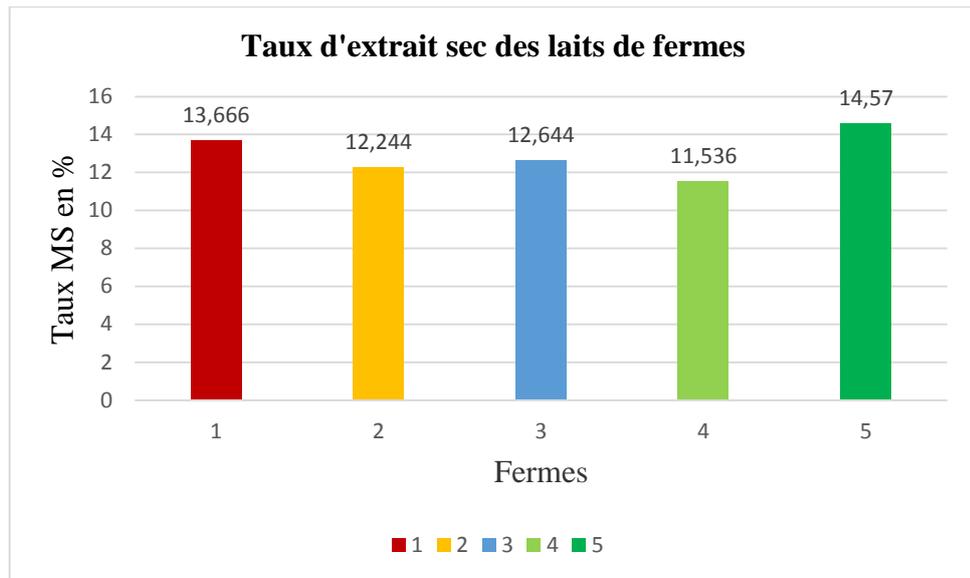


Figure 6. Histogramme du taux d'extrait sec total des laits de ferme

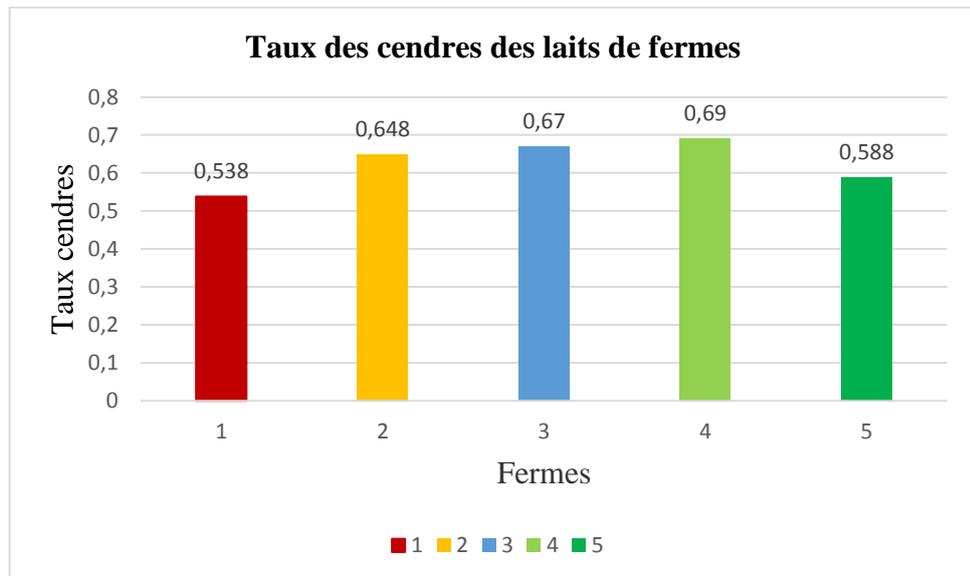


Figure 7. Histogramme du taux de cendre des laits de ferme

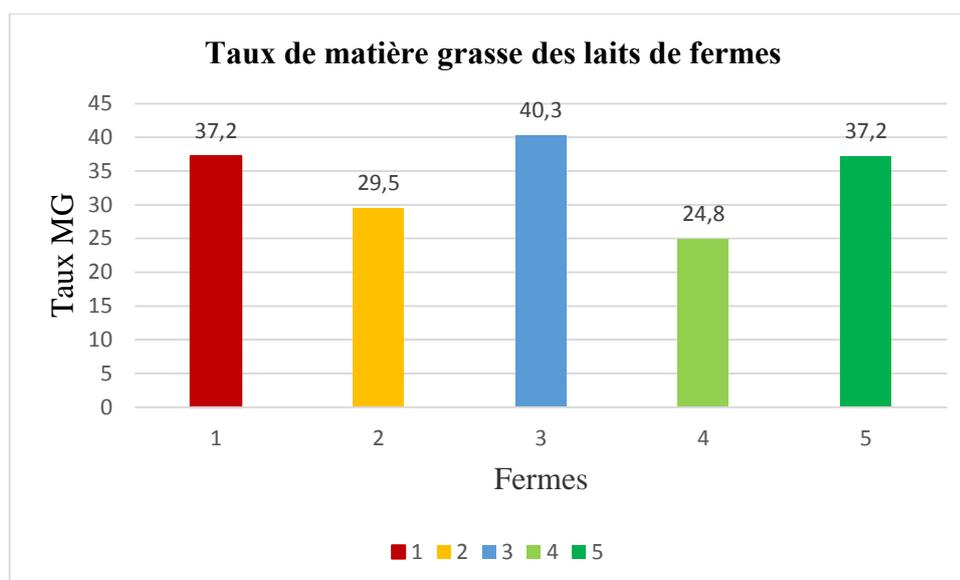


Figure 8. Histogramme du Taux de matière grasse des laits de fermes

Tableau 6. Résultats de la moyenne des paramètres physico-chimique des laits de fermes

Synthèse (Moyenne Estimées) par ferme :

Moyenne Fermes	pH	Acidité	Densité	Taux MS	TC	TB
F1	6,824 a	16,80 a	1,030 a	13,666 ab	0,538 b	37,20 ab
F2	6,710 ab	17,60 a	1,031 a	12,244 b	0,648 ab	29,50 bc
F3	6,696 ab	17,40 a	1,030 a	12,644 ab	0,670 a	40,30 a
F4	6,680 ab	18,40 a	1,031 a	11,536 a	0,690 a	24,80 c
F5	6,656 b	18,20 a	1,032 a	14,570 ab	0,588 ab	37,20 ab
Pr > F	0,031	0,059	0,259	0,006	0,007	0,001
Significatif	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents

a, b et c sont les effets de l'échantillon (fermes).

Synthèse (Moyenne Estimées) des cinq fermes :

Variable	Observations	Moyenne	Ecart-type
Ph	25	6,713	0,094
AD	25	17,680	0,988
D	25	1,031	0,002
MS	25	12,932	1,544
TC	25	0,627	0,082
TB	25	33,800	7,482

2. Résultats des analyses bactériologiques de lait cru de vache**2.1 Recherche et dénombrement de la FMAT**

Le **Tableau 7** représente les résultats du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile trouvés dans les laits crus des différentes fermes.

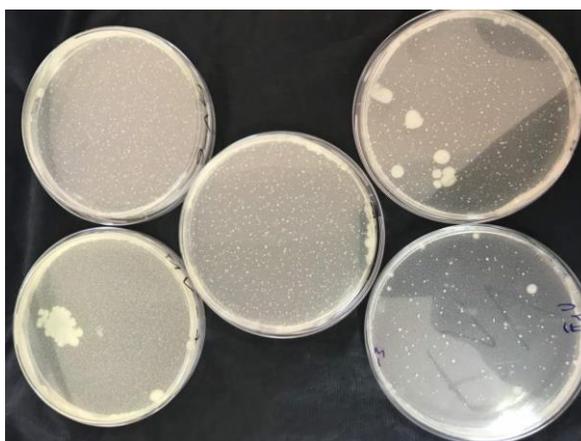


Photo 13. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale sur milieu PCA

Tableau 7. Dénombrement de la FMAT des laits crus dans les différentes fermes

Fermes	F1V	F4V	F5V
Moyennes germes UFC/ML	$3,325.10^5$	$2,825.10^8$	$3,39.10^7$
Normes UFC/ML JORA n°39		$3.10^5-3.10^6$	

