

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE -ALGER
المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**FABRICATION DE FROMAGE A PATE PRESSEE NON CUITE A PARTIR
D'UNE COAGULASE D'ORIGINE SYNTHETIQUE ET A PARTIR D'UNE
PRESURE BOVINE
ETUDE COMPARATIVE**

**Présenté par : LEZZOUM SARA
MESSAD SARA**

Soutenu le : 18/06/2008

Le jury :

- **Président :** Mr BENDEDDOUCHE B (M.C)
- **Promoteur :** Mr HAMDI T-M (M.C)
- **Examineur :** Mme CHAHED A (C.C)
- **Examineur :** Mme CHORFI N (M.C)
- **Examineur :** Mme MOUZALI L (C.C)

Année universitaire : 2007/2008

REMERCIEMENTS :

Nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage, la volonté et le savoir faire pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier profondément et sincèrement notre promoteur Mr HAMDI T-M pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ses encouragements et sa confiance en nous.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Mr BENDEDDOUCHE B pour avoir accepté de présider notre jury, ainsi qu'aux membres de jury : Mme CHAHED A, Mme CHORFI N et Mme MOUZALI L de nous avoir honoré de leur présence et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions également Mr KRIM K ; Mr SABAOU K et Mr MALAOUI S ainsi que tous les membres du personnel du laboratoire et de l'atelier de fromage EDAM de la LFB pour leurs aide et leur patience durant notre expérimentation.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mr MAIZA A de nous avoir accueilli et orienté.

Notre reconnaissance va particulièrement à ADAM pour toute l'aide qu'il nous a apporté.

Enfin, nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES :

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers:

A mes parents qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études, que Dieu les garde pour moi et leur procure santé et longue vie.

A mes frères KOUIDER et REDHA.

A mes soeurs GOUSSEM et DALEL.

A tous les membres de ma famille.

A mon âme sœur, ma chère binôme SARA.

A Mr BOUZIANE A-M

A la très chère NASSIMA.

A tous mes amis (es) de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

SARA. L

DEDICACES :

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers:

A mes parents qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études, que Dieu les garde pour moi et leur procure santé et longue vie.

A mon chère adorable frère YASSIN.

A ma petite sœur NARIMAIN.

A mes tantes SOUAD et NADIA ainsi que mes oncles MUSTAPHA, SAID et MOHAMED.

A mes cousins MAROINE et SABER et mes cousines AMEL, DJOUHAR et SABRINE et à toute ma famille.

A mon âme sœur, ma chère binôme SARA.

A Mr BOUZIANE A-M

A la très chère NASSIMA.

A tous mes amis (es) de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

SARA. M

LISTE DES ABREVIATIONS :

- Abs : Absence.
- CaCl₂ : Chlorure de Calcium.
- EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique.
- ESD : Extrait Sec Dégraissé.
- EST : Extrait Sec Total.
- FAO : Food and Agriculture Organisation.
- g : Gramme.
- JORA : Journal Officiel de la République Algérienne.
- LFB : Laiterie Fromagerie de Boudouaou.
- Max : Maximum.
- MG : Matière Grasse.
- MGLA : Matière Grasse du Lait Anhydre.
- Min : Minimum.
- min : Minute.
- ml : Millilitre.
- mm : Millimètre.
- N : Normalité
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- ONALAIT : Office National du Lait.
- ORLAC : Office Régional du Lait – Centre.
- pH : Potentiel Hydrogène.
- SOFRAM : Société de Fromage de la Mitidja.
- TA : Titre Alcalimétrique.
- TAC : Titre Alcalimétrique Complet.
- TH : Titre Hydrométrique.
- U.I : Unité Internationale
- UP : Unité Présure.
- UPL : Unité de Production Laitière.
- °B : Degré Baumé.
- °C : Degré Celsius.
- °D : Degré Dornic.
- °F : Degré Français.
- µg : Microgramme.

SOMMAIRE :

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Données générales sur le fromage.....	2
I-1- Origine des fromages.....	2
I-2- Définition.....	2
I-3- Composition	2
I-4- Classification.....	4
I-5- Aptitude du lait à la transformation fromagère.....	6
II- Mécanismes de la transformation du lait en fromage à pâte pressée non cuite type EDAM.....	6
II- 1- Présentation du fromage type EDAM.....	8
II-2- Préparation du lait	9
II-2-1- Préparation du lait sur le plan microbiologique.....	9
II-2-2- Préparation du lait sur le plan physicochimique	11
II-3- Caillage.....	11
II-3-1- le caillage par acidification.....	11
II-3-2- le caillage par voie enzymatique.....	12
II-3-3- le caillage mixte.....	14
II-4- Egouttage.....	14
II-5- Salage	15
II-6- Affinage.....	16

PARTIE PRATIQUE

I- Présentation de l'unité Laiterie Fromagerie de Boudouaou (LFB)	17
II- Etude expérimentale	18
II- 1-Matériel et méthodes	18
II-1-1-Matériel	18
II-1-1-1-Analyses physicochimiques	18
II-1-1-2-Analyses bactériologiques	18
II-1-1-3-Matériel utilisé au cours de la fabrication	18
II-1-2-Produits et réactifs	19
II-1-2-1-Enzymes utilisées	19
II-1-2-2-Lait cru	19
II-1-2-3-Lait recombinaison	19
II-1-2-4-Milieus de culture et réactifs pour les analyses microbiologiques	19
II-1-2-5-Réactifs pour les analyses physicochimiques	19
II-1-3-Méthodes	19
II-1-3-1-Mesure de l'activité coagulante des enzymes utilisées	19
II-1-3-2-Analyses physicochimiques	20
II-1-3-3-Analyses bactériologiques	20
II-1-2-4-Procédé de la fabrication	21
II-1-2-5-Calcul du rendement fromager	25
II-2- Résultats et discussions	26
II-2-1-Résultats de la mesure de l'activité coagulante	26
II-2-2-Résultats des analyses effectuées sur la matière première	26
II-2-3-Résultats des analyses effectuées au cours de la fabrication	30
II-2-4-Résultats des analyses effectuées sur le produit fini	32
II-2-Rendement fromager	36
CONCLUSION	38

INTRODUCTION :

La transformation du lait en fromage nécessite l'utilisation d'un agent coagulant traditionnellement obtenu à partir de la caillotte du veau non sevré appelée « présure ».

Durant ces dernières années, nous assistons à une demande de plus en plus croissante de cette enzyme en raison d'une augmentation régulière de la production mondiale du fromage, or la production de la présure ne progresse pas de la même manière et va même en diminuant en raison de fluctuations de la disponibilité et de la qualité présurière des caillottes dont l'approvisionnement est étroitement tributaire du marché de la viande. Cette situation a suscité de multiples recherches pour trouver et commercialiser des produits de remplacement de la présure, utilisables industriellement. Cela a débuté il y a environ 50 ans en Inde et en Israël pour des causes plutôt sociales : les végétariens refusent de consommer du fromage fait avec de la présure animale, tandis que pour les musulmans, l'utilisation de présure porcine est hors de question, ce qui est une raison importante pour trouver des substituts adéquats.

Considérant le faible rendement en enzymes, offert par le bovin, le porc, certains crustacés et végétaux, l'extrapolation industrielle est impossible ; par contre, les microorganismes possèdent des aptitudes exceptionnelles avec des résultats parfois supérieurs à ceux de la présure.

L'objet de notre étude est la fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type Edam en utilisant d'une part une présure d'origine bovine et d'autre part une coagulase d'origine synthétique (obtenue par génie génétique). Pour chaque enzyme, nous utiliserons 2 types de lait : le lait cru et le lait recombiné.

Une étude qualitative des aspects microbiologiques et physicochimiques des matières premières et des produits finis sera également envisagée.

Le but recherché étant l'évaluation du rendement fromager de la coagulase synthétique par rapport à l'utilisation de la présure, ainsi que l'étude qualitative des fromages obtenus.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

I- Données générales sur le fromage :

I-1- Origine des fromages :

Le tout premier fromage a vu le jour il y a des siècles, au sein des peuplades nomades. Les nomades parcouraient le désert avec leurs animaux. Ces éleveurs conservaient le lait frais dans un sac fabriqué à partir de la caillette d'un bœuf ou d'un chameau. Ils découvrirent que le lait avait caillé pendant le transport, il semblait avoir pris une autre forme, mais son goût se révéla délicieux. C'est ainsi qu'est né le fromage (ST-GELAIS et TIRARD-COLLET, 2002)

I-2- Définition :

La norme FAO/OMS n° A-6 (1978, modifiée en 1990) donne la définition suivante:

Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu :

Par coagulation du lait entier, écrémé, ou partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaisons, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. Par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des matières obtenues à partir de lait, présentant des caractères physiques, chimiques et organoleptiques similaires à ceux du produit défini plus haut.

Selon cette même norme citée précédemment :

- le fromage «affiné» est celui qui n'est pas prêt à la consommation immédiatement après la fabrication, qui doit être maintenu pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage.
- le fromage «affiné aux moisissures» est celui dont l'affinage est provoqué essentiellement par la prolifération de moisissures caractéristiques dans la masse et/ou sur la surface du fromage.
- le fromage «frais ou non affiné» est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après la fabrication.

I-3- Composition :

Le fromage est un aliment ayant une valeur énergétique assez importante qui lui est procurée par les protéines, les lipides et les glucides sachant qu'il contient aussi des sels minéraux et des vitamines (LUQUET, 1986).

***Les protéines :**

Selon le mode de fabrication, les fromages peuvent contenir de 10 à 30% de protéines. Ce sont les aliments les plus riches en protéines, en particulier les fromages à pâte pressée dont la teneur en protéines (30%) dépasse celle de la viande (20%) (ECK et GILLIS, 1997).

Les protéines sont composées de caséines et de protéines solubles

*Les caséines: Représentent près de 80% de tout l'azote du lait, ceux sont les pièces maîtresses de la fabrication fromagère, ceux sont elles qui créent la charpente (matrice) du fromage, elles sont au nombre de quatre (VIGNOLA, 2002): $\alpha s1$; $\alpha s2$; β et κ

En présence de phosphate de calcium elles forment des micelles de caséines stables (phase colloïdale) qui sont en équilibre avec la phase soluble du lait.

Au cours de l'affinage, une partie importante (entre 20 et 30% selon les fromages) se trouve dégradée et solubilisée en oligopeptides et acides aminés sous l'influence d'une série d'enzymes, ce qui confère au produit final sa texture et sa saveur.

***Les protéines sériques :**

La lactoglobuline et la lactalbumine contribuent peu au développement de la structure des fromages, comme elles sont solubles, elles sont en bonne partie éliminées dans le lactosérum lors de l'égouttage (APFELBAUM et al., 1989); cependant, étant donné qu'elles sont thermosensibles, tout traitement thermique prodigué au lait de fromagerie peut provoquer la dénaturation d'une partie de ces protéines qui restera emprisonnée dans la matrice caséique. Les protéines du lactosérum dénaturées ayant la propriété de retenir l'eau, leur incorporation abusive dans un fromage peut provoquer l'apparition de défauts de texture et de saveur (VIGNOLA, 2002).

***Les lipides :**

Les lipides du lait se trouvent sous forme émulsionnée dans le fromage, ce qui les rend plus digestibles.

Ils conditionnent l'onctuosité de la pâte du fromage (ECK et GILLIS, 1997). La matière grasse est constituée de triglycérides et d'acides gras. Au cours de la maturation du fromage, des enzymes lipolitiques peuvent hydrolyser les triglycérides et libérer des acides gras dont certains sont volatils et interviennent dans la formation de l'arôme et de la saveur au cours de l'affinage.

La matière grasse joue un rôle important dans la formation de la structure d'un fromage. Elle contribue également au rendement fromager (VIGNOLA, 2002) ; pour un fromage donné, il faut adapter le procédé de fabrication, si nécessaire le modifier, mais essentiellement bien le contrôler

pour retenir le maximum de gras dans le lactosérum et obtenir un rendement fromager optimal. Pour une dénomination de fromage, la teneur en lipides est fixée par rapport au poids sec car il y a modification progressive du poids du fromage par évaporation d'eau : un fromage de 45% de matière grasse n'apporte donc pas 45g de lipides par 100g de fromage (APFELBAUM et al., 1989).

*Les glucides :

Les fromages se caractérisent par la disparition totale ou presque totale des glucides (APFELBAUM et al., 1989).

Les fromages affinés sont pratiquement dépourvus de glucides car la faible quantité de lactose restant dans le caillé après égouttage est transformée en acide lactique au cours de l'affinage.

Il est essentiel de bien contrôler la production d'acide lactique en cours de fabrication car elle fait abaisser le pH du lait favorisant ainsi sa coagulation (VIGNOLA, 2002).

*Le calcium et le phosphore :

La teneur en calcium et en phosphore varie suivant les fromages (APFELBAUM et al., 1989), en fonction de l'égouttage, du pH et des procédés technologiques (ECK et GILLIS, 1997). Par exemple la diminution du pH accroît sensiblement la solubilité du calcium et du phosphore avec pour conséquence leur fuite dans le lactosérum (cas d'acidification et fermentation lactique) ; mais malgré ces variations, les fromages sont des aliments riches en calcium et présentent une teneur en phosphore importante mais inférieure à celle du calcium.

*Le sodium :

La quasi-totalité des fromages affinés sont salés au cours de leurs fabrications, il en résulte des taux de sodium très variables mais presque toujours élevés.

*Le potassium, le magnésium et les oligo-éléments :

Ils sont rarement dosés dans le fromage, le potassium et le magnésium sont entraînés dans le lactosérum, mais le sort des oligo-éléments n'est pas toujours lié à celui du lactosérum, car certains d'entre eux sont associés à des fractions protéiques ou lipidiques du lait auxquelles ils restent fixés au cours de l'égouttage (VIGNOLA, 2002).

*Les vitamines :

Par rapport au lait, les vitamines du fromage sont modifiées : par destruction pour certaines lors de la maturation ; par élimination pour d'autres lors de l'égouttage.

-les vitamines liposolubles: A et D accessoirement E, en fonction de la richesse du produit en lipides (ECK et GILLIS, 1997).

- les vitamines hydrosolubles: varient selon les fromages et résultent de deux facteurs:

- La perte qui survient au cours de l'égouttage.
- L'enrichissement qui survient au cours de l'affinage.

I-4- Classification :

LENOIR et al., 1983 ont donné une vue synthétique et didactique de la diversité des fabrications fromagères.

Les modalités de coagulation, d'égouttage et d'affinage du caillé conduisent à une grande diversité de fromages.

***Les fromages à pâte fraîche :**

Comme leur nom l'indique, ces fromages ne subissent aucun affinage, puisqu'ils sont consommés quelques heures après leur fabrication, mais ils sont néanmoins sous l'influence des ferments lactiques. Leur égouttage étant lent, ils contiennent encore une grande quantité de lactosérum. Sous un faible volume, ils présentent presque toutes les qualités du lait.

Exemples : petit suisse, cottage (LUQUET, 1990).

***Les fromages à pâte molle :**

Cette catégorie comprend une telle variété de fromages qu'elle mérite d'être subdivisée.