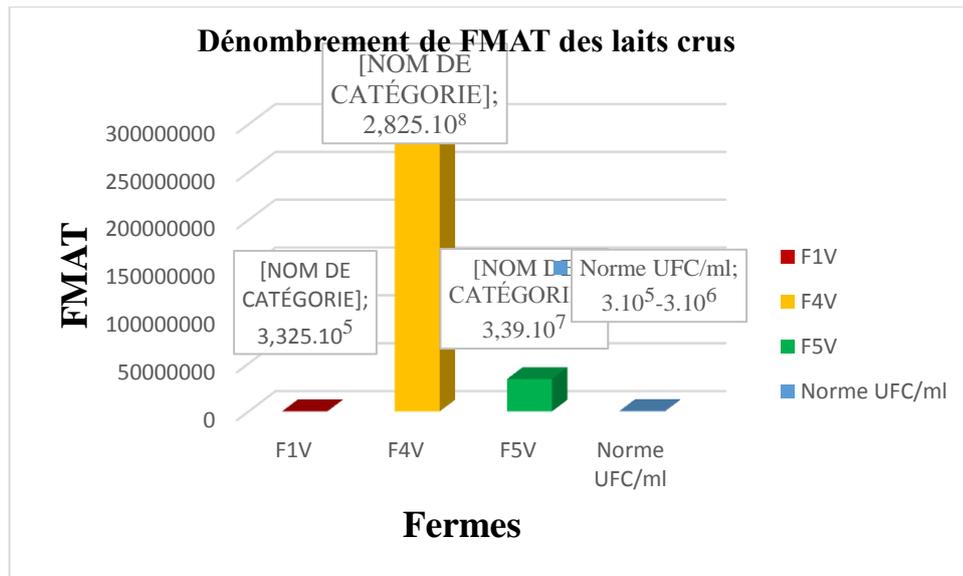


Figure 9. Taux de flore mésophile aérobie totale sur milieu PCA à 30 °C

2.2 Recherche et dénombrement des coliformes Totaux et Fécaux

2.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes Totaux

Le **tableau 8** représente les résultats du dénombrement des coliformes totaux trouvés dans les laits crus des différentes fermes.

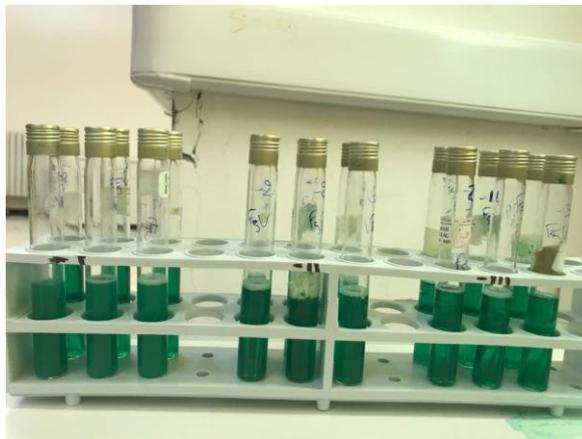


Photo 14. Dénombrement des coliformes totaux

Tableau 8. Dénombrement des coliformes totaux des laits crus des différentes fermes

Fermes	F1V	F4V	F5V
Moyennes germes UFC/ML	$0,4 \cdot 10^1$	$0,3 \cdot 10^1$	$0,3 \cdot 10^1$
Normes UFC/ML JORA n°39	$5 \cdot 10^2 - 5 \cdot 10^3$		

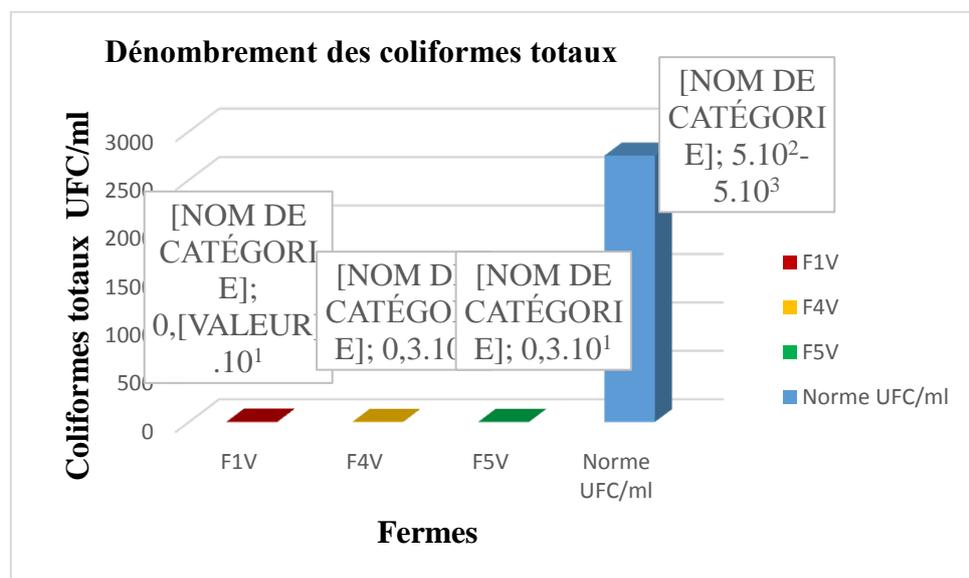


Figure 10. Taux de coliformes totaux

La lecture sur la table de Mac Grady donne un NPP de 30 coliformes totaux pour F4V et F5V et 40 coliformes totaux pour F1V pour 10 ml de produit analysé.

2.2.2 Recherche et dénombrement des coliformes Fécaux

Le **tableau 9** représente les résultats du dénombrement des coliformes totaux trouvés dans les laits crus des différentes fermes.

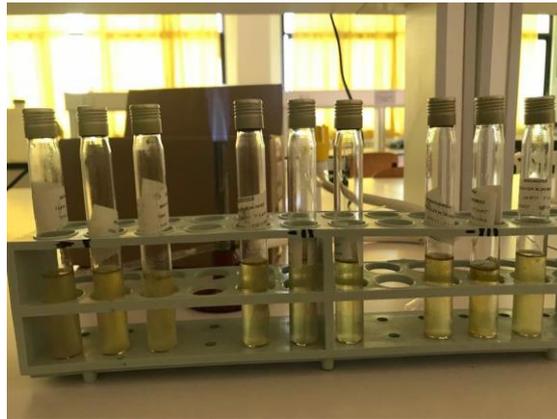


Photo 15. Dénombrement des coliformes fécaux

Tableau 9. Dénombrement des coliformes fécaux des laits crus des différentes fermes

Fermes	F1V	F4V	F5V
Moyennes germes UFC/ML	$0,3 \cdot 10^1$	0	0
Normes UFC/ML JORA n°39	$5 \cdot 10^2 - 5 \cdot 10^3$		

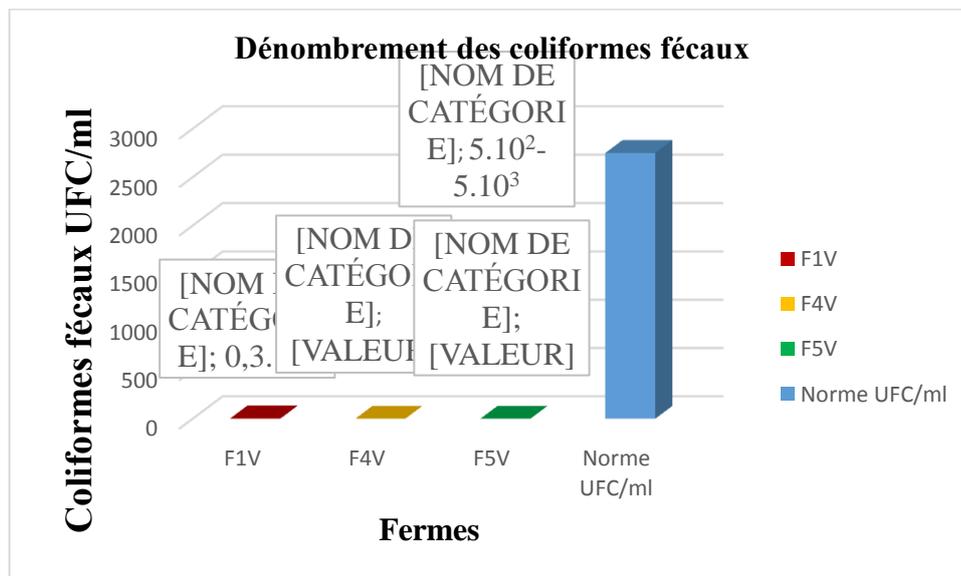


Figure 11. Taux de coliformes fécaux

2.3 Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito réducteurs

Le **tableau 10** représente les résultats du dénombrement des clostridium Sulfito réducteur trouvés dans les laits crus des différentes fermes.