Disons que les pâtes molles comprennent tous les fromages fermentés qui ne sont ni pressés ni cuits. Ils doivent leur nom au fait qu'ils sont relativement souples. Plus égouttés que les pâtes fraîches, leur taux d'humidité oscille autour de 50% (VIGNOLA, 2002). Selon le mode d'ensemencement, de salage et d'affinage, on distingue:

1- Les fromages à croûte fleurie :

Cette catégorie doit son nom aux moisissures qui fleurissent sur la croûte. En vieillissant, la fleur blanche fait progressivement place à une teinte pain doré, lorsqu'elle brunit le fromage est trop fait, il coule et il pique.

Exemples : Brie, Camembert

2- Les fromages à croûte lavée :

Cette catégorie est dite à croûte lavée du fait qu'elle implique un lavage régulier de la surface avec une solution saline.

Exemples : munster, livarot

3- les fromages à pâtes persillées :

Familièrement appelés « Bleus », ces fromages doivent leur nom à la moisissure qui persille leur pâte et leur donne cette saveur si spécifique

Exemple : bleu canadien, roquefort.

***Les fromages à pâte pressée non cuite :**

Alors que l'égouttage des pâtes fraîches et des pâtes molles s'opère naturellement, cette variété doit son nom au fait que l'expulsion de l'excédent de sérum du caillé se fait d'abord par une division assez poussée du caillé puis par pression mécanique. Pour faciliter l'opération, le caillé a généralement été découpé en grains fins, puis chauffé légèrement pendant un certain temps. En effet

on devrait dire à pâte pressée non cuite, à caillé divisé et à égouttage accéléré (LE JAOUEN, 1977). Ces fromages sont : coagulés, décaillés, égouttés, moulés, mis sous presse, démoulés et salés. Cependant, le taux d'humidité de ces fromages ne diffère pas sensiblement de celui des pâtes molles. Après leur sortie de presse, certains de ces fromages sont mis dans de l'eau salée où ils restent quelques jours selon les cas. Ensuite ils sont retournés et lavés à l'eau salée chaque jour jusqu'à ce que la croûte soit bien formée. Certains à la sortie de la cave d'affinage sont plongés dans un bain de paraffine teintée en rouge. Ces fromages présentent sur les pâtes molles l'avantage de se conserver plus longtemps.

Exemple : Edam, Gouda

*Les fromages à pâte cuite et pressée :

Ces fromages ont une longue période d'affinage pouvant aller jusqu'à 6 mois voir un an, leur pâte est ferme et pressée en cours de fabrication, ils diffèrent de la catégorie précédente car après découpage, le grain est réchauffé dans le sérum (ECK et GILLIS, 1997), toutefois cette cuisson se fait à température modérée.

Exemple : emmental, comté.

*Les fromages fondus :

Ces produits doivent renfermer au moins 40% de matière grasse et au maximum 50% d'humidité. Ils sont fabriqués principalement avec des fromages à pâte dure, pressée, cuite ou non cuite (APFELBAUM et al., 1989) quelquefois impropres à la vente mais pas forcément à la consommation, additionnés éventuellement de lait, de crème, d'épices ou d'arômes.

Exemple : fromages à tartiner en portions.

Nous nous intéresserons uniquement aux fromages à pâte pressée non cuite.

I-5- Aptitude du lait à la transformation fromagère :

Depuis toujours, la transformation du lait en fromage a permis de conserver les éléments nutritifs du lait sur des périodes plus ou moins longues. Cependant la qualité du produit final est fonction de la qualité initiale du lait ainsi que des différents traitements technologiques subis.

I-5-1- influence de la qualité du lait :

La qualité du lait de fromagerie peut être définie comme son aptitude à donner un bon fromage, avec un rendement satisfaisant.

Elle dépend d'un certain nombre de caractéristiques du produit (ECK et GILLIS, 1997) :

*Influence du pH :

Le lait a une réaction ionique voisine de la neutralité comprise entre 6,6 et 6,8 et c'est un pH favorable pour la plupart des levains lactiques, en dehors de cet intervalle le lait devient défavorable

pour la croissance correcte des levains (lait acide : colostrum, lait alcalin : lait de mammite ; de fin de lactation et de rétention).

L'influence du pH du lait sur le temps de floculation et sur la fermeté du gel est très sensible, le pH optimal pour la coagulation est voisin de 5,5. En revanche à pH élevé, supérieur à 7, il n'y a plus de coagulation, l'enzyme étant rapidement inactivée.

***Influence de la concentration en caséines et de la dimension des micelles :**

La concentration du lait en caséines constitue l'un des facteurs majeurs de la fermeté du gel, à faible concentration en caséines, la vitesse d'agrégation est faible et la fermeté du coagulum diminue.

Il existe une corrélation positive entre le temps de prise et la dimension des micelles et une corrélation négative entre la taille des micelles et la fermeté du gel ; les gels constitués de petites micelles sont caractérisés par la formation d'un réseau protéique plus dense et plus cohérent.

***Influence de la concentration en calcium soluble et en phosphore de calcium :**

Il existe une corrélation significative entre la teneur en calcium des laits et la fermeté du gel présuré. L'addition de chlorure de calcium au lait, pratique courante en fromagerie à pour effet de réduire le temps de floculation et d'accroître la fermeté du coagulum par accroissement de la teneur en phosphate de calcium. En effet la sensibilité du lait à l'action de l'enzyme est étroitement liée à la quantité de phosphate de calcium de la micelle, sa présence est nécessaire à la formation du gel, sans elle il y a seulement formation d'un floculat sans rigidité.

***Influence de la présence d'antibiotiques et des résidus chimiques :**

Les bactéries lactiques sont particulièrement sensibles aux antibiotiques. Leur action inhibitrice cause un retard de formation d'acide, le pH du caillé reste élevé et favorise ainsi la croissance des coliformes qui donneront au fromage un mauvais goût et une texture défectueuse et des trous irréguliers (ABDUSSALAM et al., 1966 ; FLUCKIGER et al., 1969) d'où la nécessité de procéder à un dépistage systématique de ces substances.

Par ailleurs, les difficultés rencontrées lors de fermentation lactique sont parfois attribuées à la présence dans le lait de résidus de désinfectants qui peuvent provenir d'un mauvais rinçage du matériel ou d'une addition intentionnelle par le producteur afin d'améliorer la qualité bactériologique.

I-5-2- Influence des traitements technologiques préalables :

Le lait mis en œuvre en fromagerie subit généralement un certain nombre de traitements imposés par la nécessité de maîtriser la qualité de la matière première en vue de régulariser les fabrications.

*Le refroidissement :

Dès sa traite à la ferme, le lait est refroidi rapidement pour ralentir la détérioration causée par la microflore endogène. Le froid influence aussi la chimie du lait, il entraîne une augmentation de l'hydratation et une diminution des micelles de caséines, ce qui se répercute sur le plan technologique par une diminution de la fermeté du coagulum, la coagulation est plus lente, l'égouttage est plus difficile, moins complet et la vitesse de l'affinage diminue (VIGNOLA, 2002).

*La pasteurisation :

Les traitements thermiques entraînent souvent des modifications chimiques et physiques de la plupart des composants du lait.

On peut avoir la production d'un goût de cuit (VIGNOLA, 2002).

Du point de vue technologique, il y a allongement du temps de prise, diminution de la vitesse de raffermissement du gel et de sa fermeté maximale et également des difficultés à l'égouttage, la maturation est plus lente et selon certains experts, les produits fabriqués à partir de lait pasteurisé n'acquièrent jamais la même consistance et les mêmes arômes que les fromages fabriqués à partir de lait cru (ABDUSSALAM et al., 1966).

*La concentration :

L'emploi du lait concentré en fromagerie permet d'avoir un accroissement des rendements lié à l'augmentation de la concentration en matière sèche et une minéralisation plus élevée des pâtes qui se traduit par une réduction des pertes de caillé dans le sérum et une meilleure rétention de la matière grasse (ECK et GILLIS, 1997).

*L'homogénéisation :

Elle a pour effet de favoriser la lipolyse et ainsi d'accélérer le développement de la saveur typique et entraîne une diminution de pertes en matière grasse, probablement due à l'incorporation des micelles de caséines dans la membrane des globules gras (ECK et GILLIS, 1997).

II- Mécanismes de transformation du lait en fromage à pâte pressée non cuite type Edam :

II-1- Présentation du fromage type EDAM :

Originaire de la région d'EDAM, ville située près du Zuiderzee, en Hollande, il est fabriqué depuis le XVI^{ème} siècle. C'est le fromage hollandais par excellence.

Sa forme de boule de 1,7 kg environ et la couleur rouge de la paraffine qui enrobe sa croûte lui ont valu le nom de «Tête de Maure».

La texture, la couleur et le goût de sa pâte dépendent de la durée de l'affinage.

Il se consomme après 4 à 6 semaines d'affinage jusqu'à plus d'un an. Il porte les qualificatifs de « tendre » ou « jeune » lorsqu'il a un minimum de six semaines d'affinage ; « demi étuvé » ou

« demi-vieux » lorsqu'il atteint l'âge de six mois et « étuvé » ou « vieux » lorsque son âge atteint et dépasse douze mois.

L'EDAM se présente parfois sous la forme d'une brique, sa croûte est également paraffinée, son poids est de 2 kg à 2,5 kg. Sous cette forme, il se consomme uniquement «tendre». (LUQUET, 1990)

Les normes physicochimiques et caractéristiques de l'EDAM sont représentées dans le **Tableau N° 01**.

II-2- Préparation du lait :

La nécessité de produire des fromages de composition régulière et de qualité hygiénique et organoleptique bonne et constante imposent la mise en œuvre d'une matière première dont le comportement est chaque jour identique. Pour cette raison il faut faire subir au lait des correctifs avant de le mettre en fabrication (FAO/OMS n° A-6 1978, modifiée en 1990).

II-2-1- Préparation du lait sur le plan microbiologique :

*** Traitements thermiques :**

Ils ont essentiellement deux objectifs (ECK et GILLIS, 1997) :

- Assurer l'assainissement du lait par destruction de la flore pathogène éventuellement présente.
- Limiter les risques des accidents de fabrication par destruction des germes indésirables (VEISSEYER, 1979).

En fromagerie, les traitements thermiques se subdivisent en deux groupes selon la température (ECK et GILLIS, 1997). En effet, l'élimination des microorganismes non sporulés tels que : *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Escherichia coli* entéropathogène, *Salmonella* peut être obtenue par des températures inférieures à +100°C grâce à :

- la pasteurisation.
- la thermisation qui est souvent pratiquée à la ferme (Roux, J-L 1994).
- les traitements supérieurs à +100°C.

*** La maturation du lait et l'apport de facteurs de croissances :**

La maturation a pour but de rendre le lait le meilleur milieu de culture pour les levains lactiques tout en évitant l'implantation de germes pathogènes et technologiquement dangereux. Elle se fait par ajout de microorganismes (souches de bactéries lactiques) ou par d'autres techniques expérimentales comme la protéolyse du lait qui crée des conditions favorables à la nutrition des bactéries lactiques (ECK et GILLIS, 1997).

Tableau n° 01: Caractéristiques de l'EDAM (LUQUET, 1990).

Normes	EDAM
Nature du lait	lait de vache
Matière sèche totale (en g /100g de produit)	52 min. plus de 10j après la fabrication
Matière grasse en % de la matière sèche	40
Caractéristique de l'unité	
- Forme	sphérique, légèrement aplatie aux deux pôles
- Poids	1,7 à 2,5 kg
- Diamètre	12 à 15 cm
Nature de la pâte	ouvertures rares de la grosseur d'un grain de riz ou pois, couleur jaune, texture à couper
Nature de la croûte	jaune, souvent recouverte de paraffine rouge, sèche, parfois enrobée de cire, parfois huilée
Références des textes législatifs	convention internationale de Stresa et décret n° 52-663 du 6.6.52 (J.O du 11.6.52)

II-2-2- Préparation du lait sur le plan physicochimique :

- Un nettoyage du lait permet de retenir les impuretés notamment les leucocytes.
- Une standardisation du lait en matières protéiques se fait par élimination de l'eau et ajout de poudre de lait, de caséine ou de caséinate de calcium et de potassium.
- Une standardisation en matières grasses par apport de lait écrémé ou de la crème.
- Ajustement du pH du caillage et des équilibres salins pour faciliter la coagulation du lait par ensemencement de ce dernier avec des ferments sélectionnés, une culture active et de bonne qualité (VEISSEYER, 1979 ; ABDUSSALAM et al., 1966).
- Rééquilibrage en calcium pour redonner au lait traité thermiquement un comportement normal au cours de la coagulation et l'égouttage en ajoutant du chlorure de calcium (FAO/OMS n° A-6 1978, modifiée en 1990).

II-3- Caillage :

Le fromage est un agglomérat d'éléments protéiques qui emprisonnent les autres constituants (ROUX, 1994).

La coagulation du lait est une modification physicochimique (déstabilisation) de l'état micellaire original sous l'action d'enzymes protéolytiques et/ou de l'acide lactique, ces enzymes sont ajoutées lorsque l'acidité désirée est atteinte (JOUVE, 1996), elle entraîne la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé : *coagulum*, *gel*, ou *caillé*.

Les micelles de caséines doivent leur stabilité à deux facteurs (LEYRAL et VIERLING, 1997) :

- La charge de surface : les micelles sont chargées négativement et de fortes répulsions électrostatiques empêchent leur rapprochement.
- Le degré d'hydratation : la quantité d'eau fixée par la micelle est importante (3,7g/g de protéines), une partie de cette eau forme autour de chaque micelle une enveloppe d'hydratation protectrice.

II-3-1- le caillage par acidification :

C'est le plus anciennement connu de l'homme car il se produit spontanément (LE JAOUEN, 1977). Les bactéries lactiques cultivées dans le lait étaient utilisées comme levains pour la transformation ultérieure de ce milieu en attaquant le lactose pour le transformer progressivement en acide lactique. Le lait coagule dès que le pH atteint des valeurs inférieures à 4, 6 (LEYRAL et VIERLING, 1997).

C'est à partir des années 1900 que le développement des industries de transformation a conduit à leur production industrielle. Les bactéries lactiques produites comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou en mélange appartenant aux genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (BOUI et LEVEAU, 1993).

Cette acidification ainsi obtenue par l'hydrolyse de la gluconolactone (agent acidogène) (ECK et GILLIS, 1997 ; GAUCHERON, 2004), entraîne une neutralisation des charges négatives portées par les caséines et une déminéralisation progressive des micelles qui perdent leurs propriétés de stabilité et flocculent.

Un caillé lactique est défini par les caractères suivants : perméabilité satisfaisante, friabilité élevée, faible pouvoir de contraction des micelles et une forte hydratation (Le JAOUEN, 1977).

II-3-2- le caillage par voie enzymatique :

Un grand nombre d'enzymes protéolytiques d'origine animale, végétale ou microbienne ont la propriété de coaguler le complexe caséinique. Cependant, cette propriété ne suffit pas à les rendre toutes aptes à produire des fromages de qualité car elles ne présentent pas les propriétés biochimiques et technologiques requises ; il faut tenir compte de leur activité protéolytique non spécifique supplémentaire qui conduit à la rupture de nombreuses liaisons peptidiques et à une solubilisation de l'ensemble des caséines avec libérations de peptides (ECK et GILLIS, 1997) , si l'hydrolyse est trop élevée, il peut en résulter plusieurs inconvénients dont une baisse du rendement fromager, une texture molle et l'apparition de goûts anormaux (VIGNOLA, 2002).

Parmi ces enzymes on distingue La présure et ses succédanés de différentes origines :

***La présure :**

La dénomination « présure » est réservée à l'extrait coagulant provenant des caillettes (quatrième poche de l'estomac) de jeunes ruminants (en général veau) abattus avant sevrage. Les caillettes sont nettoyées, séchées, et conservées (salage ou congélation). L'extraction de la présure est réalisée par macération des caillettes découpées pendant quelques jours, dans une solution salée (FAO/OMS n° A-6 (1978, modifiée en 1990).

Cette présure présente un rapport : masse de chymosine active / masse de pepsine active supérieur à 1,38 (ECK et GILLIS, 1997).

La coagulation par la présure comprend deux phases : une phase enzymatique, au cours de laquelle la chymosine dégrade la caséine κ de façon spécifique, et une phase de coagulation qui correspond à la formation du gel par agrégation des micelles modifiées.

***Les succédanés de la présure :**

**** Enzymes d'origine animale :**

Pendant longtemps, la présure était la seule enzyme commercialisée, mais depuis 1929, les chercheurs ont essayé d'extraire de nouvelles enzymes du système digestif de certaines espèces animales : chèvre, mouton, porc, volaille et crustacé.

Parmi ces enzymes, nous pouvons citer :

-la pepsine porcine et bovine : présentent un intérêt industriel,

-la trypsine ou pancréatine et la chymotrypsine : ne sont pas utilisées sur le plan industriel à cause de leur forte activité protéolytique (BRULE et al., 2003).

** Enzymes d'origine végétale :

De très nombreuses préparations coagulantes sont issus du règne végétal et sont extraites par macération de différentes parties supérieures (jeunes tiges, bourgeons, feuilles), ces plantes s'utilisent principalement fraîches. Nous pouvons citer : la ficine provenant du latex du figuier (*Ficus caréca*), de l'artichaut (*Cynara scolymus*) et du cardon (*Cynara cardumulus*) ; la bromelaine de l'ananas etc. (TSUULI, 1974 ; POZNANSKI, 1975 ; BARBOSA, 1976 ; CORDEIRO, 1992),

** Enzymes d'origine microbienne :

La facilité avec laquelle les enzymes effectuent des transformations spécifiques, a tout naturellement orienté les chercheurs vers l'isolement des enzymes microbiennes en vue de leurs applications (MEUNIER et SIMON, 1970).

Depuis une quarantaine d'années, les industries de fermentation se sont considérablement développées dans le monde ; elles produisent des molécules variées dont un grand nombre d'enzymes qui trouvent des applications dans les secteurs de l'agroalimentaire. Un travail considérable a été réalisé dans la sélection des microorganismes capables de produire des enzymes coagulantes (ECK et GILLIS, 1997).

Plusieurs raisons sont à l'origine de cet intérêt :

- Elles peuvent être produites en très grandes quantités.
- Le cycle de développement microbien est rapide (2 à 5 jours).
- La quantité d'enzymes est régulière du fait de la maîtrise des conditions de production.
- Une stabilité remarquable par rapport aux autres enzymes.
- Un coût de revient assez faible.

Il existe des enzymes d'origines bactérienne, fongique et d'autres obtenues par génie génétique.

*** Enzymes bactériennes :

Parmi ces coagulases, il existe un genre qui porte plus d'attention, en effet, « *Bacillus* » et plus particulièrement, « *Bacillus subtilis* ». Les produits de plusieurs autres espèces ont été étudiés *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus polymexa*, ainsi que d'autres genres tel que : *Pseudomonas fluorescens*, *Streptococcus liquifaciens*.

La chymosine d'*Escherichia coli* a donné de bons résultats selon une étude comparative effectuée sur des enzymes coagulantes de différentes origines, réalisée.

De nombreuses espèces productrices de protéases ont été répertoriées (BOUDIER, 1974).

*** Les enzymes d'origine fongique :

La présure peut être remplacée par des enzymes fongiques (LEYRAL et VIERLING, 1997).

Elles ont été les plus largement explorées et développées, elles ont donné très tôt des résultats souvent comparables et parfois supérieurs à ceux obtenus avec la présure ; ils ont été rapidement validés en fabrication industrielle. Différentes préparations sont commercialisées sur le marché international par des laboratoires spécialisés et sont employées sur plus ou moins grande échelle selon les pays (ECK et GILLIS, 1997).

Trois moisissures sont largement exploitées : *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* et *Endothia parasitica* ; l'aptitude fromagère des préparations correspondantes a été bien étudiée et comparée à celle de la présure du veau. Ces travaux ont révélé quelques différences de comportements.

*** Chymosine produite par génie génétique :

La technologie ADN a été récemment appliquée à la production de chymosine par des microorganismes clônés avec le gène induisant l'expression de la prochymosine (ECK et GILLIS, 1997). Actuellement, plusieurs préparations commerciales faites à partir de certains microorganismes (*Escherichia coli*, *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus awamori*) sont disponibles sur le marché (BRULE et al., 2003). La composition de ces préparations diffère de celle de la présure par l'absence de la pepsine ; l'analyse biochimique fine montre une identité absolue entre les isomères de la chymosine naturelle (isomères A, B et C) et celles produites par les microorganismes recombinés. L'activité protéolytique mesurée sur les différentes fractions de la caséine est également rigoureusement la même.

II-3-3- la coagulation mixte :

En pratique fromagère, un grand nombre de fromages est obtenu par coagulation mixte qui résulte d'une action conjuguée et équilibrée de la voie enzymatique et de la voie acide. Les propriétés des gels formés et leur aptitude à l'égouttage sont intermédiaires entre celles obtenues par voie enzymatique dominante et celles issues d'une coagulation par voie acide dominante. La multiplicité des combinaisons conduisant à des états d'équilibres spécifiques est à l'origine de l'extrême diversité typologique des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite. Cette situation particulière, qui implique de respecter des standards technologiques très précis, explique aussi que ces catégories de fromages sont les plus difficiles à maîtriser (ECK et GILLIS, 1997).

II-4- Egouttage :

Le gel préalablement formé constitue un état physique instable (BRULE et al., 2003) qui va très rapidement évoluer car les micelles vont se contracter continuellement et expulser spontanément le lactosérum qu'elles avaient emprisonné ; c'est le phénomène d'égouttage qui a pour but d'accélérer

la synérèse puis séparer le lactosérum du caillé, il résulte de phénomènes physiques actifs (synérèse du gel) et passifs (porosité et perméabilité du gel) (VIGNOLA, 2002).

Pour le fromage à pâte pressée, l'égouttage est rapide et prononcé (LEYRAL et VIERLING, 1997), cette opération comprend dans un premier temps un tranchage de la masse du caillé qui consiste à couper le gel en portions égales afin d'accroître la surface d'exsudation du lactosérum, dans un deuxième temps, un brassage destiné à renouveler ces surfaces d'exsudation en agitant modérément dans le lactosérum les grains de caillé obtenus après tranchage (Le Jaouen.J-C, 1977 ; VEISSEYER, 1979), il active la dissolution du lactose du caillé dans l'eau. Ainsi l'acidification du caillé est limitée et le fromage aura la douceur recherchée (JOUVE, 1996). Enfin le pressage qui a pour but d'évacuer les dernières portions du sérum inter granulaire subsistant dans la masse du grain et de donner au fromage sa forme définitive.

Pour être efficaces, ces traitements doivent être accompagnés d'une acidification très modérée et bien contrôlée du caillé qui, en déminéralisant partiellement le complexe de phospho para caséinate de calcium, va le rendre perméable tout en permettant l'obtention de fromage très minéralisé, ayant une forte cohésion et pouvant être de gros format. On note des modifications du comportement du gel en égouttage qui dépendent aussi du type et de la concentration en enzymes, du pH et de la température du milieu (ECK et GILLIS, 1997).

C'est notamment de l'égouttage que dépend la durée de conservation du fromage, en effet, les fromages fortement égouttés peuvent se conserver pendant plusieurs mois, voir des années (FLUCKIGER et al., 1969).

II-5- Salage :

Après avoir acquis le pH voulu, c'est une incorporation de chlorure de sodium par dépôt en surface et en masse et par émersion en saumure, ayant les rôles suivants (ECK et GILLIS, 1997) :

- Il complète l'égouttage du fromage et contribue à la formation de la croûte. .
- Il agit soit directement, soit par A_w interposée en favorisant, freinant ou orientant le développement des microorganismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage du fromage.
- Il limite la prolifération de certaines moisissures indésirables.
- Il règle l'humidité du caillé.
- Il apporte son goût caractéristique, et a la propriété d'exalter ou de masquer la sapidité de certaines substances apparaissant au cours de la maturation du fromage.

Lorsqu'un fromage est plongé dans une solution concentrée ou saturée de chlorure de sodium, il s'effectue une diffusion du sel dans sa pâte et inversion de la phase aqueuse vers la saumure.

II-6- Affinage :

A l'exception des fromages frais consommés après quelques jours de leur démoulage, toutes les autres catégories de fromages vont subir une maturation biologique de leur pâte.

C'est une digestion enzymatique simultanée ou successive des constituants du caillé égoutté qui est dominée par trois grands phénomènes biochimiques (ECK et GILLIS, 1997) :

- Fermentation du lactose
- Hydrolyse de la matière grasse
- Dégradation des protéines (les caséines) et transformation des acides aminés étant le phénomène majeur qui sera à l'origine des modifications de consistance de la pâte et contribuera à la formation de la saveur et de l'arome (LEYRAL et VIERLING, 1997).

L'affinage des fromages est l'œuvre d'enzymes de différentes origines (BRULE et al., 2003) ; retrouvées naturellement dans le lait (plasmine, lipase), ajoutées au lait (enzyme coagulante, microorganismes) ou produites au cours de l'affinage par synthèse microbienne (bactéries, levures et moisissures) notant que les ferments fongiques ont un rôle primordial dans ce processus dans la protéolyse, la lipolyse et la production d'aromes (BOTTON et al., 1990). Ils inhibent la croissance des microorganismes tout en intervenant dans la qualité de la pâte.

Parmi ces moisissures nous citerons les suivantes: *Geotrichum candidum*, *Cylindrocarpon heteronema*, *Sporotrichum aureum* (BOURGEOIS et LARPENT, 1989).

Selon la durée de l'affinage la consistance de la pâte va de tendre à dure, et de couleur claire à foncée ; son goût va de doux à piquant et salé (LUQUET, 1990).

PARTIE PRATIQUE

I- Présentation de l'unité : La Laiterie Fromagerie De Boudouaou (LFB)

L'office national du lait (ONALAIT) a été créé en 1969. Depuis, le nombre d'unités est passé à neuf avec la création de six nouvelles unités. En 1988, la politique de restructuration des entreprises a divisé l'ONALAIT en trois offices régionaux : Est, Ouest et Centre.

Celui du centre dénommé ORLAC fut transformé en société par action et devient une entreprise sociale avec un capital de 200.000.000,00 dinars algériens et une capacité de traitement de 1 850 000 litres de lait par jour répartis entre six unités, entre autres l'unité de BOUDOUAOU (UPL 02).

L'unité de production laitière de Boudouaou (UPL 02) a été créée au départ par un privé, elle avait comme dénomination « Société de fromage de la Mitidja » (SOFRAM), elle était spécialisée dans la fabrication des fromages, mais après la nationalisation, elle a été rattachée à l'ONALAIT.

L'entreprise est installée à l'entrée de la ville de Boudouaou, sur la route nationale N° 5. Sa surface totale est de 7 hectares et la surface construite est de 2 hectares.

Les ateliers de production ainsi que les différents produits fabriqués dans la laiterie sont représentés dans le tableau N° 02.

Tableau N° 02 : Ateliers des différents types de produits de la LFB :

Ateliers	Gamme de produits	Capacité installée
-Atelier du lait de consommation	Lait pasteurisé L'ben pasteurisé	280.000 l/j 20.000 l/j
-Atelier du fromage fondu pasteurisé	Fromage fondu en portion et en barre	6 tonnes /j
-Atelier du fromage à pâte pressée non cuite « Edam »	Fromage type « Edam » en boule	2,8 tonnes /j
-Atelier du fromage fondu stérilisé	Boîte de 200 grammes type ANP et collectivités	5 tonnes /j
-Atelier de la poudre de lait instantané	Sachets de 10, 19, 200 et 250 grammes	2,15 tonnes /j

II- Etude expérimentale :

II-1- Matériels et méthodes :

II-1-1-Matériels :

Le matériel utilisé est du matériel usuel de laboratoire de physicochimie, de bactériologie et du matériel de fabrication.

II-1-1-1-Matériel pour analyses physicochimiques : En plus du petit matériel consommable d'un laboratoire de physico-chimie nous avons utilisé les appareils suivants :

- Gelograph (GEL INDUSTRIEL)
- Dessiccateur (SARTORIUS)
- pH mètre (GERBER)
- Centrifugeuse (GERBER)
- Butyromètre à lait (GERBER)
- Butyromètre à fromage (Vangulik)
- Thermolactodensimètre (Kevin)
- Aéromètre (Bosch)
- Balance analytique (OHAUS)
- Burette hydrométrique

II-1-1-2- Matériel utilisé pour les analyses bactériologiques :

Nous avons utilisé du matériel usuel de laboratoire de bactériologie.

II-1-1-3-Matériel utilisé au cours de la fabrication : il s'agit de matériel industriel et de matériel expérimental.

*matériel industriel : - tank de stockage (**Figure 1**)

- cuve de pasteurisation
- cuve de préparation (**Figure 2**)
- moules et toiles
- presse tunnel (**Figure 3**)
- bain de saumure
- tables d'affinage
- paraffine
- appareil de conditionnement

*matériel expérimental : - bacs à lait

- pipettes graduées
- couteau et louche



Figure 1 : Tank de stockage
(Photo personnelle)



Figure 2 : Cuve de préparation
(Photo personnelle)



Figure 3 : Presse tunnel
(Photo personnelle)

II-1-2-Produits et réactifs :

II-1-2-1-Enzymes utilisées :

Nous avons utilisé deux solutions enzymatiques (coagulase); l'une d'origine synthétique et l'autre d'origine bovine; toutes deux commercialisées par la société FROMAGEX (CANADA). Les fiches techniques de ces coagulases sont jointes en **Annexe N°1 et Annexe N°2**.

II-1-2-2-Lait cru :

Le lait cru utilisé au cours de notre expérimentation est du lait collecté au niveau des fermes environnantes par des collecteurs de laits privés et livré à la LFB en citernes.

II-1-2-3-Lait recombinaé :

Les différents constituants de ce lait sont :

- lait cru pasteurisé.
- poudre de lait écrémé à 0 % : importée de France
- MGLA: importée de France
- eau de reconstitution : eau de robinet pasteurisée.

II-1-2-4-Réactifs pour les analyses physicochimiques : les réactifs utilisés sont cités en **Annexe N°3**

II-1-2-5-Milieus de culture et réactifs pour les analyses bactériologiques : les réactifs utilisés sont cités en **Annexe N° 4**

II-1-3-Méthodes :

II-1-3-1- Mesure de l'activité coagulante des enzymes utilisées :

Plusieurs méthodes ont été mises au point pour mesurer le temps de coagulation d'une solution enzymatique, entre autres des méthodes visuelles (méthode de Berridge), des méthodes rhéologiques (Thrombélastographe, Fromagraph, Gelograph) et des méthodes chimiques (dosage de l'azote non protéique libéré lors de protéolyse) (BRULE et al., 2003 et ECK., GILLIS.,1997).