Photo 16. Dénombrement de clostridium

Tableau 10. Dénombrement des clostridiiums sulfito réducteurs

Fermes	F1V	F4V	F5V
Présence/Absence de Clostridium	NS	-	-
Norme J.O.R.A. N°53 du 27 Mai 1998		50	

2.4 Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus

Aucun résultat positif de présence de Staphylococcus aureus n'a été trouvé pour l'ensemble des laits crus analysés des différentes fermes.

Mais après les différents tests d'identification on a constaté la présence de micrococcus SPP (**Tableau 11**)

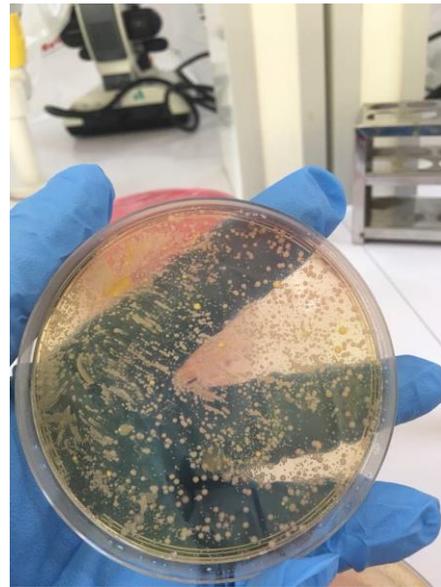


Photo 17. Dénombrement des Staphylococcus aureus

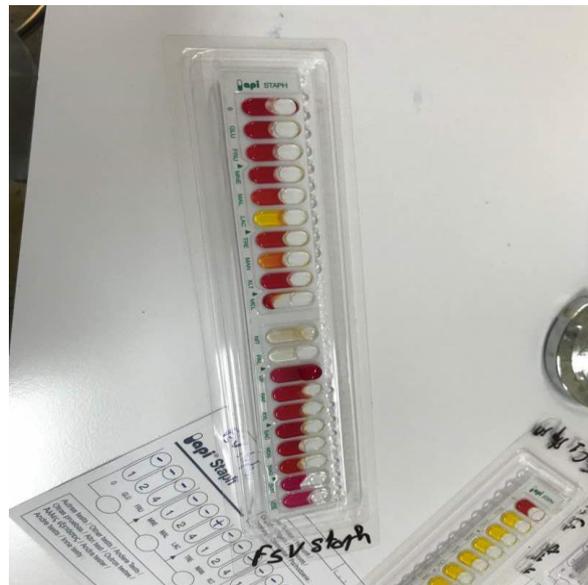


Photo 18. Identification par la galerie Api 20 Staph

Tableau 11. Identification des bactéries contaminant

fermes	Tests biochimique		Tests morphologique		N° d'identification(A PI)	Souche identifiée par plaque API (Annexes 3 et 4)
	Oxydase	catalase	Gram	Forme		
F1V	+ /-	+	+	Cocci en grappe de raisin	0000123	Micrococcus SPP
F4V	+ /-	+	+	Cocci en grappe de raisin	002003	Micrococcus SPP
F5V	+ /-	+	+	Cocci en grappe de raisin	0400103	Micrococcus SPP

2.5 Recherche et dénombrement des Salmonelles

Aucun résultat positif de présence de salmonelles n'a été trouvé pour l'ensemble des laits crus analysés des différentes fermes.



Photo 19. Dénombrement de salmonelle

Récapitulatif des Recherches et dénombrements des bactéries recherchés

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le **tableau 12**. Ils représentent la charge en différentes, microflores recherchées dans les laits crus analysés.

Tableau 12. Bactéries recherchés dans le lait cru des fermes (UFC/ml)

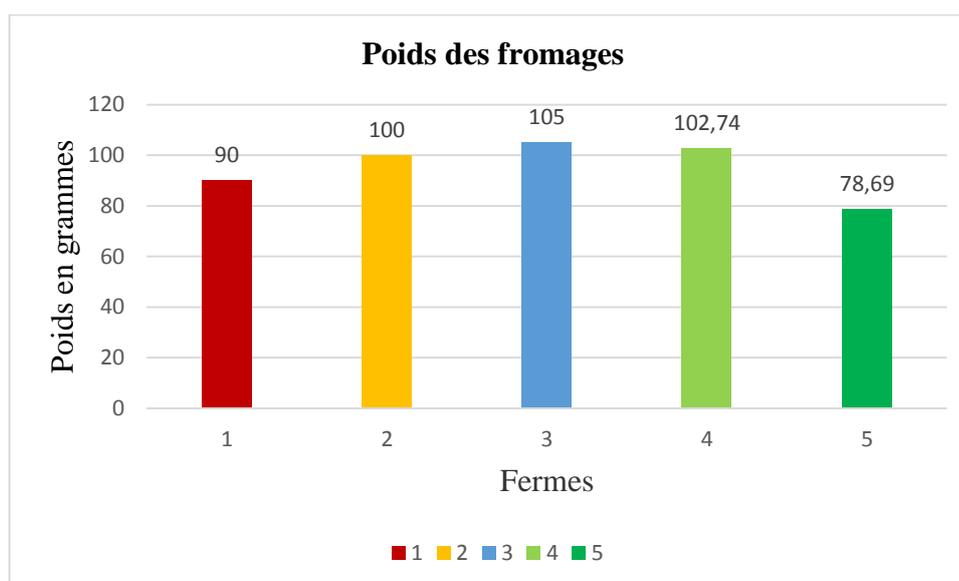
Fermes	Germes recherchés	Moyenne UFC/ml	Norme UFC/ml J.O.R.A n°39 du 2 juillet 2017
F1V	FMAT	$3,325.10^5$	$3.10^5-3.10^6$
	Col. T	$0,4.10^1$	$5.10^2-5.10^3$
	Col.F	$0,3.10^1$	$5.10^2-5.10^3$
	Clo.S.R	NS	Absence
	Staph.A	Abs	10^2-10^3
	Sal	Abs	Absence dans 25 ml
F4V	FMAT	$2,825.10^8$	
	Col. T	$0,3.10^1$	
	Col.F	0	
	Clo.S.R	-	
	Staph.A	Abs	
	Sal	Abs	
F5V	FMAT	$3,39.10^7$	
	Col. T	$0,3.10^1$	
	Col.F	0	
	Clo.S.R	-	
	Staph.A	Abs	
	Sal	Abs	