La détermination du temps de prise (apparition des premiers flocons de micelles) et le suivi de la cinétique de coagulation au cours de notre travail sont réalisés à l'aide du Gelograph.

Mode opératoire :

- Régler le temps de repos (20 secondes) à l'aide de la minuterie ;
- Introduire 50ml de lait à 37°C dans le tube échantillon ;
- Ajouter 0,5ml de la solution coagulante ;
- Mettre l'interrupteur sur ON ;
- Surveiller l'indicateur pour pouvoir calculer le temps de prise.

Le temps de coagulation est le temps nécessaire pour l'obtention d'un gel ferme, il est égal à trois fois le temps de prise (BRULE et al., 2003).

*La force coagulante est le volume de lait frais coagulé par un volume de présure en 40min et à 37°C. Soxhlet (CHRISTEN et VIRASORO, 1935) a défini la force de présure par la formule suivante :

$$F = 2400 * V1 / Tc * V2$$

*L'unité présure est la quantité d'enzyme contenue dans 1ml de solution pouvant coaguler 10 ml de substrat en 100 secondes et à 30 °C (BRULE et al., 2003).

Berridge (BOUDIER et LUQUET, 1981) a défini l'activité coagulante par la formule suivante (Collin et al., 1977).

$$UP = V1 * 10 / V2 * Tc$$

F est la force coagulante

UP est l'unité présure

V1 est le volume du lait

V2 est le volume de l'enzyme coagulante

Tc est le temps de coagulation

II-1-3-2-Analyses physicochimiques :

Les méthodes d'analyses effectuées selon les normes fournies par la LFB (normes AFNOR modifiées) sont détaillées dans l'**Annexe N°5**.

Les analyses (pH, MG, EST et ESD) effectuées sur le fromage se font suivant les mêmes principes utilisés pour le lait cru.

II-1-3-3-Analyses bactériologiques :

Nous avons utilisé les méthodes décrites dans le manuel du laboratoire de la LFB (Arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 du JORA N°35 modifiées), les méthodes sont citées en **Annexe N°6**.

- Méthode de détection des résidus de la pénicilline dans le lait : elle est effectuée par la technique des disques de papier filtre selon la Norme Belge NBN V 21-012 de l'Institut Belge de normalisation, 1978 (citée en **Annexe N°7**).

II-1-3-4- Procédé de fabrication : (Figure 6)

Nous avons effectué 02 essais:

- L'Essai I, réalisé expérimentalement est effectué avec du lait cru : 10 litres de lait ont été utilisés pour chaque type de coagulase.
- L'Essai II, réalisé à l'échelle industrielle est effectué avec du lait reconstitué : 10 litres pour chaque type de coagulase.

-Pour l'Essai I: la méthode utilisée est résumée par la **Figure 4**.

20 litres de lait cru selon la densité et la charge microbienne déterminées par l'épreuve de la réduction du bleu de méthylène (Abdussalam et al, 1966).

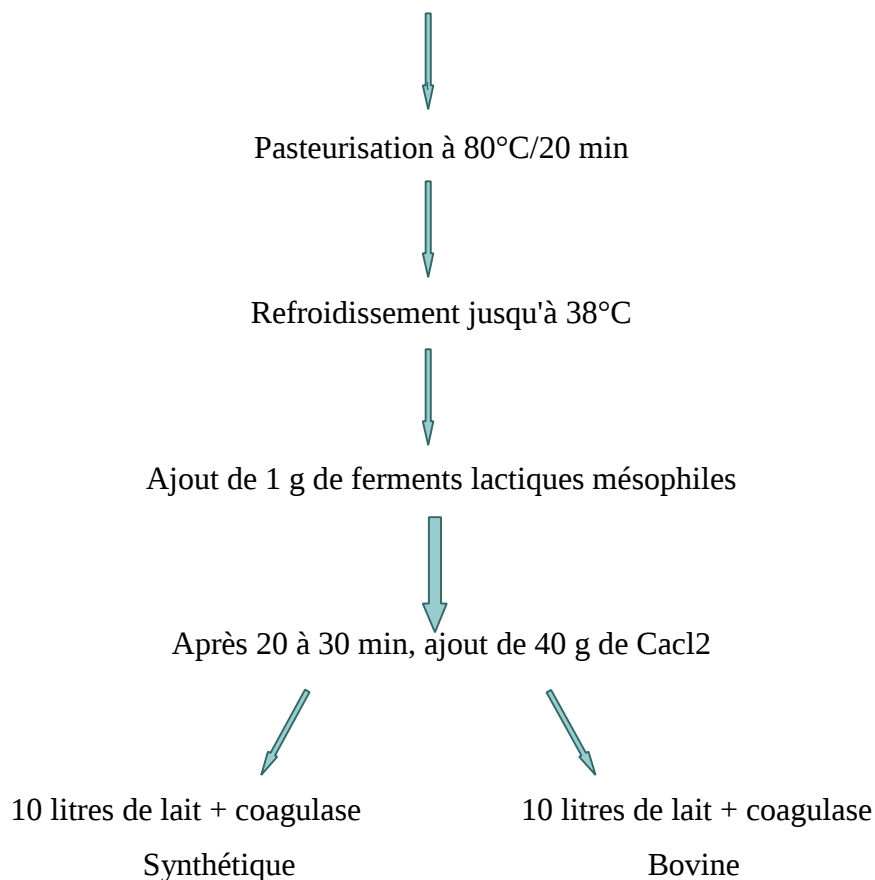


Figure 4 : Diagramme de la méthode utilisée lors de l'Essai I

- Pour l'Essai II: la méthode utilisée pour l'Essai II est résumée par la **Figure 5**.

Sélection 5830 litres de lait cru d'après la densité et la charge microbienne

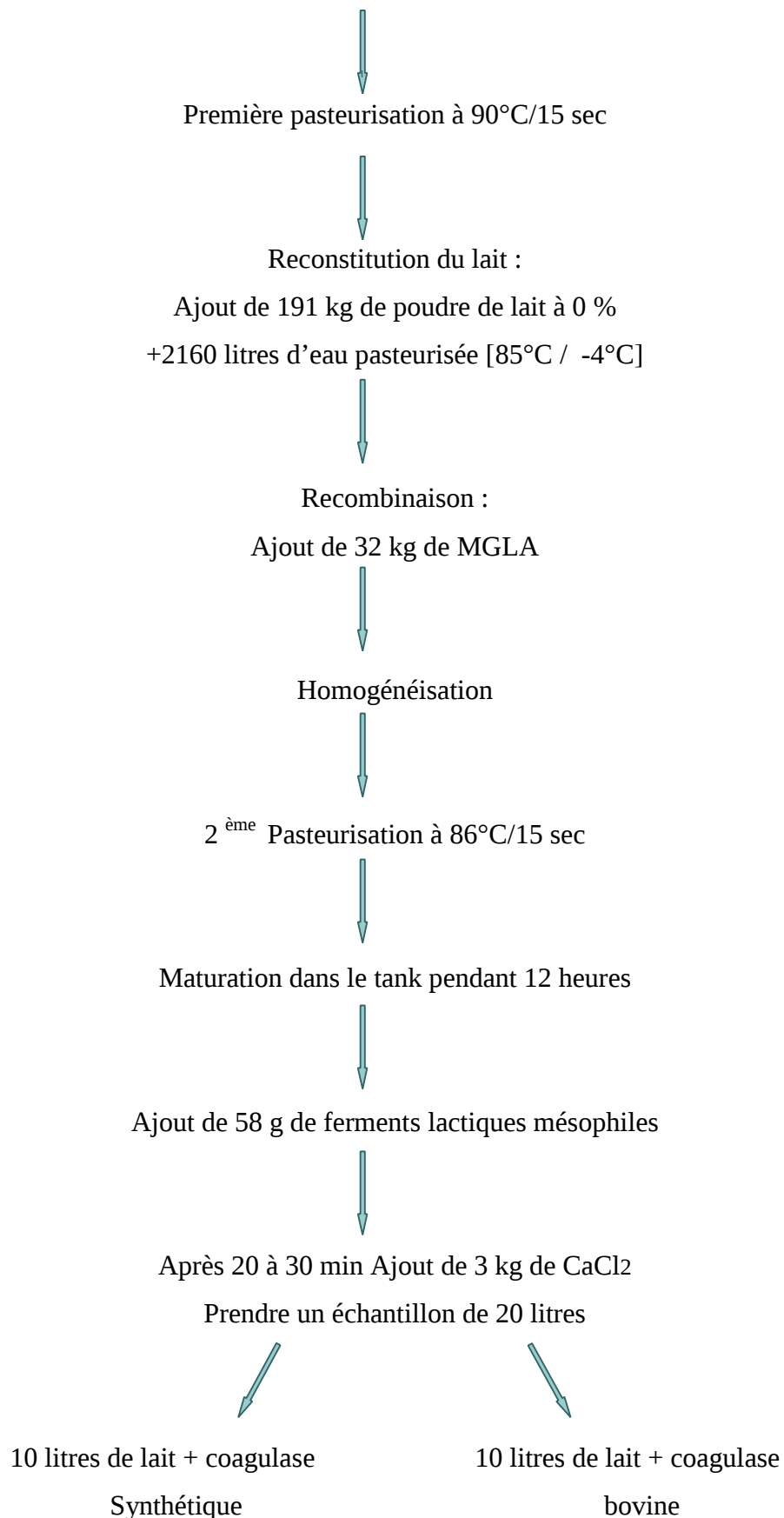
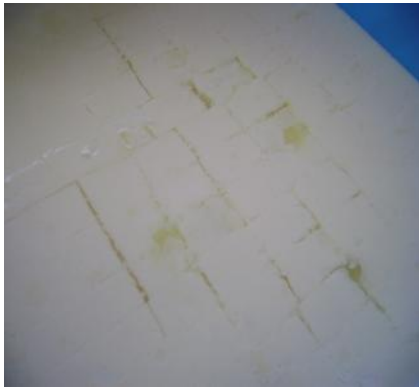


Figure 5 : Diagramme de la méthode utilisée pour l'Essai II

La transformation de nos échantillons sélectionnés de lait en fromage passe par plusieurs étapes représentées dans le tableau N° 03 selon **LUQUET, (1990)**.

Tableau N° 03 : Différentes étapes de fabrication du fromage type « Edam » et leurs paramètres :

Différentes étapes		
	Coagulase synthétique	Coagulase bovine
<u>Addition de présure</u>		
Quantité	2,5 ml	2,5 ml
Température d'emprésurage	38°C	38°C
<u>Coagulation</u>		
Temps de prise	10 min	20 min
Temps de coagulation	30 min	60 min
<u>Tranchage et brassage</u>		
Durée	10 min	10 min
Taille des grains	0,5 à 1 cm	0,7 à 1 cm
<u>Délactosage</u>		
Soutirage du sérum	4 litres	3,5 litres
Ajout de l'eau		
-Quantité	4 litres	3,5 litres
-Température	40°C	40°C
-Durée de brassage	10 min	10 min
<u>Pré pressage et moulage</u>		
<u>Pressage</u>		
Durée sous presse	4 heures	4 heures
<u>Pré démoulage</u>		
Durée	20 heures	20 heures
<u>Saumurage</u>		
Durée	4 heures	4 heures
Concentration	20°B	20°B
<u>Affinage</u>		
Durée	21 jours	21 jours
Température	12°C	12°C
Hygrométrie	90 %	90 %
<u>Conditionnement, stockage, paraffinage</u>		



Caillage



Découpage



Brassage



Saumurage (Essai I)



Saumurage (Essai II)



Affinage (Essai I)



Affinage (Essai II)



Paraffinage



Conditionnement

Figure 6 : Différentes étapes de fabrication de l'EDAM (Photos personnelles).

II-1-3-5-Calcul du rendement fromager :

Le rendement de la transformation du lait en fromage est l'une des données les plus importantes pour une fromagerie, c'est l'expression mathématique de la quantité de fromage obtenue à partir d'une quantité de lait (VANDEWEGHE, 1997). En effet, la quantité de fromage généralement obtenue est faible par rapport à la quantité d'ingrédients mis en œuvre (ST-GELAIS et TIRART-COLLET, 2002)

Le rendement fromager peut être exprimé de plusieurs manières :

- Le nombre de fromages fabriqués pour 100Kg de lait;
- La quantité de lait mise en œuvre pour fabriquer 1 Kg de fromage ;
- La quantité d'un constituant ou d'un groupe de constituant retenus dans le fromage.

Le rendement frais R se définit par la formule suivante (BRULE et al., 2003) :

$$\mathbf{R = Pf / Pl}$$

Pf est le poids du fromage

Pl est le poids du lait.

II-2-Résultats et discussion :

II-2-1-Résultats de la mesure de l'activité coagulante :

Nous avons voulu dans un premier temps tester les activités des 2 coagulases ; les résultats sont représentés dans le tableau N° 04.

Tableau N° 04 : Résultats de la mesure de l'activité coagulante :

Paramètres	Coagulase synthétique	Coagulase bovine
Temps de prise	80 secondes	140 secondes
Temps de coagulation	240 secondes	420 secondes
Force coagulante	4.10^4	$2,3 .10^4$
Unité présure	0,41 UP	0,23 UP

Les résultats montrent que le temps de prise et le temps de coagulation obtenu en utilisant la coagulase synthétique est nettement inférieur à celui obtenu par l'utilisation de l'enzyme bovine avec un volume identique, c'est-à-dire que l'action de la présure synthétique est plus rapide, l'activité coagulante est ainsi supérieure et avec une quantité moindre, on arrive à coaguler le même volume de lait ; cela est peut être dû à la composition chimique de cette enzyme synthétique (100% chymosine).

Le temps de prise en utilisant la coagulase synthétique (80 secondes) est inférieur à celui obtenu suite à :

- l'utilisation d'une coagulase végétale par BOUTICHE et KHEROUF en 2004 qui ont obtenu un temps de prise de 180 secondes.

- l'utilisation d'une enzyme fongique par ALOUI et BELKHEIR en 1997 qui a nécessité un temps de 130 secondes.

D'après Brulé et al, 2003, la force de coagulation de l'enzyme synthétique (4.10^4) est comparable à la présure commerciale liquide (3.10^3 à 10^5).

Elle est supérieure à celle obtenue en utilisant la pepsine ovine comme montré par OUTALEB, 2006 ($1,2.10^3$).

II-2-2-Résultats des analyses effectuées sur la matière première :

La matière première est représentée par le lait cru, la poudre de lait, la MGLA et l'eau de reconstitution.

* Résultats des Analyses physicochimiques :

Les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur la matière première sont représentés dans les **Tableaux N° 05, 06, 07 et 08** et comparés aux normes fournies par la LFB.

Tableau N° 05 : Résultats des analyses et normes physicochimiques du lait cru :

Lait cru	pH	Densité	Acidité Titrable (°D)	EST (%)	MG (%)	ESD (%)
Normes	6,5-6,75	1030-1032	15-18	120-130	34-40	86-90
Essai I	6,75	1029	15	122,04	36	86,04
Essai II	6,51	1030	17	122,22	34	87,90

Tableau N° 06 : Résultats des analyses et normes physicochimiques de la poudre de lait :

Poudre de lait	pH	Densité	Acidité Titrable (°D)	EST (%)	Humidité (%)	-
Normes	Min 6,6	-	max 15	min 96	max 4	-
Essais II	6,65	-	14	97	3	-

Tableau N° 07 : Résultats des analyses et normes physicochimiques de la MGLA :

MGLA	Densité	EST (%)	MG (%)	Non gras (%)	Humidité (%)	Indice de saponification
Normes	0,912-0,94	min 99,9	min 99,8	max 0,1	Max 0,1	210-240
Essai II	0,92	99,88	99,72	0,1	0,18	230

Tableau N° 08 : Résultats des analyses et normes physicochimiques de l'eau :

Eau de reconstitution	pH	TA (°F)	TAC (°F)	TH (°F)	Chlorure (%)	-
Normes	6,5-8,5	0	max 50	max 60	max 200	-
Essai II	7,35	0	27	80	216	-

Les résultats des analyses physicochimiques des matières premières montrent que tous les paramètres sont conformes aux normes, mise à part la teneur élevée en humidité de la MGLA qui est due probablement à un mauvais stockage.

Concernant l'eau de reconstitution, les résultats indiquent que le TA est dans les normes.

Par ailleurs, la valeur du TH est supérieure à la norme démontrant la présence de grandes quantités de calcium et de magnésium qui pourrait être due à une mauvaise déminéralisation. Selon LEDERER, 1977, cette eau est qualifiée de « dure ». La correction de ce facteur peut être obtenue par un chauffage à 60 à 70°C qui favoriserait la rupture des liaisons entre le calcium et le magnésium avec les ions bicarbonates. D'autre part, la valeur du chlorure est supérieure aux normes, cela résulterait probablement d'une javellisation excessive en vue de l'obtention d'une meilleure désinfection.

Il faut noter que nos résultats sont comparables à ceux obtenus par BOUTICHE et KHEROUF en 2004, KHALEF en 2006, BELHADJI et SAOUDI en 2001.

* Résultats des Analyses bactériologiques:

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées sont représentés dans les **Tableaux N° 09, 10, 11, 12 et 13**, comparés aux normes fournies par la LFB

Les résultats de l'analyse du lait cru révèlent la présence de germes totaux et de coliformes totaux illustrant une contamination ou un mauvais nettoyage du matériel de la traite. Nos résultats sont en accord avec les observations de ECK et GILLIS (1997). La présence des coliformes fécaux est certainement due à une contamination d'origine fécale de la mamelle, mais cette contamination reste banale, vu que les valeurs sont dans les normes selon l'Arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 du JORA N°35.

Après pasteurisation, la charge en microflore totale diminue et les germes fécaux sont absents.

La poudre de lait, la MGLA et l'eau de reconstitution sont de bonne qualité bactériologique.

Concernant les résidus d'antibiotiques, nous avons effectué la recherche des résidus de la pénicilline vu son usage très répandu pour combattre les mammites par voie générale et locale comme le confirme LEDERER (1977). Tous nos résultats se sont avérés négatifs, sachant qu'un résultat négatif ne signifie pas que le lait est exempt de résidus de pénicilline car il peut contenir moins de 0,001µg/ml de lait ne compromettant pas son acidification, sachant que l'activité des levains lactiques est inhibée par la présence de 0,26µg/ml de résidus comme spécifié par ECK et GILLIS (1997).

Nos résultats concernant les analyses bactériologiques sont comparables à ceux obtenus par BOUTICHE et KHEROUF en 2004, KHALEF en 2006, BELHADJI et SAOUDI en 2001.

Au vu des différents résultats que nous avons obtenu, nous constatons que les produits analysés présentent une qualité physico chimique et bactériologique satisfaisante les rendant propres à la transformation fromagère.

Tableau N° 09 : Résultats des analyses et Normes bactériologiques du lait cru :

Echantillon : Lait cru	Germes aérobies à 30°C/gr ou ml	Coli. Totaux /gr ou ml	Coli. fécaux/gr ou ml	Staph. aureus/ gr ou ml	Salmon. dans 25gr	CSR /gr	Lev /gr	Moisi /gr	Strept / 50 ml	Rés. de Péni
Normes	Max 10 ⁵	Max 10 ³	Max 10 ³	Abs	-	Max 50	-	-	-	Abs
Essai I	137.10 ³	1100	30	Abs	-	0	-	-	-	Négatif
Essai II	102.10 ⁴	1300	50	Abs	-	0	-	-	-	Négatif

Tableau N° 10 : Résultats des analyses et Normes bactériologiques du lait pasteurisé :

Echantillon : Lait pasteurisé	Germes aérobies à 30°C/gr ou ml	Coli. Totaux /gr ou ml	Coli. fécaux/gr ou ml	Staph. aureus/ gr ou ml	Salmon. dans 25gr	CSR /gr	Lev /gr	Moisi /gr	Strept / 50 ml	Rés. de Péni
Normes	10 ³	Abs	Abs	Abs	-	abs	-	-	-	-
Essai I	Abs	Abs	Abs	Abs	-	abs	-	-	-	-
Essai II	Abs	Abs	Abs	Abs	-	abs	-	-	-	-

Tableau N° 11 : Résultats des analyses et Normes bactériologiques de la poudre de lait :

Echantillon : Poudre de lait	Germes aérobies à 30°C/gr ou ml	Coli. Totaux /gr ou ml	Coli. fécaux/gr ou ml	Staph. aureus/ gr ou ml	Salmon. dans 25gr	CSR /gr	Lev /gr	Moisi /gr	Strept / 50 ml	Rés. de Péni
Normes	Max 2.10 ⁵	Max 1	Abs	Abs	Abs	Max 10	Max 50	Max 50	-	Abs
Essais II	< 30	0	0	0	Abs	0	0	0	-	Négatif

Tableau N° 12 : Résultats des analyses et Normes bactériologiques de la MGLA :

Echantillon: MGLA	Germes aérobies à 30°C/gr ou ml	Coli. Totaux /gr ou ml	Coli. fécaux/gr ou ml	Staph. aureus/ gr ou ml	Salmon. dans 25gr	CSR /gr	Lev /gr	Moisi /gr	Strept / 50 ml	Rés. de Péni
Normes	Max 5.10 ²	Abs	Abs	Abs	Abs	<9	Abs	Abs	-	-
Essai II	< 30	0	0	0	Abs	0	0	0	-	-

Tableau N° 13 : Résultats des analyses et Normes bactériologiques de l'eau de reconstitution :

Echantillon : Eau de reconstitution	Germes aérobies à 30°C/gr ou ml	Coli. Totaux /gr ou ml	Coli. fécaux/gr ou ml	Staph. aureus/ gr ou ml	Salmon. dans 25gr	CSR /gr	Lev /gr	Moisi /gr	Strept / 50 ml	Rés. de Péni
Normes	Abs	< 10	Abs	Abs	Abs	<ou=5	-	-	Abs	-
Essai II	Abs	< 10	Abs	Abs	Abs	<ou=5	-	-	Abs	-

Coli= Coliformes ; Staph = Staphylocoque ; Salmon = Salmonelle ; CSR = Clostridium Sulfite Réducteurs ; Lev = Levures ; Moisi = Moisissures ; Strept = Streptocoque ; Rés. de Péni = Résidus de pénicilline.

II-2-3-Résultats des analyses effectuées au cours de la fabrication :

* Résultats des Analyses physicochimiques :

Les résultats des analyses réalisées au cours de la fabrication sur différents composants sont représentés dans les **Tableaux N° 14** et **15** et comparés aux normes fournies par la LFB.

Tableau N° 14 : Résultats des analyses physico chimiques effectuées au cours de la fabrication :

NATURE	ANALYSES		RESULTATS
MÉLANGE	Température (°C) Acidité (°D) pH MG (%) Densité E.S.T (%) E.S.D (%)	Normes	Essai II
		4-8	11
		19-21	19
		6,4-6,5	6,50
		36 +/- 1	27
		1031-1033	1029,20
		146+ /-1	110,40
		min 110	83,40
LAIT EN CUVE	Température (°C) Acidité (°D) pH MG (%) Densité E.S.T (%) E.S.D (%)	40-42	40
		19-21	21
		6,4-6,5	6,45
		36+/-1	27
		1038-1042	1028
		146 + /-1	110,22
		min 110	82,22

Tableau N° 15 : Résultats des analyses physico chimiques effectués au cours de la fabrication :

NATURE	ANALYSES	RESULTATS				
		Normes	Essai I		Essai II	
Lactosérum 1	Acidité (°D)	16-18	Coagulase synthétique	Présure bovine	Coagulase synthétique	Présure bovine
	pH	6,5-6,8	18	17	16,2	16
	MG (%)	2-8	6,4	6,53	6,61	6,68
	E.S.T (%)	80 +/-4	3	2,8	3	3,7
			80 ,11	77, 3	70	68
Lactosérum 2	Acidité (°D)	7-8	9	8,7	9	9
	pH	6,8-6,9	6,56	6,6	6 ,38	6, 3
	MG (%)	0-2	1,5	1	1	0,8
	E.S.T (%)	40+/-4	39, 46	36	34	32
Fromage après pressage	pH	5,4-55	5,30	4,9	5,7	5,68
	MG (%)	20-22	32,50	33,5	22,5	23
	E.S.T (%)	50+/-1	61,1	63,15	49	48
Fromage après saumurage	pH	5,3-5,4	5,1	4,8	5,6	5,5
	MG (%)	20-22	32,5	33,5	22,5	23
	E.S.T (%)	50+/-1	61,45	63,6	49	48

Nous avons constaté :

- une augmentation de plus de 30 % de la température suite au refroidissement après pasteurisation pour arriver à une température de 40°C optimale pour l'emprésurage recommandée par ECK et GILLIS, (1997) ainsi que BRULE et al., (2003).

- une diminution de plus de 50 % de l' E.S.T après l'égouttage suite à l'élimination de quelques grains du caillé avec le lactosérum.

- une diminution de plus de 10 % du taux de MG résultant de l'élimination de petites quantités de MG dans le lactosérum.

- une diminution du pH au cours de la fabrication, conséquence de l'action des ferments lactiques comme observé par VIGNOLA, (2002) ; ECK et GILLIS, (1997). Le pH du lactosérum II est plus élevé par rapport au lactosérum I car la plus grande quantité d'acide lactique est éliminée après le premier délactosage.

Après pressage, le pH diminue légèrement suite à l'action d'une petite quantité de l'enzyme coagulante qui reste emprisonnée dans le caillé confirmant les observations de VIGNOLA, (2002)

- les résultats des analyses physicochimiques effectuées au cours de la fabrication en utilisant la coagulase synthétique et la présure bovine sont comparables.

Concernant l'essai I,

Les résultats des analyses effectuées sur le lactosérum I et II sont conformes aux normes.

La teneur en MG est élevée par rapport aux normes car le lait utilisé n'était pas standardisé en matières grasses, ce qui a induit l'augmentation de l'EST à son tour.

Concernant l'essai II,

Les teneurs en MG et EST sont inférieures aux normes et cela pour des raisons économiques représentées par les coûts élevés de la poudre de lait et de la MGLA.

II-2-4-Résultats des analyses effectuées sur le produit fini :

* Résultats des analyses physicochimiques :

Les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur le produit fini sont représentés dans le **Tableau N° 16**.

Tableau N° 16 : Résultats des analyses physico chimiques effectuées sur le produit fini :

Analyses	Essai I		Essai II		Normes LFB
	Coagulase Synthétique	Présure Bovine	Coagulase Synthétique	Présure Bovine	
pH	5	4,72	5	4,9	5,2-5,5
MG (%)	32,5	33,5	21	20	20-22
E.S.T (%)	64,2	62,17	52	50	50-52
E.S.D (%)	31,7	28,67	31	30	28-32
G /S (%)	50,62	53,88	40,38	40	38-44

Pour les deux essais, le pH est légèrement bas à cause des opérations de tranchage et de brassage effectuées manuellement qui ont induit un délactosage incomplet à l'origine d'une quantité résiduelle de l'acide lactique dans le caillé; la taille des grains ainsi obtenus ne permettait pas une exsudation complète du lactosérum comme décrit par BRULE et al. (2003).

Nous avons constaté que lors de l'utilisation de la présure bovine le pH était encore plus bas car le caillé présuré était moins ferme causant ainsi une légère diminution de l'EST. Le gel doit présenter une certaine rigidité au moment du tranchage pour permettre un bon égouttage et éviter les pertes en matière sèche, ceci confirme les observations de BRULE et al., (2003).

Concernant l'essai I,

Le taux de MG et de l'E.S.T sont hors normes à cause de la mauvaise gestion des conditions de l'affinage notamment la température plus ou moins élevée et le taux d'humidité insuffisant, ceci à cause :

- d'une part, l'évaporation d'une quantité importante d'eau a induit une augmentation de l'E.S.T
- et d'autre part, la diminution du volume global a induit l'augmentation du taux de la MG dans le fromage.

Concernant l'essai II,

Le fromage obtenu est conforme aux normes et les résultats sont comparables à ceux obtenus par BOUMRAR et al en 2007, BELHADJI et SAOUDI en 2001.

Selon la classification canadienne (ST-GELAIS.D et TIRARD-COLLET., 2002) qui s'apparente à la norme A-6-FAO/OMS basée sur la teneur en MG et en humidité, notre fromage peut être qualifié de Mi-gras à pâte ferme.

* Résultats des analyses bactériologiques :

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées sur le produit fini sont représentés dans le **Tableau N° 17**, comparés aux normes fournies par la LFB.

Tableau N° 17 : Résultats des analyses bactériologiques effectués sur le produit fini.

Germes recherchés	Essai I		Essai II		Normes (germes/ml)
	Coagulase Synthétique	Présure Bovine	Coagulase Synthétique	Présure Bovine	
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Staphylocoque aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Anaérobies	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Sulfitoréducteurs					
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Nos résultats concernant les fromages obtenus montrent l'absence totale des germes recherchés et sont conformes aux normes de consommations décrites selon l' Arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 du JORA N°35.

Ces résultats témoignent d'une bonne hygiène de fabrication et d'environnement ainsi qu'une manipulation correcte des fromages.

*Analyse sensorielle :

Les caractéristiques sensorielles d'un aliment sont des critères importants de son acceptabilité par le consommateur. L'aspect d'un fromage, sa couleur, son odeur, sa consistance, sa saveur et son arôme stimulent les sens de la vue, de l'ouïe, du toucher, de l'odorat et du goût et provoquent les réactions plus ou moins vives d'acceptation ou du rejet. (ISSANCHOU, 1997).

L'EDAM se caractérise par une pâte homogène qui va de tendre à dure ; elle est de couleur ivoire claire à ivoire foncé, son goût va de doux franc à piquant et salé comme stipulé par LUQUET, (1990).

Les résultats que nous avons obtenus sont représentés dans le **Tableau N°18**.

Tableau N° 18 : Résultats de l'analyse sensorielle des fromages :

Essai I				
Caractères	Coagulase synthétique	Présure bovine		
Couleur	ivoire foncé	ivoire très foncé		
Odeur	rance	rance		
Texture	Dure et sèche	très dure et sèche		
Goût	Salé	Salé		
Essai II				
Caractères	Coagulase synthétique	Notes	Présure bovine	Notes
Couleur	ivoire clair	1,8 / 2	ivoire clair	1,7 / 2
Odeur	Caractéristique de l’EDAM	1,9 / 2	Caractéristique de l’EDAM	1,5 / 2
Texture	Tendre	2,7 / 3	Ferme	1,6 / 3
Goût	Doux	2,6 / 3	un peu salé	1,3 / 3

L'essai I :

Comme le fromage obtenu a présenté plusieurs défauts, le test de dégustation était inutile.