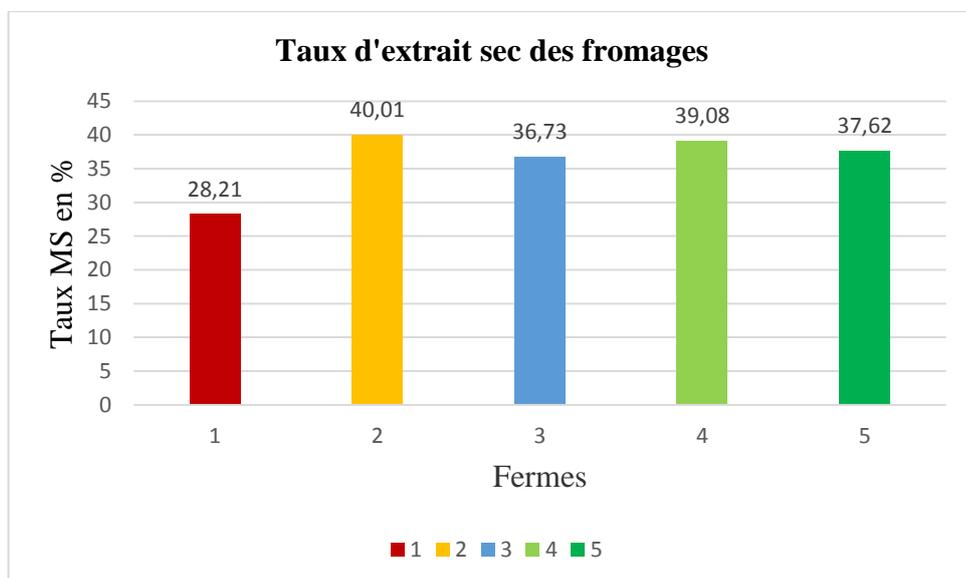
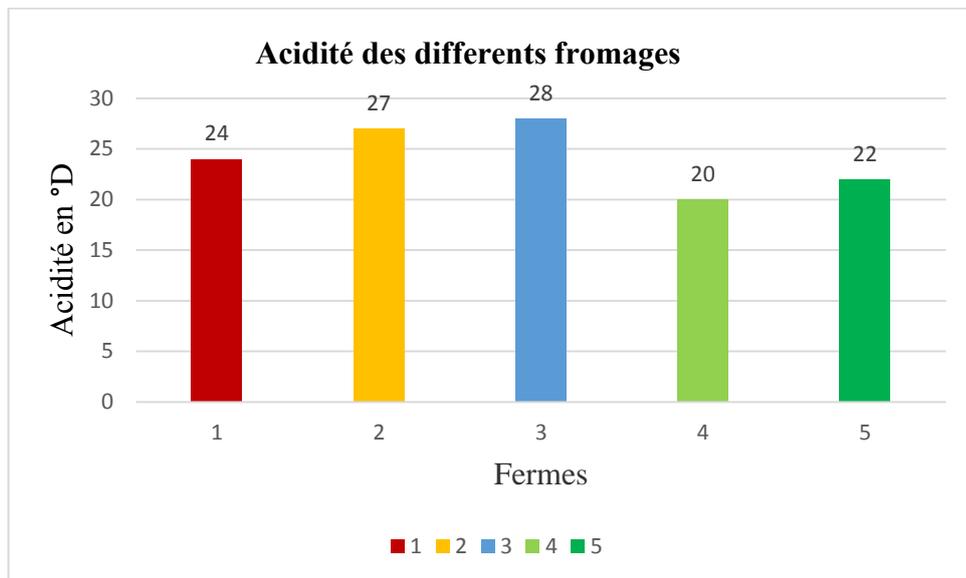
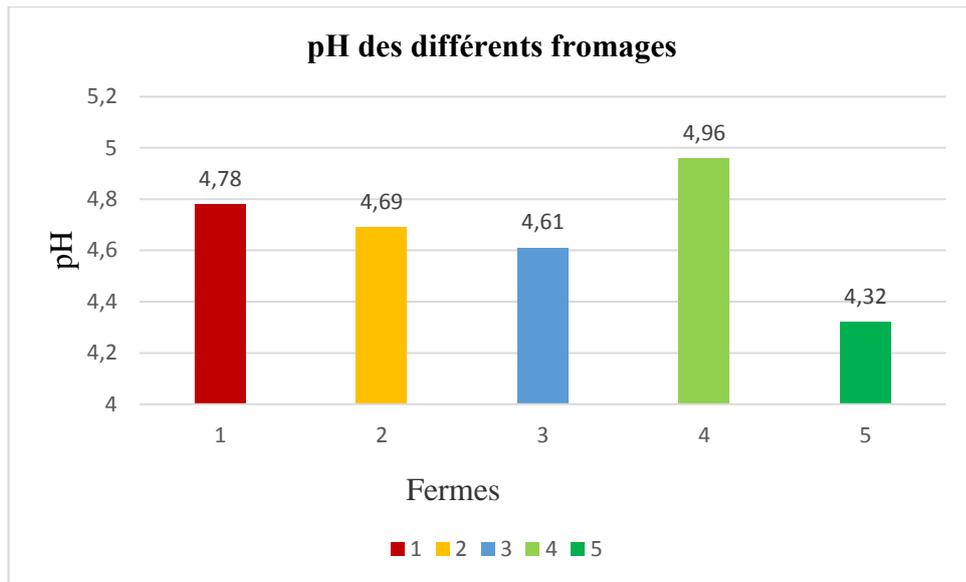
3. Résultats des analyses physico-chimiques des différents fromages

Les valeurs du pH, de l'acidité, de l'extrait sec total (MS), de cendre, du taux d'humidité et du rendement fromager des cinq échantillons de fromages sont représentées dans le (Tableau 13) :

Tableau 13. Résultats des analyses physico-chimiques des cinq échantillons de fromage

Echantillons	Poids G	Ph	Acidité titrable °D	Taux MS %	TC %	Humidité %	R %
F1Boucheouf	90	4,78	24	28,21	0,42	71,79	20,17
F2Makhlouf	100	4,69	27	40,01	0,32	59,99	20,61
F3Makhlouf	105	4,61	28	36,73	0,61	63,27	21,32
F4Ain Larbi	102,7	4,96	20	39,08	0,88	60,92	18,95
F5Tamlouka	78,69	4,32	22	37,62	0,99	62,38	25,05





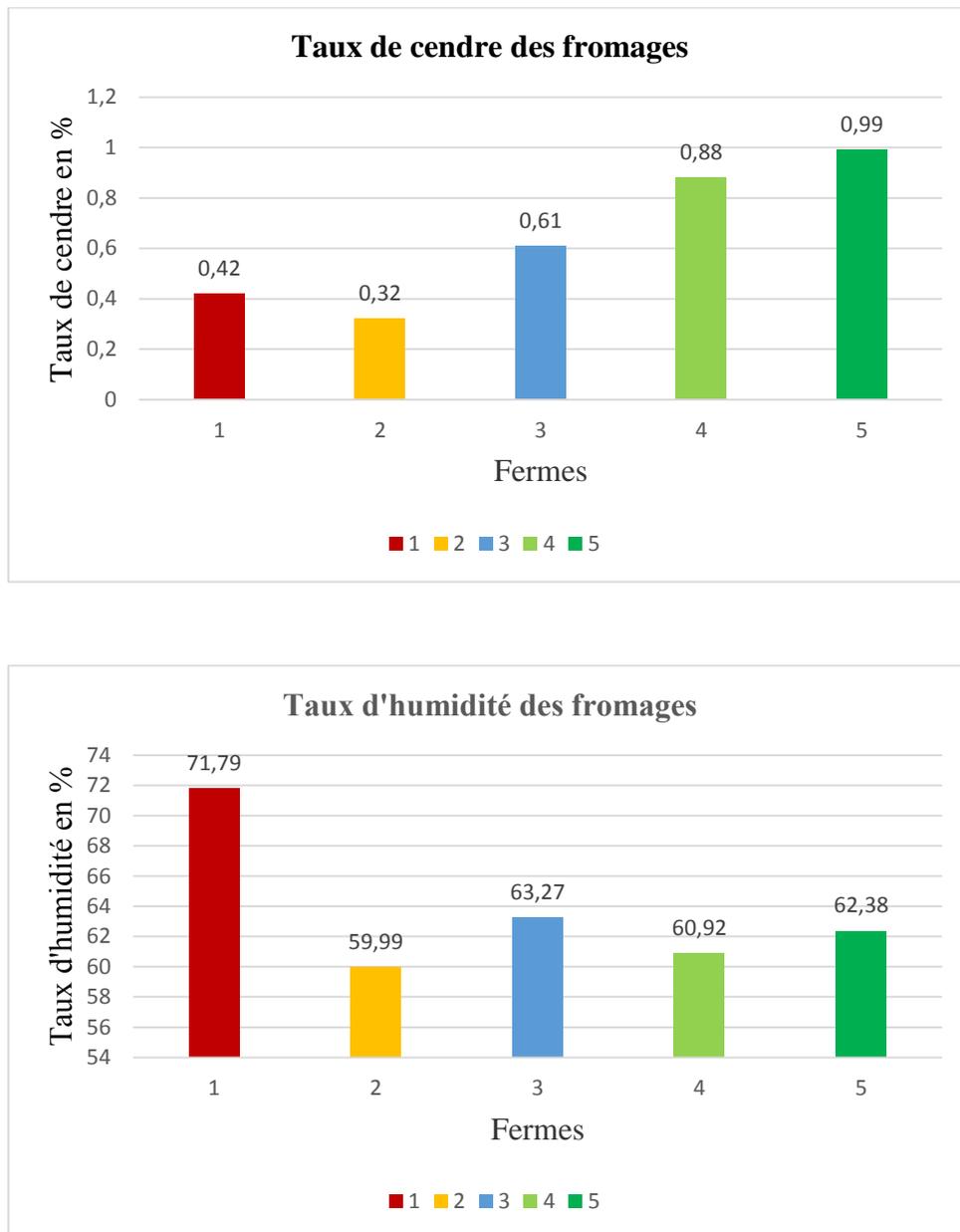


Figure 12. Les histogrammes des paramètres physico-chimiques des différents fromages