Le fromage a présenté un goût salé et une texture dure et sèche ; cela est dû principalement aux mauvaises conditions d'affinage représentées par une humidité insuffisante et une température plus ou moins élevée.

Nous avons remarqué que le goût salé du fromage était dû, non pas à un défaut de saumurage, mais à l'évaporation d'une grande quantité d'eau lors de l'affinage, comme observé par ECK et GILLIS (1997), ce phénomène a entraîné aussi le défaut de texture.

La rancidité, elle est liée à une lipolyse excessive qui se traduit par la présence de doses anormalement élevées d'acides gras libres comme décrit par BRULE et al., (2003), elle peut être due également à un déséquilibre dans les processus biochimiques de l'affinage, notamment une insuffisance de protéolyse accompagnée d'un degré de lipolyse normal confirmé par ECK et GILLIS (1997). Cependant, la rancidité peut être simplement due à l'utilisation de lait de fin de lactation ou bien une agitation excessive du lait comme le remarquât VIGNOLA (2002).

L'essai II :

Un jury de 20 personnes composé par le personnel du laboratoire de la LFB ainsi que certains des enseignants de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, a jugé la qualité sensorielle des fromages suivant une fiche de dégustation décrite en **Annexe N° 8**.

18 personnes ont trouvé le fromage fabriqué par la coagulase synthétique de meilleure qualité avec des moyennes supérieures de 30 % par rapport à celles obtenues pour le fromage fabriqué par

la présure bovine surtout pour les 2 critères relatifs au goût et à la texture. L'aspect interne des fromages obtenu est représenté dans la **Figure 7**.

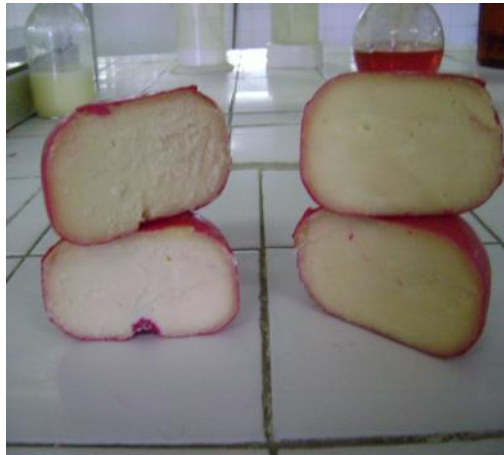


Figure 7 : Aspects interne des boules de fromage.

(Photo personnelle)

Ces fromages présentent toutes les caractéristiques de l'EDAM décrites par LUQUET (1990).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par OUTALEB en 2006 et BOUMRAR et al en 2007.

II-2-5-Rendement fromager :

En partant de 10 litres de lait utilisés pour chaque fabrication, nous avons obtenu les résultats suivants:

***Coagulase synthétique:**

- nous avons obtenu 940 g de fromage répartis en 3 boules (**Figure 8**) de : 320, 290 et 330 g, avec un rendement R de 9,4 % au cours de l'essai I.
- nous avons obtenu 1010 g de fromage répartis en 3 boules de : 336, 330 et 344 g, avec un rendement R de 10,1 % au cours de l'essai II.

***Présure bovine:**

- le poids du fromage obtenu était de 880 g répartis en 3 boules de : 300, 286 et 294 g, avec un rendement R de 8,8 % au cours de l'Essai I.
- le poids du fromage obtenu était de 900 g répartis en 3 boules de : 300, 297 et 303 g, avec un rendement R de 9 % au cours de l'Essai II.

Ainsi l'utilisation de la coagulase synthétique a permis un gain de fromage de 60 g pour l'Essai I et de 110 g pour l'Essai II en plus du gain économique appréciable puisque l'enzyme synthétique coûte moins chère que la présure bovine.

Le rendement obtenu au cours de l'Essai II est légèrement supérieur à celui obtenu au cours de l'essai I, suite à l'utilisation d'un lait concentré par de la poudre de lait comme observé par VANDEWEGHE (1997)

Nos résultats sont conformes :

- aux normes énoncées par EVETTE en 1975 et par BRULE et al en 2003 : le rendement varie entre 10 à 11%.
- aux résultats obtenus par BOUMRAR et al en 2007, le rendement obtenu avec l'extrait enzymatique de *Cynara scolymus* est plus élevé comparativement à celui de la présure de référence (bovine).
- aux résultats obtenus par ALOUI et BELKHEIR en 1996 : le rendement est de 10 % lors de l'utilisation de l'enzyme d'origine fongique *Mucor miehei*.
- aux résultats obtenus par KAMAZI et SAIDANI en 1996 : le rendement est de 10,4 % lors de l'utilisation de l'enzyme d'origine fongique *Aspergillus niger*.

Nos résultats diffèrent des résultats obtenus par :

- BOUTICHE et KHEROUF ., 2004, le rendement obtenu par l'utilisation d'une enzyme extraite des grains de citrouille était faible : le rendement est de 7,8 %

La pepsine ovine utilisée par OUTALEB en 2005 a donné un rendement faible par rapport à la présure bovine.



Figure 8: Boules de fromage EDAM obtenues au cours de nos essais avant et après paraffinage
(Photo personnelle)

CONCLUSION :

L'étude comparative de l'utilisation de la coagulase synthétique et de la présure bovine dans la fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type EDAM a été réalisée en suivant plusieurs étapes :

Dans un premier temps, nous avons mesuré les activités coagulantes des deux enzymes utilisées; la coagulase synthétique a présenté une force de 4.10^4 contre une force de $2,3.10^4$ pour la présure bovine. L'activité coagulante de la coagulase synthétique est ainsi supérieure à l'activité coagulante de la coagulase d'origine bovine c'est-à-dire qu'avec une quantité moindre, on arrive à coaguler le même volume de lait.

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé deux fabrications fromagères :

- le premier essai (**Essai I**) a été réalisé à l'échelle expérimentale avec du lait cru en utilisant les deux enzymes citées précédemment.
- le deuxième essai (**Essai II**) a été réalisé à l'échelle industrielle avec du lait recombinaé en utilisant les deux enzymes.

L'analyse des matières premières a montré qu'elles présentaient une qualité physicochimique et bactériologique satisfaisante ; de ce fait, elles étaient propres à la transformation fromagère.

Nous avons effectué également des analyses physicochimiques au cours de la fabrication pour s'assurer du bon déroulement du processus.

L'analyse des produits finis a montré qu'ils étaient de bonne qualité bactériologique.

La qualité physicochimique des produits finis était étroitement liée à la nature de la matière première et à la réalisation des différentes étapes :

- la standardisation du lait en MG et en poudre de lait donne de meilleurs résultats.
- la maîtrise des différents paramètres au cours du processus de fabrication, en particulier l'affinage, a permis l'obtention d'un produit conforme aux normes.

L'évaluation du rendement fromager a révélé un meilleur rendement lors :

- de l'utilisation du lait recombinaé,
- de l'utilisation de la coagulase synthétique.

En effet, le fromage fabriqué avec du lait recombinaé en utilisant la coagulase synthétique a donné un rendement de 10,1 % contre un rendement de 8,8 % pour le fromage fabriqué à partir de lait cru en utilisant la présure bovine.

Nous pouvons conclure dès lors, que l'utilisation de la coagulase synthétique permet de faire des progrès en industrie fromagère en assurant l'obtention d'un produit avec un meilleur rendement fromager et présentant des qualités organoleptiques satisfaisantes, aux prix les plus compétitifs.

REFERENCES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

ABDUSSALM M., ANQUEZ M., BARBER F-M., BERG JCT., BIJLENGA G., BLODGETT R-O., BUSHLAND R-C., CAPSTICK E., CLARK R-N., CLEGG LFL., COCKBURN W-C., CROSSLEY E-L., EKMAN J., EL-RAFEY M-S., GALESLOOT .TH-E., IYA K-K., JEPSEN A., JOHNS C-K., KAPLAN M-M., KASTLY P., KAY H-D., KHURODY D-N., LETHEN W-A., LUCK H, MACWALTER R-G., MANN I., MARTINI J., MITTAINE J., PEDERSEN H., PUTTE J., RICE E-B., SMITH C-N., SOLBERG P., SWIFT S., TIERSONNIER B., VLADIMIROV B., 1966 : Hygiène du lait. Mesures à prendre aux stades de la production, du traitement et de la distribution. FAO, FIAT, PANIS, Genève, Pages : 416, 417, 459.

ALLOUI G., BELKHEIR A., 1997 : Production et application de l'enzyme coagulante de *Mucor miehei* pour la fabrication de fromage de type Edam. Mémoire de fin d'étude, Génie-Biologie : Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediene, 82 pages.

AMARIGLIO S., 1986 : Contrôle de la qualité des produits laitiers, analyses physiques et chimiques. 3ème édition, AFNOR, ITSV, Pages : 105, 123, 191, 192, 579, 580, 603, 651, 652.

APFELBAUM M., FORRAT C., NILLUSS P., 1989: Abrégé de diététique et de nutrition. MASSON, Paris Milan Barcelone Mexico, Pages : 319 - 324.

BELHADJI H., SAOUDI F., 2001: Etude microbiologique et physicochimique du fromage à pâte pressée non cuite au niveau de l'unité LFB. Mémoire de fin d'étude, Génie-Biologie : Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediene, 83 pages.

BLANCCHER G., 1972: Abrégé de médecine préventive et d'hygiène. MASSON & CIE, Paris, Page : 121.

BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GAUTHIER S., GUY Ph ; LARPENT J-P., REYMOND P., SANGLIER JJ., VAYSSIER Y., VEAU P., 1990 : Biotechnologies, Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle. MASSON, Paris- Milan- Barcelone- Mexico, Pages : 355, 356.

BOUDIER J-F., 1974 : Présure et succédanés de présure. TEC & DOC, APRIA France, Page : 40.

BOUDIER J-F., LUQUET F-M., 1981 : Dictionnaire laitier, Deuxième édition augmentée. TEC & DOC, Lavoisier, Paris, Page : 15.

BOUMRAR D., DOUDA H., RAHIM N., 2007 : Essai de fabrication d'une pâte fromagère à base de la présure animale et de l'extrait coagulant de l'artichaut (*Cynara scolymus*). Mémoire de fin d'étude, Technologie alimentaire : Université M'Hamed Bougara Boumerdes, 67 pages.

BOUTICHE S., KHEROU L., 2004 : Production et application d'une enzyme végétale coagulante extraite des grains de citrouille (*Cucurbita pepo L.*) pour la fabrication de fromage de type Edam à L.F.B. Mémoire de fin d'étude, Génie-Biologie : Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediene, 48 pages.

BOUIX M., LEVEAU J-Y., 1993 : Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. TEC & DOC –Lavoisier, APRIA, Paris, Pages : 307, 311.

BOURGEOIS C-M., LARPENT J-P., 1989 : Microbiologie alimentaire, Tome II : Les fermentations alimentaires. TEC & DOC – Lavoisier, APRIA, Paris, Pages : 34, 211.

BRULE G., MAHAUT M., JEANTET R., 2003 : Initiation à la technologie fromagère. TEC & DOC, Londres- Paris- New York, Pages : 25, 27, 62 - 64, 77, 95.

CHRISTEN C., VIRASORO E., 1935 : Présure végétale, Extraction et propriété. Le lait 15, Pages : 354 - 363.

ECK A., GILLIS J-C., 1997 ; Le fromage, De la science à l'assurance qualité. TEC & DOC ; Londres- Paris- New York, Pages : 26, 42, 50 - 58, 78 à 90, 165, 166, 213, 229 - 257, 326, 327, 354, 355, 495, 713 - 715.

EVETTE., 1975 ; In : BOUTICHE S., KHEROUF L., 2004 : Production et application d'une enzyme végétale coagulante extraite des grains de citrouille (*Cucurbita pepo L.*) pour la fabrication de fromage de type Edam à L.F.B. Mémoire de fin d'étude, Génie-Biologie : Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediene, 48 pages.

FLUCKIGER E ET AL., 1969 : Le lait. La Maison Rustique, Pages : 52, 56.

GAUCHERON F., 2004 : Minéraux et produits laitiers. TEC & DOC, Londres- Paris- New York, Pages : 475, 476.

ISSANCHOU S., 1997 ; In : ECK A., GILLIS J-C., 1997 : Le fromage, De la science à l'assurance qualité. TEC & DOC ; Londres- Paris- New York, Pages : 802 - 804.

JORA., 1998 : Arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 du JORA N°35. Analyses bactériologiques du lait et des produits laitiers.

JOUE J-L., 1996 ; La qualité microbiologique des aliments. POLYTECHNICA, Page : 434.

KAMAZI H., SAIDANI A., 2006 : Contribution à l'étude d'une coagulase extraite à partir d'*Aspergillus Niger* en vue de l'obtention d'un fromage. Mémoire de fin d'étude, Technologie alimentaire : Université M'Hamed Bougara Boumerdes, 120 pages.

KHALEF F., 2006 : Suivi de la fabrication de l'ben fabriqué à la LFB. Analyses physicochimiques et microbiologiques. Mémoire de fin d'étude, Technologie alimentaire : Université M'Hamed Bougara Boumerdes, 50 pages.

LARRETA-GARDE V., 1997 : Enzymes en agroalimentaire. TEC & DOC, Londres- Paris- New York, Pages : 57, 564.

LEDERER J., 1971 : Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II : Hygiène des aliments. NAUWELAERTS, Paris, Pages : 9 ,10.

LEDERER J., 1977 : Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II : Hygiène des aliments. NAUWELAERTS, Paris ; Pages : 241, 242.

LE JAOUEN J-C., 1977 : La fabrication du fromage de chèvre fermier. Société de presse et d'édition ovine et caprine, Paris, Pages : 51 - 57, 64 – 67.

LENOIR ET AL., 1983 ; IN : BRULE G., MAHAUT M., JEANTET R., 2003. Initiation à la technologie fromagère. TEC & DOC, Londres- Paris- New York, Pages : 177 – 180.

LEYRAL G., VIERLING E., 1997 : Biosciences et techniques Microbiologie et toxicologie des aliments, Hygiène et sécurité alimentaire. DOIN éditeurs. CRDP Aquitaine, Pages : 94, 95.

LUQUET F-M., 1990 : Lait et produits laitiers Vache. Brebis. Chèvre. Tome II : Les produits laitiers, Transformation et technologie. TEC & DOC, Paris, Pages : 170, 181, 217.

MEUNIER R., SIMON P., 1970 : Microbiologie industrielle et génie biochimique. MASSON & CIE, Paris ; Page : 13.

OUTALEB T., 2006 : Aptitude à la coagulation du lait par la pepsine ovine. Mémoire de fin d'études, Technologie alimentaire et nutrition : Institut National Agronomique, 54 pages.

ROUX J-L., 1994 : Conserver les aliments, Comparaison des méthodes et des technologies. TEC & DOC, Londres- Paris- New York, Pages : 121, 122, 124.