Tableau 14. Les étapes de fabrication des 5 fromages avec leurs paramètres physico-chimiques

E1 Ferme Baali

Étapes	heure	pH	Acidité °D	Température °D
Lait cru	00	6,83	19	20,6
Pasteurisation	01	6,52	21	20
+				
Ensemencement				
Emprésurage Lactosérum surnageant	05	4,75	50	20,1
Moulage	18	-	66	21
+				
Egouttage				
Retournement	30	-	-	-
Démoulage	42	4,73	28	21

E2 Ferme Boukhlel

Étapes	heure	pH	Acidité	Température
Lait cru	00	6,74	20	20,5
Pasteurisation	01	6,37	27,7	27,7
+				
Ensemencement				
Emprésurage Lactosérum surnageant	06	6,58	52	24
Moulage	19	4,79	64	64
+				
Egouttage				
Retournement	31	-	-	-
Démoulage	43	4,76	27	21

E3 Ferme Mansouri

Etape	heure	pH	Acidité	Température
Lait cru	00	6,79	20	16
Pasteurisation	01	6,58	20	19,8
+				
Ensemencement				
Emprésurage Lactosérum surnageant	06	6,72	70	24
Moulage	18	4,79	56	20,3
+				
Egouttage				
Retournement	30	-	-	-
Démoulage	42	4,75	24	21

E4 Ferme Triky

Etapes	heure	pH	Acidité	Température
Lait cru	00	6,77	19	21
Pasteurisation	01	6,76	19	22
+				
Ensemencement				
Emprésurage Lactosérum surnageant	05	6,74	20	20
Moulage	18	4,88	60	20
+				
Egouttage				
Retournement	30	4,82	67	20
Démoulage	42	4,75	70	20

E5 Ferme Tamlouka

Etapes	heure	pH	Acidité	Température
Lait cru	00	6,76	18	22
Pasteurisation	01	6,76	18	22
+				
Ensemencement				
Emprésurage Lactosérum surnageant	06	6,66	22	20
Moulage	19	4,86	56	20
+				
Egouttage				
Retournement	31	4,82	62	20
Démoulage	43	4,78	71	20

B. Discussion générale des analyses

1. Discussion des résultats physico-chimiques des laits de ferme

- ✓ Les valeurs moyennes de pH des laits étudiés diminuent respectivement (diminuent continuellement) de la **ferme 1** à la **ferme 5**. Contre le pH à 20°C égale à **6,6** fixé par la FAO. Le pH est voisin de la neutralité. Avec une moyenne de **6,713 ± 0,094**.

D'après les résultats obtenus dans le tableau (valeurs pH), on observe une différence significative du pH pour les deux fermes suivantes évalués, la ferme 1 a donné la valeur la plus élevée 6,850 de pH et la ferme 5 la plus faible valeur de pH 6,550, avec une moyenne de 6,713.

Cependant, les autres fermes ont la même valeur en pH sans différence significative.

- ✓ L'acidité titrable des laits de la ferme **4** et **5** sont supérieures à celles trouvées dans la ferme **1** à **3**. Les variabilités sont liées au climat, au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite dans les différentes fermes.

On rappelle que **l'acidité titrable = acidité naturelle + acidité développée**. Les constituants du lait qui contribuent à l'acidité naturel sont les phosphates (0,09%), les caséines (0,05-0,08%), les autres protéines (0,01%), les citrates (0,01%) et le bioxyde de carbone (0,01%). A cette acidité naturelle s'ajoute l'acidité développée qui est la résultante d'un développement des bactéries lactiques qui forment de l'acide lactique par fermentation du lactose.

D'après les résultats obtenus dans les tableaux (valeur Acidité Dornic), on remarque qu'il n'existe pas de différence significative entre les 5 fermes analysées et les valeurs moyennes d'AC obtenues. Le positionnement des résultats est dans l'intervalle des normes ; La FAO (2010) rapporte que l'acidité du lait est en moyenne 16 (**15-17 °D**), On constate que nos résultats sont légèrement supérieurs à la norme fixé par la FAO. Avec une moyenne de **17,680 °D ± 0,988**.

On constate que nos résultats sont légèrement supérieurs à la norme fixé par la FAO.

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sel minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique, de la manutention du lait.

- ✓ La densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires ;

On constate que ces valeurs sont similaires à celle rapportée par la **FAO(2010)** soit **1,028-1,033** ; on note qu'ils ont des densités moyennes très proches.

Les résultats illustrés dans le **tableau 6** montrent que la densité du lait de la ferme **1 à 5** varie de **1, 027 à 1, 033** avec une moyenne de **1,031 ± 0,002**.

Aucune différence significative n'est observé entre les densités moyennes de cinq fermes.il convient donc de noter que les laits de la ferme 1 à la ferme 5 apparaissent similaires et similaire à celle rapportée par la FAO (2010) soit **1,028-1,033** ; on note qu'ils ont des densités moyennes très proches.

- ✓ Il est de même pour la matière grasse et de la matière sèche(**EST**);

Une différence significative globale se trouve entre les fermes de lait au niveau de la teneur en matière sèche ; La comparaison entre les laits conduit à l'absence de différence significative entre les laits de la ferme 1 et 3. Cependant le lait de la ferme 5 est nettement différent des laits de la ferme 2 et 4. En observent le tableau (teneur en EST), on remarque que le lait des fermes 2 et 4 sont similaires.

D'après les résultats obtenus dans le tableau (**Teneur en cendre**), une différence significative est observée entre la ferme 1 qui présente la plus faible teneur et les fermes 3 et 4 qui ne présentent pas de différence significative mais ont les teneurs en cendres les plus élevées.

Les fermes 2 et 5 ne présentent pas de différence significative aussi.

- ✓ L'évolution de la matière grasse des laits différentes fermes est irrégulière on note qu'elle varie d'un prélèvement à l'autre. Elle varie de **17 à 50%** avec une moyenne de **33,80 % ± 7,482**. On remarque que ces résultats sont inférieurs à la fourchette admise dans le journal officiel de la république Algérienne n° **35.1998 (34 à 36 g/l)**.

Les résultats obtenus dans le tableau (**Teneur TB**) montrent une différence significative globale de la teneur en matière grasse pour les 5 fermes étudiées. La ferme 3 a donné la teneur la plus élevée en MG et une différence significative avec la ferme 2 et 4 ; La

ferme 4 ayant donné la teneur la plus faible en MG et une différence significative avec la ferme 1 et 5.

Les résultats des analyses physico-chimiques, sont généralement, compris dans les intervalles proches des normes internationales retenues pour le lait, seul le taux butyreux est en moyenne faible, il reste lié à la teneur en fourrage et à la nature des fibres des concentrés utilisés dans les rations pour les vaches laitières.

2. Discussion des résultats de l'analyse bactériologiques

✓ Flore mésophile aérobie totale :

C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseignent toujours sur la qualité hygiénique du lait cru. L'énumération de cette flore pour les 3 fermes de lait cru a montré qu'il y a une charge moyenne en microorganismes d'environ $3,325.10^5$ UFC/ml (F1V) et $2,825.10^8$ UFC/ml (F4V) et une moyenne de $3,39.10^7$ UFC/ml (F5V), (**Tableau 7**), Ces résultats sont importants et très variables.

En effet selon (**JORA N°39 du 2 Juillet 2017**), les seuils de contamination en flore totale pour les fermes F4V et F5V dépassent la norme fixée à 3.10^5 - 3.10^6 UFC/ml, par contre la ferme F1V répond parfaitement à la norme fixée.

✓ Coliformes totaux et fécaux :

Les laits analysés présentent une charge moyenne en coliforme totaux de $0,4.10^1$ UFC/ml (F1V), pour F4V une moyenne de $0,3.10^1$ UFC/ml, la F5V qui est présenté par une charge moyenne de $0,3.10^1$ UFC/ml et aussi une charge moyenne en coliforme fécaux de $0,3.10^1$ UFC/ml pour la F1V et une absence total de coliformes fécaux dans la F4V et la F5V. Ces résultats confirment une hétérogénéité entre les différents de laits analysés (**Tableau 8 et Tableau 9**).

La norme algérienne (**JORA N°39 du Juillet 2017**) concernant les coliformes étant fixée à 5.10^2 - 5.10^3 UFC/ml, nous constatons que la contamination du lait par ces germes est nettement inférieure et présentent une conformité à la norme. Ces résultats sont un signe d'une bonne hygiène au cours de la traite de plus l'eau utilisée pour le nettoyage (cuve, chariot traicteur et citerne de transport) est de bonne qualité microbiologique.

✓ **Clostridium sulfito-réducteur :**

Après obtention des résultats d'analyse de Clostridium Sulfito-Réducteur, nous avons constaté une absence totale de ce genre des micro-organismes dans le lait analysés des fermes F4V et F5V et un résultat non significatif dans la ferme F1V (**Tableau 10**) de ce fait répondent à la norme Algérienne qui est de 50 (**J.O.R.A. N°53 du 27 Mai 1998**). Ce qui montre que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage ou des balles rondes enrubannées mal conservées.

✓ **Staphylocoque Aureus :**

La norme concernant le Staphylococcus aureus est de 10^2 - 10^3 UFC/ml de germe dans le lait cru. Les résultats obtenus présentent une absence totale dans les trois fermes F1V, F4V, F5V. Cela veut dire que le lait répond à la norme. Cette conformité est l'œuvre d'une bonne hygiène du personnel chargé à la traite.

✓ **Salmonelles :**

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination, ce qui est conforme à la réglementation algérienne (**J.O.R.A n°39 du 2 juillet 2017**). En général, l'isolement de salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (**Affif et al, 2008**).

Alors cela désigne que Les vaches sont tous en bonne santé ou bien qu'ils ont subi un traitement efficace au cours de leurs maladies.

3. Discussion des résultats de l'analyse physico-chimiques des fromages

- ✓ Si nous observons le (**Tableau 13**) ci-dessus, nous remarquons que les valeurs de pH des fromages sont très proches, elles sont comprises respectivement entre **4,32** et **4,96** ; Les valeurs de pH sont considérées comme normal , Les valeurs de pH diffèrent d'un produit à l'autre, même si parfois, ils sont de la même région, ceci pour plusieurs causes comme : la méthode et la période de préparation du fromage, le type de lait utilisé, ou alors le type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri., 2009**).
- ✓ La mesure de l'acidité en degré Dornic a donné des valeurs variables et comprise entre **20** et **28** ;
- ✓ Le taux d'extrait sec varie entre **28,21%** et **40,01%** avec une moyenne de **36,33% ± 4,22**.
- ✓ Le taux de cendre est compris entre **0,32%** et **0,99%**.

- ✓ Le taux d'humidité des fromages oscille de **59,99 %** à **71,79 %**. La conformité de l'humidité est due à la bonne maîtrise des processus de séchage du lait

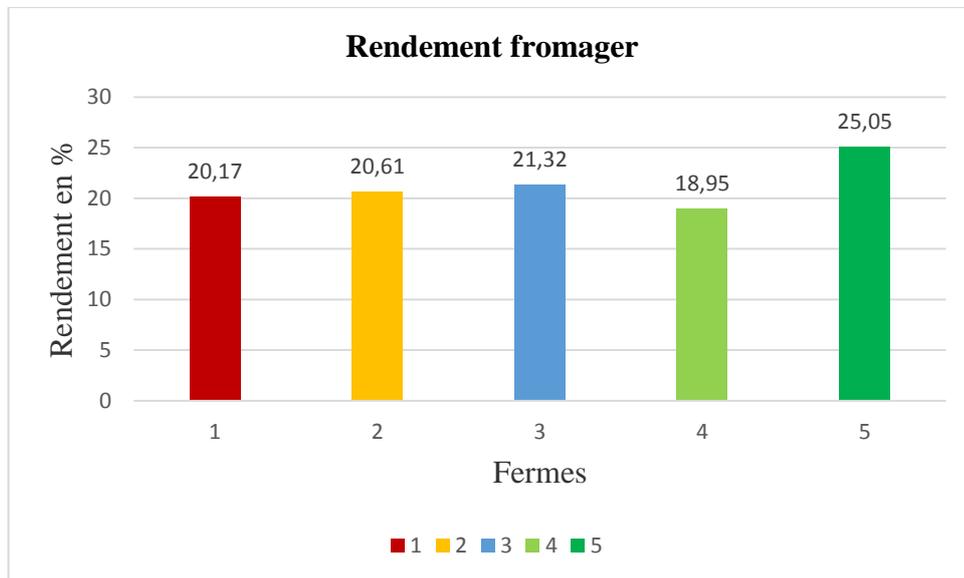


Figure 13. Histogramme du rendement fromager des fermes

Conclusion générale et Recommandations

Dans le présent travail, nous avons ciblé la qualité physico-chimique et microbiologique des laits de vaches crus collecté de la région de Guelma et essayé de fabriquer des fromages frais lactiques à partir de ces laits par l'utilisation d'un ferment du commerce et de la présure bovine comme agent de coagulation.

Le lait constitue un produit avec une composition non fixe, d'où l'utilisation non évidente de cette matière première, ce qui diminue par la suite les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits. La composition physico-chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs. Ces principaux facteurs de variation sont bien connus, ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (**S. Pougheon et J. Goursaud, 2001**).

Pour certains facteurs, comme le stade physiologique et la saison, l'éleveur n'a aucun moyen d'action, il est donc nécessaire d'en connaître les influences car elles peuvent expliquer certaines variations de la composition non seulement au niveau de l'individu, mais aussi au niveau des laits de mélange. Contrairement à ces derniers, la maîtrise de certains facteurs tels que les facteurs génétiques et l'alimentation est très intéressante puisqu'elle peut permettre à l'éleveur d'agir sur la composition du lait et améliorer ses caractéristiques.

Les flores microbiennes des laits crus ont un rôle déterminant sur la qualité technologique et sensorielle des fromages au lait cru. Des études portant sur le lait de vache montrent que la saison et certaines conditions d'élevage peuvent influencer sur les niveaux et les équilibres de ces microflore.

Les micro-organismes responsables d'altérations sont issus du milieu et des conditions de production. Leur développement dans le lait peut être à l'origine de l'altération de la qualité du fromage du fait de la dégradation de certains éléments protéiques, lipidiques ou glucidiques (lactose). Ces altérations se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture (**Beuvier et Feutry, 2005**), il s'agit alors d'une altération de la qualité marchande. D'autres altérations peuvent avoir

Conclusion générale et Recommandation

un impact sur la santé humaine, il s'agit alors d'une altération de la qualité sur le plan sanitaire. Les microflore précitées, comme par exemple les entérocoques, peuvent être à l'origine de défauts technologiques, selon les souches en présence et leurs niveaux dans les laits et les fromages.

A l'issue des résultats obtenus à partir de la partie expérimentale de notre mémoire nous pouvons dire que :

- ✓ Les résultats des paramètres physico-chimiques des différents échantillons de lait cru (25 échantillons provenant de 5 fermes différentes) et des cinq fromages (soit un fromage pour chaque ferme) fabriqués par coagulation mixte sont tous proches entre elles et sont en accord avec la norme internationale FAO.
- ✓ Les résultats bactériologiques des germes bactériennes (FMAT, Coliforme totaux et fécaux, clostridium sulfite-réducteur, staphylocoque Aureus, salmonelle) recherchées dans les différentes fermes répondent à la norme fixée par le journal officiel de la république Algérienne (**JORA N°39 du Juillet 2017**), **seul** les fermes F4V et F5V répondent pas à la norme Algérienne en la dépassant largement.

Compte tenu des résultats des paramètres physico-chimiques et bactériologiques, analysées étaient sains et propre à la transformation ce qui nous a permis de procéder à la fabrication de quelques fromages frais lactiques.

Par ailleurs il est a noté que le travail au laboratoire n'est pas chose aisé il convient de souligner qu'on a rencontré quelques problèmes à partir desquelles nous avons jugés nécessaire d'élaborer quelques recommandations afin de faciliter la tache à nos prédécesseurs, ces recommandations sont entre autre :

- ✓ axer d'avantage la formation sur l'apprentissage de la microbiologie ;
- ✓ inclure plus de séances de TP dans les modules constituant la base de la spécialité ;
- ✓ Doter les laboratoires de plus de matériels car il existe un véritable manque
- ✓ Apporter de nouveau milieux de cultures, ceux présents au laboratoire sont presque tous périmé ;
- ✓ Repousser l'heure de fermeture des laboratoires lors des travaux de mémoires ;

Conclusion générale et Recommandation

- ✓ Assurer la disponibilité d'eau courante dans chaque laboratoire lors des travaux de mémoires.