ST-GELAIS D, TIRARD-COLLET P., 2002 ; IN : VIGNOLA C-L., 2002 : Science et technologie du lait, Transformation du lait. Presses internationales POLYTECHNIQUE, Montréal, Pages : 349 à 357, 364, 368, 369, 402.

TSUULI., 1974, POZNANSKI., 1975, BARBOSA., 1976, CORDEIRO., 1992 ; IN : KAMAZI H., SAIDANI A., 2006 : Contribution à l'étude d'une coagulase extraite à partir d'*Aspergillus Niger* en vue de l'obtention d'un fromage. Mémoire de fin d'étude, Technologie alimentaire : Université M'Hamed Bougara Boumerdes, 120 pages.

VANDEWEGHE J., 1997 ; In : ECK A., GILLIS J-C., 1997 : Le fromage, De la science à l'assurance qualité. TEC & DOC ; Londres- Paris- New York, Pages : 191- 192.

VEISSEYER R., 1979 : Technologie du lait, Constitution, Récolte, Traitement et transformation du lait. LA MAISON RUSTIQUE, Paris, Pages : 438, 439, 464- 469.

VIGNOLA C-L., 2002 : Science et technologie du lait, Transformation du lait. Presses internationales POLYTECHNIQUE, Montréal, Pages : 349 - 357, 364 - 369, 381.

VIGNIER G., 1978 : Hygiène et prophylaxie. 3^{ème} édition. MALOINE, Page : 16.

REFERENCES ELECTRONIQUES :

<http://www.bel-group.com/> : santé et nutrition ; la fabrication, page consultée le 16/02/2007.

<http://www.belischekazen.fr/> : qu'est-ce que le fromage ? ; origine du fromage, page consultée le 09/06/2007.

<http://www.cfaitmaison.com/> : les fromages sans présure ; les enzymes coagulantes, page consultée le 16/02/2007.

<http://www.fao.org/> : archives des documents de la FAO ; le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, page consultée le 13/06/2007.

<http://www.food-info.net/> : la production du fromage ; substituts pour la présure animale, page consultée le 01/03/2007.

<http://www.fromage-xavier.com/> : le monde des fromages ; la fabrication du fromage, page consultée le 16/02/2007.

<http://www.inra.fr/> : la fabrication du fromage ; les connaissances, page consultée le 16/02/2007.

<http://www.richesmonts.com/> : fromage et santé ; classification des fromages, page consultée le 13/06/2007.

<http://www.supertoinette.com/> : recette ; le fromage, page consultée le 12/02/2007.

<http://www.végétarisme.info/> : végétarisme et protection animale ; fromages sans présure, page consultée le 06/02/2007.

<http://www.wikipedia.org/> : coagulation du lait ; coagulation lactique, coagulation présure, page consultée le 16/02/2007.

ANNEXES



CHR. HANSEN

CHY-MAX Ultra

Product Information

Description

CHY-MAX *Ultra*, Chr. Hansen's high quality milk coagulant is produced via a controlled fermentation and contains 100% chymosin, the same enzyme present in calf rennet. This coagulant offers optimum cheese yield and quality and can be used in the production of most cheese varieties.

Applications

CHY-MAX *Ultra* can be used as the coagulant of choice in the production of most cheese varieties.

Ingredients

CHY-MAX *Ultra* contains chymosin in a salt brine solution with sodium benzoate added as a preservative. Caramel color is added.

Properties

Appearance: Light Amber Liquid

Odor: Free of offensive odors

Composition: 100% Chymosin from natural fermentation

Activity: Minimum 750 International Milk Clotting Units/ml (IMCU/ml)

pH (Product): 5.60 to 5.95

Specific Gravity: 1.11 to 1.13
(1 fluid oz. = approximately 34 grams)

Availability

CHY-MAX *Ultra* is available in the following package sizes:

Product Code #	Package Size
73727	5 gallon plastic recyclable container
73891	55 gallon drum
73892	265 gallon tote

CHY-MAX Ultra.pdf.doc/ Jul 2003/1:2

Chr. Hansen, Inc. - 9015 W. Maple St. - Milwaukee, WI 53214 USA - Phone: 800-558-0802 - Fax: 414-607-5959 - www.chr-hansen.com

CHY-MAX Ultra

Product Information

CHR HANSEN

Usage Rate

CHY-MAX *Ultra* is a milk clotting enzyme used to make cheese. The actual usage rate is dependent upon the cheese variety and manufacturing procedure. The typical amount to use would be ½ to 1 ounce (17 grams to 34 grams) per 1,000 lbs. (440 liters) of whole milk.

Instructions for Use

Determine the CHY-MAX *Ultra* amount required per vat. Dilute the appropriate amount of CHY-MAX *Ultra* with approximately 1/4 to 1/3 U.S. gallons of dilution water per 1,000 pounds (440 liters) of whole milk in a clean, sanitized container immediately prior to use. If the tap water is chlorinated or has a high mineral content, distilled or demineralized water is recommended. For best results, the diluted CHY-MAX *Ultra* should be added to the vat as soon as possible using sufficient agitation in the vat to ensure adequate distribution. Thereafter, all movement should be stopped and the milk should remain motionless while coagulation takes place.

Approval Status

CHY-MAX *Ultra* is U Kosher approved and Halal and is acceptable for the production of vegetarian cheeses.

Storage

CHY-MAX *Ultra* should be stored under refrigeration at 40 to 45°F or 4 to 7°C (avoid freezing) to ensure maximum activity. Use within 3 months of receipt to ensure optimum activity.

Further Information

If you would like to order CHY-MAX *Ultra* or require further information, please contact Chr. Hansen, Inc.

CHY-MAX Ultra.pdf.doc/ Jul 2003/2:2

The information contained herein is to our knowledge true and correct, and presented in good faith. However, no warranty, guarantee or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification, and may not be duplicated or used in any other form without Chr. Hansen's prior written consent.

**PRODUCT DATA SHEET**

<u>PRODUCT NAME</u>	SF-100 Veal Rennet
<u>COMPOSITION</u>	Standardized single strength (1X) veal rennet preparation consisting of a precisely standardized ratio: 85% chymosin (80.0% minimum) and 15% bovine pepsin (20.0% maximum.)
<u>APPLICATION</u>	All major cheese varieties.
<u>LABEL DECLARATION</u>	Veal rennet and associated proteins, sodium chloride, acetate, propylene glycol, caramel color, flavor. Preservative: Sodium benzoate, potassium sorbate.
<u>PACKAGING</u>	5 U.S. gallon (18.92 liter) plastic cube containers, 55 U.S. gallon (208 liter) drums, and 250 U.S. gallon (946 liter) totes
<u>SUGGESTED USAGE INFORMATION</u>	• Typical usage levels for single strength rennet products will range from 1.5 to 3.5 oz. per 1,000 lb. or 96 -225 ml per 1,000 liters of milk. When used in this range, the enzyme strength of SF-100 Veal Rennet is standardized to produce firm curd formation in approximately 30 minutes under typical cheesemaking conditions.
<u>TECHNICAL SUPPORT PROGRAMS</u>	On-site technical assistance is available.
<u>SHIPPING/SHELF LIFE/STORAGE</u>	Shipped at 70°F (21°C) or cooler. Shelf life is 5 months when stored at refrigerated temperatures (50°F/10°C or cooler.) Do not freeze.

**PRODUCT SPECIFICATIONS**

<u>Chemical Analysis</u>	<u>Specification</u>	<u>Reference Method</u>
Specific Gravity	1.139-1.142	Portable Specific Gravity Meter, 20°C
Milk Clotting Activity	84.5-87.5	FCC,III, p. 493-494
% Chymosin	>80%	IDF Standard 110:1982
% Bovine Pepsin	<20%	IDF Standard 110:1982
pH	5.7-5.8	Official Methods of Analysis 15 th edit., 981:12; JAOAC 64, 332 (1981)
<u>Microbiological Analysis</u>		
Standard Plate Count	< 1,000/g	AOAC #990.12 & SMEDP
Total Coliform	< 10/g	AOAC #991.14 & SMEDP
Coagulase Positive Staphylococcus	< 10/g	AOAC #2003.07 & 2003.08
Salmonella	Absent/25g	BAX® System AOAC #2003.09
Yeast and Mold	< 10/g	AOAC #997.02 & SMEDP
Heterofermentative Lactobacillus	Negative @ 48 hrs.	MRS Durham tube
<i>Listeria monocytogenes</i>	Absent/25g	BAX® System AOAC #2003.12

Product Data Sheet: SF-100 Veal Rennet
Updated: 02/10/06
Supersedes 10/12/05

SF-100 Veal Rennet

Page 2 of 2

Annexe N° 3 :

Réactifs pour les analyses physicochimiques :

- L'Hydroxyde de sodium N /9.
- Phénophtaléine 1% Solution alcoolique.
- Acide sulfurique N/2.
- Alcool iso-amylque (Méthyl- 3 butanol-1).
- Solution d'EDTA 0,1%.
- Eau distillée.
- Potasse alcoolique N/2.
- Hélianthine (Méthyle orange) 1%.
- Noir érichrome T (NET).
- Nitrates d'argent N/10.
- Bichromate de potassium.
- Ether de pétrole.

Annexe N° 4 :

Milieux de culture et réactifs pour les analyses bactériologiques :

- Gélose Plat Count Agar (PCA).
- Gélose Baird Parker (BP).
- Solution de jaune d'œuf au Tellurite de potassium.
- Gélose Viande Foie (VF).
- Additifs de VF : Alun de fer et sulfite de sodium.
- Gélose Hecktoen.
- Gélose Désoxycholate.
- Bouillon Lactosé Mannitol Tamponné (BLMT).
- Bouillon Lactosé au Bromocrésol Pourpre (BCPL).
- Bouillon sélectif au sélénite de sodium et cystéine (SFB).
- Gélose Sabouraud.
- Milieu de Roth.
- Milieu Litsky.
- Milieu gélosé.
- Milieu gélosé incliné.
- Milieu de culture (extrait de levure + tryptone + glucose + eau distillée).
- Solution de pénicillinase.

Annexe N° 5 :

Analyses physicochimiques :

Lait cru :

*Mesure du pH :

a- Principe : La mesure du pH se fait directement à l'aide d'un pH mètre.

b- Mode opératoire : On introduit délicatement l'électrode du pH mètre dans un bêcher contenant le lait.

La valeur de pH est lue directement sur le pH mètre.

*Mesure de la densité (D) :

a- Principe : La densité du lait est le rapport entre la masse d'un volume de lait et celle d'un même volume d'eau. Les masses étant mesurées toutes les deux à 20°C.

b- Mode opératoire : Le lait est versé doucement dans une éprouvette tenue inclinée à fin d'éviter la formation de mousse. Remplir l'éprouvette jusqu'en haut de manière à ce que le lait déborde légèrement lors d'introduction du lactodensimètre qui est muni d'un thermomètre.

Attendre 5 à 10 minutes et lire la température et la densité brute au sommet du ménisque.

$$D = D^{\circ} + 0,2 (15 + T)$$

D° est la densité lue sur le lactodensimètre.

T est la température.

*Détermination de l'acidité titrable :

a- Principe : Titrage de l'acide lactique par l'hydroxyde de sodium en présence de phénol phtaléine 1% comme indicateur de pH.

b- Mode opératoire : Dans un bêcher on introduit 10 ml de lait, on ajoute quelques gouttes de phénol phtaléine puis on titre par la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à virage de la couleur du blanc au rose pâle.

Acidité titrable ($^{\circ}D$) = chute de burette.

$1^{\circ}D = 0,1$ g d'acide lactique.

*Détermination du taux de l'extrait sec total (EST) :

a- Principe : Cette méthode est basée sur l'évaporation de l'eau d'une quantité donnée de lait placée dans un dessiccateur.

b- Mode opératoire : Une capsule préalablement pesée renfermant une quantité connue de l'échantillon est placé dans le dessiccateur.

La matière sèche est exprimée en pourcentage et le résultat s'inscrit sur l'écran.

*Détermination du taux de la matière grasse (MG) :

a- Principe : Elle est basée sur la dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique. La séparation de la matière grasse par centrifugation est favorisée par l'addition de l'alcool.

b- Mode opératoire : On introduit dans un butyromètre à lait 10 ml d'acide sulfurique puis à l'aide d'une pipette, on ajoute 11 ml de lait et 1 ml d'alcool iso amylique, on ferme le butyromètre et on procède à une agitation. On centrifuge à 1100 tours par minute pendant 5 à 10 minutes.

La lecture se fait directement sur le butyromètre.

*Détermination du taux de l'extrait sec dégraissé (ESD) :

La teneur en ESD est exprimée en pourcentage et elle est donnée par la formule suivante :

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

La poudre de lait :

*Préparation de l'échantillon :

Dans une fiole, peser 10 g de poudre de lait à 0% de MG, ajouter 100 ml d'eau potable. Laisser dans l'agitateur 30 minutes puis refroidir au réfrigérateur pendant 20 minutes.

La détermination du pH, de l'acidité titrable et de l'EST se fait suivant les mêmes méthodes utilisées pour le lait cru.

*Détermination du taux d'humidité (H) :

Elle est réalisée selon la formule suivante et exprimée en pourcentage.

$$\text{H} = 100 - \text{EST}$$

La MGLA (Matière Grasse de Lait Anhydre) :

Concernant la détermination de la densité, de l'EST, de la MG et de l'humidité, nous avons utilisé les mêmes méthodes décrites pour le lait cru.

*Détermination des résidus non lipidiques (non gras N.G) :

a- Principe : Le résidu non lipidique est obtenu par dissolution de la matière grasse en utilisant l'éther de pétrole puis filtration et pesage du résidu insoluble.

b- Mode opératoire : Sécher le papier filtre à 102°C, laisser refroidir dans le dessiccateur. Peser dans un bécher environ 10 g de l'échantillon. Ajouter 15 à 25 ml d'éther de pétrole et dissoudre en agitant doucement, filtrer à l'aide du papier filtre et d'un entonnoir, ajouter deux fois 25 ml d'éther, récupérer le filtre avec les résidus non lipidiques, le sécher 20 secondes dans un four pasteur, peser jusqu'à obtention d'un poids constant.

Le résidu non lipidique est exprimé par la formule suivante :

$$\mathbf{N.G = b/a * 100}$$

b est la masse exprimée en gramme de résidu.

a est la masse exprimée en gramme de la prise d'essai.

*Détermination de l'indice de saponification (I.S) :

a- principe : Elle est basée sur la dissolution de la matière grasse du lait anhydre dans une solution de la potasse alcoolique et saponification à l'ébullition en présence de la phénol phtaléine.

b- mode opératoire : Peser 5 g de MG, porter à ébullition, refroidir à 40°C, ajouter 25 ml de potasse alcoolique et 0,5 ml de phénol phtaléine puis titrer par la solution d'acide sulfurique.

Réaliser un essai à blanc avec de l'eau distillée.

L'indice de saponification est exprimé comme suit :

$$\mathbf{I.S = (V0 - V1) 28,05 / E}$$

V0 est le volume de la solution acide utilisé pour l'essai à blanc.

V1 est le volume de la solution acide utilisé pour l'échantillon.

E est la masse en grammes de la prise d'essai.

L'eau de reconstitution :

La mesure du pH se fait de la même méthode que pour le lait cru.

*Détermination du titre alcalimétrique (TA) :

a- principe : La mesure du TA permet de déterminer la teneur en alcalins libres et caustiques, elle est basée sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide minéral dilué en présence d'un indicateur coloré.

b- mode opératoire : Dans un bécher, on introduit 50 ml d'eau à analyser, on ajoute 3 gouttes de phénol phtaléine. On titre le mélange avec une solution d'acide sulfurique jusqu'à disparition de la couleur rose.

$$\mathbf{TA (^{\circ}F) = V1 * 5 * 10}$$

V1 est le volume de l'acide sulfurique utilisé pour le titrage.

°F est degré Français.

*Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC) :

a- principe : La mesure du TAC permet de déterminer la teneur en carbonates et en bicarbonates avec le même principe que le TA ainsi sa valeur est obtenue par la même formule.

b- mode opératoire : Pour 50 ml d'eau, on ajoute 2 gouttes de méthyle orange. Titrer avec de l'acide sulfurique jusqu'à apparition de la couleur rouge

*Détermination du titre hydrométrique (TH) :

a- principe : C'est le titrage des ions calcium et magnésium avec une solution de sel disodique d'EDTA, avec l'indicateur NET.

b- mode opératoire : Pour 100 ml d'eau, on ajoute 12 gouttes de l'indicateur NET et 5 ml de solution tampon ammoniacal, On titre avec l'EDTA jusqu'à virage de la couleur du violet au bleu.
TH (°F) = volume de la chute de la burette.

*Dosage des chlorures (Cl):

a- principe : C'est le titrage des chlorures par une solution de nitrates d'argent en présence d'un indicateur coloré.

b- mode opératoire : Pour 100 ml d'eau, on ajoute 5 ml de bichromate de potassium, le titrage se fait par le nitrates d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rouge brique.

La teneur en chlorures est donnée par l'expression suivante :

$$Cl = 35,5 (n - b)$$

n est le volume de nitrates d'argent ayant servi au titrage.

b est le volume de nitrates d'argent nécessaire pour obtenir la même teinte avec un même volume d'eau distillée.

35,5 : masse molaire du chlore

Annexe N° 6 :

Méthodes des analyses microbiologiques :

I. PREPARATION DES ECHANTILLONS :

I.1. Prise d'essai :

Le lait étant un produit liquide, il constitue d'emblée une solution mère (SM).

Le fromage étant un produit solide, il fera l'objet de dilutions décimales.

Les prises d'essai sont effectuées sur l'échantillon homogénéisé.

I.2. Cas des produits liquides :

Dilutions décimales :

- Introduire 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} .

I.3.Cas des produits solides.

Introduire aseptiquement 25 grammes de fromage dans un bocal stérile préalablement taré contenant au préalable 225 ml d'eau physiologique (diluant) et homogénéiser. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution 1/10 ou 10^{-1} . Préparer les dilutions décimales.

I.4. Nombre des échantillons :

- 1 échantillon pour le lait cru.
- 5 échantillons pour la poudre de lait
- 5 échantillons pour le fromage.
- pour la MGLA .
- pour l'eau de reconstitution.

***Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux :**

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

Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$.

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 paillasse.

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

- première lecture à 24 heures,
- deuxième lecture à 48 heures,
- troisième lecture à 72 heures.

Lecture :

Les colonies se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Dénombrement :

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

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 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.

***Recherche et dénombrement des Coliformes en milieu solide :**

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} voire 1, porter aseptiquement 3 fois 1 ml dans 3 boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées.

Compléter ensuite chaque boîte avec environ 20 ml de gélose au Désoxycholate fondue puis refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$. Mélanger toujours.

- une série de boîtes sera incubée à 37°C , pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes totaux,
- l'autre série sera incubée à 44°C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes fécaux.

Que se soit à 37 ou à 44°C , les premières lectures se feront au bout de 24 h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse mais fluorescentes. Les autres colonies non fluorescentes ne sont ni des coliformes totaux ni des coliformes fécaux.

Dénombrement : Se fait de la même manière.

***Recherche de Salmonella :**

Jour 1 : Pré-enrichissement :

Prélever 25 g de produit à analyser dans un bocal stérile préalablement taré contenant au préalable 225 ml d'eau physiologique (diluant), homogénéiser et incubé à 37°C pendant 18 h.

Jour 2 : Enrichissement :

L'enrichissement est effectué sur le milieu bouillon Sélénite Cystéine réparti à raison de 100 ml par flacon.

L'enrichissement proprement dit, se fait de la façon suivante :

- 1ml de la solution pré-enrichie est additionné à 10 ml de Sélénite Cystéine, puis incubé à 37°C / 24 h.

Jour 3 : Isolement :

Un isolement sur le milieu gélosé Hektoen est incubé à 37°C pendant 24 h.

Jour 4 : Lecture des boîtes et Identification :

Les Salmonelles se présentent sous forme de colonies le plus souvent gris bleu à centre noir.

***Recherche de *Staphylococcus aureus* :**

Préparation du milieu :

Faire fondre un flacon contenant 225 ml de gélose Baird Parker, le refroidir à 45°C, puis ajouter 15 ml d'une solution de jaune d'œuf au Tellurite de potassium.

Mélanger soigneusement et aseptiquement, puis répartir le milieu en boîtes de pétri à raison de 15 à 18 ml par boîte.

Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse, puis les sécher en les plaçant retournées couvercle en bas dans une étuve de séchage réglée entre 45 à 55°C.

Ensemencement :

A partir de la dilution décimale 10^{-1} , porter 0,1 ml en surface d'une boîte contenant le milieu de Baird Parker puis étaler à l'aide d'un étaleur (pipette Pasteur).

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

Lecture :

Seront considérées comme positives, les boîtes contenant des colonies caractéristiques à savoir des colonies noires, brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui peut être translucide.

Après 24 heures, peut apparaître dans cette zone transparente, un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

***Recherche de spores d'Anaérobies Sulfito-réducteurs**

Préparation du milieu :

Faire fondre un flacon de gélose Viande Foie, laisser refroidir à 45°C, puis préparer une série de 3 tubes, 2 tubes avec 5 ml de la dilution décimale 10^{-1} et un tube avec 1ml de la même dilution et compléter à 5 ml avec de l'eau distillée stérile, porter ces trois tubes au bain marie à 80°C pendant 10 min, puis les refroidir à l'eau courante ; ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 min.

Ces tubes seront incubés à 37°C pendant 72 heures.

Lecture :

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures, car :

- d'une part les colonies de Clostridium Sulfito-réducteurs sont envahissantes, et d'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse avec un diamètre supérieur à 0,5 mm ; effectuer aussi une identification biochimique.

Dans le cas où il n'y a pas de colonies caractéristiques, réincuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 72 heures.

***Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**

Les streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable) qui fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- le test de présomption : réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe,
- le test de confirmation : réservé à la confirmation proprement dite sur milieu EVA, des tubes trouvés positifs au niveau des tests de présomption.

***Test de présomption :**

Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution.

A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée.

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. Mais attention, il n'y a aucun dénombrement à faire à ce niveau.

***Test de confirmation ou test de Mac Kenzie :**

Chaque tube de Rothe trouvé positif lors du test de présomption fera l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans un tube de milieu EVA Litsky.

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- un trouble microbien,
- une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte uniquement des tubes d'EVA positifs ou négatifs.

-Illustration :

Sur milieu de Rothe :

- * à la dilution 10^{-1} : 2 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer,
- * à la dilution 10^{-2} : 2 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer,
- * à la dilution 10^{-3} : 1 tube sur 3 est positif, donc à repiquer.

Cela signifie, que nous avons 5 tubes à repiquer sur milieu EVA.

Après repiquage et incubation, si :

- * à la dilution 10^{-1} : 1 tube sur 2 est positif,
- * à la dilution 10^{-2} : les 2 tubes sont négatifs,
- * à la dilution 10^{-3} : le tube repiqué est positif,

Le nombre caractéristique sera de « 101 », ce qui correspond à 0,7 sur la table de Mac Grady.

On considère donc qu'il y a 0,7 Streptocoques fécaux à la dilution 10^{-1} . Mais tenant compte du facteur de dilution et pour revenir à 1, il faut multiplier ce nombre par l'inverse de la première dilution soit : $0,7 * 10 = 7$.

Le résultat final sera donc de 7 Streptocoques fécaux par g ou ml de produit à analyser.

***Recherche et dénombrement de Levures et Moisissures :**

A partir de la dilution décimale 10^{-1} , porter 0,1ml dans une boîte de pétri contenant de la gélose Sabouraud, étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incubé à 22°C pendant 5 jours. Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les Levures soit par les Moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours, Levures à part et les Moisissures à part.

Au moment de la lecture, commencer obligatoirement par les deux boîtes témoins : milieu et diluant ; si l'une d'entre elles est contaminée, l'analyse est ininterprétable, donc à refaire.

Interprétation des résultats :

Étant donné que nous avons travaillé avec 0,1 ml de la dilution décimale 10^{-1} , on doit multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution (par 100), faire ensuite la moyenne arithmétique, puis exprimer le résultat final en ml ou en gr de produit à analyser.

Annexe N° 7:

-Détection des résidus de la pénicilline dans le lait par la technique des disques de papier filtre

(Norme Belge NBN V 21-012: Institut Belge de normalisation, 1978) :

Cette méthode permet la détection d'une teneur en acide 6-aminopénicilline supérieur à 0,001 μ g (0,0025 U.I de pénicilline) par ml de lait cru ou le lait en poudre reconstitué.

Principe :

Un disque de papier absorbant imprégné par le lait à examiner est placé sur la surface d'un milieu gélosé ensemencé avec une souche de référence : *Bacillus stearothermophilus*, variété *calidolactis*, qui est particulièrement sensible à la pénicilline.

Echantillon :

Le lait doit être analysé dans les 10 h suivant le prélèvement et conservé à une température aussi basse que possible pour éviter l'inactivation de la pénicilline.

Pour le lait reconstitué, mélanger 10 g de poudre de lait avec 100 ml d'eau distillée stérile.

Préparation du test :

*Conservation de la souche de référence sur milieu gélosé incliné en striant la surface et incubé le tube pendant 48 h dans une étuve à 55°C. La culture ainsi obtenue peut être conservé au maximum pendant un an au réfrigérateur à 5°C.

*Préparation de la culture test :

Ensemencer le bouillon de culture (10 ml de milieu de culture liquide dans un erlenmeyer) avec la souche fraîchement préparée provenant d'un tube de milieu gélosé incliné, notant que la culture liquide doit être uniformément trouble. Incuber à 55°C durant 16 à 18 h.

*Préparation des boîtes de pétri :

Ajouter une partie de la culture liquide à cinq parties de milieu gélosé (fondu et refroidi à 55°C) dans un tube à essai ou un flacon. Mélanger soigneusement.

Transvaser dans une boîte de pétri stérile une quantité suffisante de milieu de manière à former une couche uniforme de 0,8 à 1,0 mm d'épaisseur. Placer la boîte de pétri sur une surface horizontale froide pour se solidifier.

*Exécution de test :

A l'aide d'une pince propre et sèche, maintenir un disque de papier filtre à la surface de l'échantillon jusqu'à imprégnation complète, éliminer l'excès de lait.

Placer le disque plat sur la surface préalablement séchée du milieu gélosé de la boîte et appuyer légèrement à l'aide de la pince.

Mettre un disque de pénicillinase au milieu de la boîte pour comparer.

***Interprétation des résultats :**

L'apparition d'un trouble dans la masse gélosée après incubation traduit une croissance normale des microorganismes.

Le teste est considéré comme positif dans le cas où pour le même échantillon de lait nous constatons :

- l'existence d'une zone claire autour du disque imprégné de l'échantillon, indiquant la présence dans le lait, de substances inhibitrices de la croissance des microorganismes.
- sur le disque de pénicillinase, la zone claire n'apparaît pas ou elle est de diamètre plus réduit, indiquant que la pénicilline (substance inhibitrice) a été inactivée par la pénicillinase.

Annexe N° 8 :

Fiche de dégustation.

LAITERIE FROMAGERIE DE BOUDOUAOU

DEPARTEMENT ANALYSES ET

CONTROLE DE LA QUALITE

BOUDOUAOU , LE

FICHE DE DEGUSTATION

NOM :

PRENOM :

FONCTION :

NATURE DU PRODUIT :

NOTATION

Paramètres	Notations	Essai I	Essai II
Goût	00 - 03		
Odeur	00 - 02		
Couleur	00 - 02		
Texture	00 – 03		
TOTAL	10	/10	/10

Observations et Suggestions :

.....

SIGNATURE DU DEGUSTATEUR

La fabrication fromagère a tiré un grand profit du développement de la recherche enzymatique.

C'est dans cet esprit que nous avons orienté notre étude vers la comparaison entre l'utilisation d'une coagulase synthétique et l'utilisation de la présure bovine pour la fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type EDAM.

L'activité coagulante de la coagulase synthétique s'est révélée supérieure à celle de la présure bovine.

Le fromage fabriqué à partir de la coagulase synthétique, en respectant tous les paramètres lors du processus de fabrication, présentait une qualité bactériologique et physicochimique comparable à celle obtenue lors de l'utilisation de la présure bovine; mais les qualités organoleptiques ainsi que le rendement fromager étaient meilleurs.

Mots clés :

Fromage à pâte pressée non cuite type EDAM - Coagulase synthétique - Présure bovine- Rendement fromager.

Cheese manufacture has benefited a great deal from the development observed in enzyme research. Indeed, enzymes from various origins with the specificity to coagulate milk were discovered and isolated in order to succeed bovine rennet.

In this sense our study was directed towards the comparison between the use of a synthetic coagulase and bovine rennet in manufacturing uncooked pressed cheese of EDAM type.

As a result, the clotting activity of the synthetic coagulase was higher than the one of bovine rennet.

By respecting all parameters during the manufacturing process, cheese made with synthetic coagulase presented a bacteriological and physico-chemical quality comparable to the one obtained through using bovine rennet but better organoleptic quality and yield as well.

Keywords:

Uncooked pressed cheese of EDAM type - Synthetic coagulase - Bovine rennet -Yield of cheese.

ملخص

فلا تفتكصاحة الجن قواك بولن الظور التي شاهدته البعث في ميدان الأنزيميلحيث تم كاشفك وتدفق أنزيميل ذلك صلول مختلفة تتمتع بخصوصية تخثير الحليب وذلك لكي تحل محل المنفعة (المخثر من أصل حيواني).

ومن هذا المنطلق تركزت دراساتنا حول المقارنة بين المستعمل مخترط طائفي والمستعمل مخترط طائفي حيواني (المذقة) في صناعة الألبان من أصل عجيبة منزوعة الماء وغير مطبوخة من طرل إيدام، هك لك نسبة تخثر الحليب المستعمل المخترط الطائفي أعلى منها بالمستعمل المخترط من صل حيواني.

لقد قدم الجبن المصنوع من المخثر الاصطناعي نوعية بكتريولوجية وفيزيائية-كيميائية مماثلة لتلك التي قد نلناها عليها من خلال سلتعمال المخثر من أصل حيواني، وكذا نوعية ذوقية ومردود أفضل وأحسن، وذلك باحترام كل المعايير خلال عملية التصنيع.

الكلمات الرئيسية

جبن من أصل عجينة منزوعة الماء وغير مطبوخة من طراز إيدام- مخثر اصطناعي، -منفحة من أصل حيواني - مردود الجبن.