Enfin, il convient de souligner que ce travail n'est qu'une contribution préliminaire pour un tel thème d'importance capitale pour une région agricole tel que Guelma. C'est le prélude d'autre recherches, que nous espérons seront plus approfondie car il ouvre plusieurs piste à des études plus ciblées. Néanmoins, nous espérons tout de même avoir atteint les objectifs fixés et que notre étude fera appel à d'autres recherches ultérieures.

Références bibliographiques

A

- Achezegag F. Z et F. Zerarka et Merided Fatima (2008).** Analyse microbiologique des produits laitiers (Le yaourt) .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie. Université d'Ouargla, pp48.
- Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995).** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). Pp : 251-258.
- Afnor, 1986.** Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises
- Alais C, 1975.** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
- Alais, 1984 ; Claude et Champagne, 1998.** Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3ème édition, édition Publicité France.
- Alais, 1984 et Vignola, 2002.**La micelle de caséine et la coagulation du lait. In Science du lait : Principes des techniques laitières. Paris : Ed. Sepaic, 1984, 4e ed. 723-764 ; et Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).
- Anonyme, 2009.**Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1ereédition.France Agricole, institut de l'élevage : 554p.
- ARRÊTÉ INTERMINISTÉRIEL du 25 janvier 1998 (JORA).** Relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce. JORA N°35, 1998, Algérie.

B

- Badinand F, 1994.**Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec. Méd. Vét. n°170.
- Bencherif, 2001.**Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches 32: 25-45.
- Beuvier et Feutry, 2005.**Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage.<http://www.pole-fromager-aoc-mc.org/doc/Basesmicrobiologie.pdf>.
- Bonnyfoy C., Guillet F, Luyral G., Bourdis E-V. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.
- Blanc, 1982 ; Pougheon, 2001.** Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. Pp : 350-395.

Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.

Boutonnier, 2008. Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.

C

Cniel, 2006.Produit laitier. Maison de lait

Coulon et Hoden en (1991). Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

Cayot et Lorient, 1998. Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

Codex STAN 283-1978.Codex Alimentarius. (1999). Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. Pp : 1-4.

D

Debry, 2001.Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).

Dillon, 2008. Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude.Edition A. P.G (Agro Paris Tech).

Dieng, 2001. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

E

Evette, 1975. La fromagerie.- Paris : Presses universitaires de France, 140 p.

Eck et Gillis, 1990.Le Fromage, De la science à l'assurancequalité ; 3e éd-Paris, 891p.

F

FAO (2010).Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Laits de consommation <http://www.horizon.documentation.ird.fr>.

FAO, 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO alimentation et nutrition n°28.

G

Goursaud, 1985. Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Gordon et Loisel, 1991. Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris.

Guiraud, 1998. Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits laitiers. Edition DUNOD, Paris, 65.

Gros Claude 1988, Aleandri et al 1990. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. Relations avec la quantité, la composition et les aptitudes fromagères du lait. INRA Prod. Anim., 1, 5-17.

Grandison et al 1985, Vertès et Hoden 1989, Laurent et al 1992. Chemical composition, rennet coagulation properties and flavour of milk from cows grazing ryegrass or white clover. J. Dairy Res., 52.

Grandison A.S., Ford G.D., Owen A.J., Millard D., 1984. Chemical composition and coagulating properties of renneted Friesian milk during the transition from winter rations to spring grazing. J. Dairy Res., 51, 69-78.

H

Hebboul, F.Z., Mazouzi, H., Soltani, S. 2005. Etude comparative de la qualité alimentaire entre trois types de lait frais : bovin, caprin, camelin. Mémoire d'ingénieur, Département de Biologie, Université de Laghouat. 71 pages.

Hurtaud C., Buchin S., Matin B., Verdier-Metz I., Peyraud J.L et Noël Y. (2001). La qualité des laits et ses conséquences sur la qualité des produits de transformation : quelques techniques de mesure dans les essais zootechniques. Renc. Rech. Ruminants, n°8. pp: 35-42.

J

JORA N°39 du Juillet 2017.Arête interministériel de 23 juillet 1994. Relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

Jakob et Hänni en 2004.Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.

Jeantet R, Ducept F, Dolivet A, Méjean S, Schuck P., 2008. Residence time distribution: a tool to improve spray-drying control and product quality. Dairy Science & Technology 88, 31-43.

Joffin C et Joffin J.N. (1999) : Microbiologie alimentaire 5eme édition collection biologie Technique : 211p.

K

Kechaoui, 2013. Le lait compositions et propriétés. 37 p.

L

Larpent, 1997. Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P.

Luquet, 1985.Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

Lenoir, J., Lamberet, G., Schmidt, J.L., 1983. L'élaboration d'un fromage : l'exemple du camembert. Pour La Science 69, 30-42.

Luquet et Corrieu, 2005.Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Techniques et Documentation, Lavoisier. Paris 307p. 31- LUQUET F.M., 1990. Lait et Produits Laitiers vache, brebis, chèvre. Tome II, Technique et Documentation, 2emeEdition, Lavoisier, Paris. n.p.

Leveau et Bouix, 1993.Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel.

M

Macheboeuf D., Coulon J.B., D'Hour P., 1993.Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows 'milk coagulation properties. J. Dairy Res., 60, 43-54.

Marchin, 2007.Fondements physicochimiques de la technologie laitière

Références bibliographiques

- Martin et Coulon, 1995.** Martin B, Coulon JB (1995) Facteurs de production des laits et caractéristiques des fromages. 1. Influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de troupeaux. Lait 75, 61-80.
- Mathieu, 1998.** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- Morrissey, 1995.** Dunn, K.A. and J.F. Morrissey, 1995. Molecular phylogeny of elasmobranchs. Copeia 1995(3):526-531. Ref. No. 37124.
- Miranda et Gripon, 1986.** Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk. International dairy journal, n°66. Pp:1-18.
- Meyer et Denis, 1999.** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.
- Marziali et Ng-Kwai-Hang, 1986.** A. Relationships between milk protein polymorphism and cheese yielding capacity. J Dairy Sci. 69:1193. B. Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. J. Dairy Sci. 69:2533.

O

- Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D. S., Tano-Debrah, K., Glover, R. L., & Jespersen, L., (2012).** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. Food microbiology, 32(1), 72-78.
- Ouadghiri., 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine.
- Okigbo. R, G. Richardson, R. J. Brown, C. A. Ernstrom 1985.** Article: Interactions of Calcium, pH, Temperature, and Chymosin during Milk Coagulation.

P

- Pougheon, 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 34 (102 pages).

R

- Remeuf F., Cossi N., Dervi N. et Tomasson R. (1991).** Relation entre les paramètres physico-chimiques du lait et son aptitude fromagère. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 549p.
- Roudaut et Lefranc, 2005.**Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.
- Richard, 1990 et Guiraud, 1998.**Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. Microb-Hyg-alim 2 (1) : 33p.
- Robinson, 2002.** Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York.780p.
- Remeuf F., Lenoir J., Duby C., 1989.** Etude des relations entre les caractéristiques physicochimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. Lait, 71, 275-297.

S

- Stoll, 2003.** Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait, vol 9, [http:// www.db- alp-admin-ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-alp-admin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf).
- Spike et Freeman en (1967).**SPIKE P.W., FREEMAN A.E., 1967. Environnementalinfluences on monthly variation in milk constituents. J.Dairy Sci., 50, 1897-1904.
- S. Pougheon et J. Goursaud, 2001.**Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).
- Storry et Ford, 1982.et Martin et Coulon, 1995.**Some factors affecting thepost clotting development of coagulum strength inrenneted milk. J Dairy Res 49, 469-477 et Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. II Influence des caractéristiques des laits de troupeaux et des pratiques fromagères sur les caractéristiques du Reblochon de Savoie fermier. Lait (sous presse).
- Sutton 1989, Hoden et Coulon 1991.**Variations in milk output and milk protein content in response to the level of energy supply to the dairy cow: a review. Lives. Prod. Sci., 29, 31-47.

T

Références bibliographiques

Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004). Une priorité pour la recherche : la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.

V

Vilain, 2010. Qu'est-ce que le lait? Revue française d'allergologie, 50(3), 124-127.

Veisseyre, 1979. Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris.

W

Wolter, 1988. Alimentation de la vache laitière. 3^{ème} édition. Editions France Agricole. Paris.

Z

Zannoni et Annibaldi, 1981. Standardization to the renneting ability of milk by Formagraph. Scienza e Technica Lattiero Casearia, 32, 79-94.

Annexes

Annexes 1. Milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés lors de la présente étude sont :

- ✓ Milieu solide:
 - Gélose Chapman.
 - Gélose Hektoen.
 - Gélose Plate Count Agar (PCA).
 - Gélose Viande Foie (VF).
- ✓ Milieu liquides:
 - Bouillon Sélénite acide de Sodium et à la cystéine (SFB + Cystéine).
 - Bouillon lactosé bilié au vert brillant(VBL)
 - Bouillon eau Peptonée exempte d'indole
- ✓ Appareillage et verrerie:
 - Acidimètre Dornic
 - Autoclave
 - Agitateur électromagnétique
 - Bain marie
 - Balance électrique de précision
 - Bécher
 - Bec Bunsen
 - Boîtes de pétri
 - Capsule
 - Dessiccateur
 - Etuve réglables à différentes températures
 - Erlenmeyer
 - Electrode combinée
 - Flacon de 250ml en verre stériles
 - Flacon pour milieu de culture
 - Four pasteur
 - Gants stérilisés
 - Lactodensimètre KELVIN
 - pH mètre
 - Pipette gradué
 - Pipette pasteur stériles.
 - Spatule stérile
 - Thermomètre
 - Tubes à essai
- ✓ Solution et Réactifs :
 - Additive Alun de fer
 - Additif huile de paraffine
 - Phénophtaléine

- Réactif de KOVACS
- Solution titré d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9)

Composition de milieu de culture.

- ✓ Plate Count Agar(PCA) :
 - Bio trypase5g
 - Extrait de levure.....2.5g
 - Glucose1g
 - Aga.....15g
 - Eau distillée.....1000ml
 Autoclave 15min a 115°C
- ✓ Milieu de Chapman (gélose de mannitol) :
 - Extrait de viande de bœuf.....1g
 - Bio-polytone10g
 - Chlorure de sodium.....5g
 - D-mannitol.....10g
 - Gélose.....15g
 - Rouge de phénol.....0.025g
 - Eau.....1000ml
 - pH final.....7.4
 - autoclave : 15 min 121°C
- ✓ Gélose Hektoen :
 - Protéose-peptone12g
 - Extrait de levure3g
 - Chlorure de sodium.....5g
 - Thiosulfate de Sodium5g
 - Sels biliaires.....9g
 - Citrate de fer ammoniacal.....1.5g
 - Salicine.....2g
 - Lactose12g
 - Saccharose.....12g
 - Fuscine acide0.1g
 - Bleu de bromothymol.....65g
 - Gélose.....13g
- ✓ Milieu VBL :
 - Milieu de culture déshydraté.
 - Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
 - Formule en g/l_n d'eau distillée :
 - Peptone de viande.....10
 - Bile de bœuf desséchée.....20
 - Lactose.....10
 - Vert brillant.....23ml
 - pH=7.4

❖ Préparation

- Dissoudre de 40g dans un litre d'eau distillée.
- Autoclave 15 à 121 °C
- Conserver dans un endroit frais et en absence d'humidité.
- ✓ Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine (SFB) :
 - Peptone de caséine.....5g
 - L-mannitol.....0.01g
 - Lactose.....4g
 - Phosphate de sodium.....4g
 - Eau distillée.....1000ml
- ✓ Bouillon eau Peptonée exempte d'indole
 - Milieu de culture déshydraté.
 - Pour la recherche de la production d'indole par les bactéries.
 - Formules en g/l d'eau distillée :
 - Peptone10g
 - Tryptone.....10g
 - Chlorure de sodium.....5g
 - pH=7.2
- ❖ préparation :
 - dissoudre 25g de poudre bouillon Eau Peptonée dans un litre d'eau distillée.
 - Autoclave 15 à 121°C.
 - 250g de poudre permettent de préparer 10 l du milieu.
 - Conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.

Composition des diluants (g/l)

❖ Eau Peptonée :

- Peptone 1g
- Chlorure de sodium 8,5g
- Eau distillée 1000 ml

❖ Eau Peptonée tamponnée :

- NaCl 5g
- Peptone10g
- Na₂HPO₄, H₂O.....9g
- KH₂PO₄.....0.3g
- Eau distillée 1000 ml

❖ Eau physiologie 9 /ml NaCl

- NaCl 9g
- Eau distillée 1000 ml

Annexe 2. Recherche du NPP (Nombre le plus probable) avec la Table de Mac Grady

❖ Technique

Trois dilutions du produit sont préparées. Chaque dilution estensemencée dans trois tubes de BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant avec cloche de Durham, à raison de 1ml par tube. Après 24 h à 48 h d'incubation à 37 °C, la présence de gaz dans les tubes de BLBVB confirment la présence des coliformes dans l'échantillon. Le nombre de tubes positifs pour chaque dilution est compté, la somme correspond au nombre caractéristique. Le résultat est exprimé dans la table de Mac Grady (ci-dessous) par le nombre le plus probable (NPP) de coliformes dans un millilitre ou 1 gramme de produit.

❖ Table de Mac Grady : (3 tubes)

3 tubes par dilution			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	222	3.5
001	0.3	223	4.0
010	0.3	230	3.0
011	0.6	231	3.5
020	0.6	232	4.0
100	0.4	300	2.5
101	0.7	301	4.0
102	1.1	302	6.5
110	0.7	310	4.5
111	1.1	311	7.5
120	1.1	312	11.5
121	1.5	313	16.0
130	1.6	320	9.5
200	1.9	321	15.0
201	1.4	322	20.0
202	2.0	323	30.0
210	1.5	330	25.0
211	2.0	331	45.0
212	3.0	332	110.0
220	2.0	333	140.0
221	3.0		

Annexe 3. Resultat des Plaques API 20 Staph

Fsv staph. CE 0722 B REF: _____

api® Staph Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : _____

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4				
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	
0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Autres tests / Other tests / Andere Tests / OTRAS pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy : **COO 2 003**

Ident. / Ταυτοποίηση : **Micrococcus SPP**

Imprimé en France / Printed in France

Fsv staph. CE 0722 B REF: _____

api® Staph Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : _____

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4				
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	
0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Autres tests / Other tests / Andere Tests / OTRAS pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy : **0 0 0 0 0 3**

Ident. / Ταυτοποίηση : **Micrococcus SPP**

Imprimé en France / Printed in France

Fsv staph. CE 0722 B REF: _____

api® Staph Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : _____

BIOMÉRIEUX

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4				
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2	3	0
100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	88%	100%	61%	100%

Autres tests / Other tests / Andere Tests / OTRAS pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy : **0000123**

Ident. / Ταυτοποίηση : **Micrococcus SPP**

Imprimé en France / Printed in France

Annexe 4. Lecture de la galerie miniaturisée API staphylocoque

Tests	Composants actifs	Réactions /Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β D-galactopyranoside	β -galactosidase (Ortho Nitro Phényl- β D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange /rouge
LDC	L-lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Orange /rouge
ODC	L-Ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Orange /rouge
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du Citrate	Vert pâle - jaune	Bleu-vert-bleu
H ₂ S	Sodium thiosulfate	Production d' H ₂ S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange /rouge
TDA	L-tryptophane	Tryptophane Desaminase	TDA immédiat	
			Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d' Indole	JAMES immédiat	
			Incolore-vert pâle - jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétone	VP1+VP2/10min	
			Incolore - rose pâle	Rose - rouge
GEL	Gélatine (origine bovine)	Hydrolyse (protease) (Gélatine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment
GLU	D-glucose	Fermentation -oxydation (Glucose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation -oxydation (Mannitol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
INO	Inositol	Fermentation -oxydation (Inositol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
SOR	D-sorbitol	Fermentation -oxydation (Sorbitol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
RHA	L-rhamnose	Fermentation -oxydation (Rhamnose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
SAC	D-saccharose	Fermentation -oxydation (Saccharose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
MEL	D-melibiose	Fermentation -oxydation (Melibiose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
AMY	Amélobiose	Fermentation -oxydation (Amélobiose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
AR3	L-arabinose	Fermentation -oxydation (Arabinose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris