الـجمـهـوريـة الـــجـزائـريـة الـديـمـقـراطـــيـة الشـعـبـــية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التـعـلـيـم الـعـالـــي و الـبـحـث الـعـلـمـي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المـدرسـة الـوطـنـيـة الـعـلـيـا لـلـبـيـطـرة

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
ALGER

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

THEME :

Essai de fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type EDAM avec un extrait coagulant de pepsine de bovin adulte

Présenté par :

- ZAABOUNE Mohamed lamine.
- BELGACEM Ahmed Said.

Soutenu le 20/ 07/ 2010

Jury :

Président:	**Mme. CHAHED. A. Maître Assistant A**	**ENSV**
Examinateur :	**Mr. HARHOURA.K. Maître Assistant A**	**ENSV**
Examinateur :	**Mr. OTHMANI. M.A Maître Assistant A**	**ENSV**
Promoteur:	**Mlle. MOUZALI. L. Maître Assistant A**	**ENSV**

.

Année universitaire : 2009 – 2010.

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 promotrice Mlle MOUZALI. L pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ses encouragements et sa confiance en nous.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Mme CHAHED. A, pour avoir accepté de présider le jury ce mémoire de projet de fin d'étude.

Nous sommes honorés par la participation de Mr HARHOURA K et Mr OUTHMANI M.A enseignants à l'E.N.S.V d'Alger, comme membres examinateurs de ce mémoire de projet de fin d'étude.

Nous remercions également Mr KRIM. K chef de service au niveau de la Laiterie Fromagerie de Boudouaou (LF.B) ; Mr SABAOUI. K ; Mme AMALOU ainsi que tous le personnel du laboratoire de physicochimie, microbiologie et de l'atelier de production du fromage EDAM de la LFB pour leur soutien moral, matériel et leur disponibilité à chaque fois qu'ils sont sollicités et surtout leur patience durant l'essai de fabrication. Que ce travail puisse être un hommage mérité à toute cette grande équipe.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mme AISSI et à Mr ZOUAMBI ainsi qu'a leur personnel technique pour nous avoir accueillis dans leur laboratoire de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

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

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

Dédicace

Je dédie ce modeste travail en particulier à mes très chers parents à qui je dois tout. Eux qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études et qui m'ont donné le meilleur d'eux-mêmes, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude et toute ma reconnaissance.

A mes frères El Hachemi, Abderrezak et Nassim et mes adorables sœurs que dieu les protèges.
A toute ma famille, petits et grands.

A tous les étudiants de l'ENSV et plus spécialement ceux de ma promotion 2010.

A tous ceux que je connaisse à la cité BOURAOUI Amar.

Ahmed Said

Je dédie ce modeste travail en particulier à mes très chers parents à qui je dois tout. Eux qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études et qui m'ont donné le meilleur d'eux-mêmes, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude et toute ma reconnaissance.

A mes frères Ouahab, Hamza et mes sœurs surtout Hadil que dieu les protèges.

A toute ma famille, petits et grands.

A tous les étudiants de l'ENSV et plus spécialement ceux de ma promotion 2010.

A tous ceux que je connaisse à la cité BOURAOUI Amar.

Mohamed Lamine

Sommaire

Sommaire

Introduction

Partie I : Données bibliographiques

Chapitre I : Généralités sur les fromages……....1

I-1-Définition ……..……1

I-2-Etapes de fabrication……..1

I-3-Classification des fromages……...5

Chapitre II : Fromage à pâte pressée non cuite type Edam…….....6

II-1-Définition et origine……...……...6

II-2-Caractères physico-chimiques……..……...6

II-3-Composition et valeur nutritionnelle……..7

Chapitre III : La présure……...……7

III-1-Définition……..7

III-2-Propriétés et caractéristiques……..7

III-3-Les succédanés de présure …….....…8

III-3-1- d'origine animale..……..9

III-3-2- d'origine microbienne……...10

III-3-3- d'origine végétale……..11

III-4-Les principaux caractères des succédanés de présure…….……..11

III-5-Les facteurs influençant l'action enzymatique……..…….12

Chapitre IV : La pepsine bovine issue de la caillette des bovins adultes…….....13

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes…….…….....14
I-1-Matériel et réactifs……..…….....14
I-2-Matière première utilisée……...…….15
I-2-1-Lait cru…….…….....15
I-2-2-Enzymes utilisées…….……15
I-3-Méthodes……...…….…15
I-3-1-Détermination de l'activité enzymatique……...…….....15
I-3-1-1-Mesure du temps de prise……...15
I-3-1-2-Mesure de l'activité coagulante……...……...16
I-3-2- Analyses physicochimiques……...……..16
I-3-3- Analyses bactériologiques…….……...17
I-4-Procédé de fabrication……..…….…...17
I-5- Analyse sensorielle...……...20
I-6- Détermination du rendement fromager…….20
Chapitre II : Résultats et Discussion……21
II-1-Détermination du temps de prise……...……21
II-2-Résultats des analyses effectuées sur la matière première……...….22
II-2-1-Résultats des analyses physico-chimiques……..……22
II-2-2-Résultats des analyses bactériologiques…….….23
II-3-Résultats des analyses effectuées au cours de la fabrication……25
II-4-Résultats des analyses effectuées sur le produit fini après l'affinage…….…….28
II-4-1-Résultats des analyses physicochimiques.…….…….28
II-4-2-Résultats des analyses microbiologiques…….....29
II-4-3-Analyses sensorielles…….....30
II-5-Rendement fromage…….……..32

Conclusion

Abréviations

AFNOR= association française de normalisation

INRA=Institut National de la Recherche Agronomique

PH=potentiel d'Hydrogène

EST= extrait sec total

MG= matière grasse

ESD= extrait sec dégraissé

TH= titre hydrométrique

TA= titre alcalimétrique

TAC= titre alcalimétrique complet

LFB= laiterie et fromagerie de boudaou

UP= unité présure

°**B**= degré Baume

°**D**= Degré Doric

CSR= clostridies sulfito-reductrices

ml= milliltre

gr= gramme

JORA=

LS I= lactosérum I

LS II= lactosérum II

Coli= coliformes

FAO= Food Agriculture Organisation

Introduction

Introduction

Les fromages sont des aliments nobles, de haute qualité et d'une grande valeur nutritionnelle et gustative. Ce sont par excellence, des aliments capables de satisfaire les besoins nutritionnels élémentaires. Ils jouent un rôle dans l'équilibre du régime alimentaire. Leur teneur en lipides, protéines, acide lactique et sels minéraux très importantes et leurs confèrent une valeur biologique extrêmement élevée, d'où leur considération comme des aliments hautement digestible et presque intégralement absorbés au niveau des intestins. Ceci, les rend bons à consommer pour tous les groupes d'âge.

La présure extraite à partir de caillettes de veau nourri au lait dont l'usage est le plus ancien, reste l'agent coagulant le mieux adapté et le plus utilisé en industrie fromagère, grâce à sa forte activité coagulante et son activité protéolytique réduite.

De nos jours, son utilisation est confrontée à la contrainte majeure de sacrifice des jeunes veaux, ce qui risque de provoquer une crise dans le marché de la viande.

Suite à cette pénurie et à une forte demande de produit fromagers, de recherches ont été faites pour obtenir d'autres enzymes d'origines différentes (animale, végétale ou microbienne), qui pourront être utilisé comme alternatifs à la présure animale et seront susceptibles de remplir certaines conditions dont les principales sont :

- ✓ Disponibilité totale sans risque de concurrence avec d'autre secteur de production.
- ✓ Prix de revient moins élevé par rapport à la présure.
- ✓ Le fromage obtenu doit conserver les mêmes propriétés physico-chimiques et organoleptiques que celui obtenu avec la présure.
- ✓ L'absence de toxicité ou tous autres phénomènes anormaux.

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposés d'effectuer à l'échelle laboratoire au niveau de la Laiterie Fromagerie de Boudouaou (L.F.B) un essai de fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type « EDAM » avec un extrait concentré de pepsine bovine adulte en comparaison a un essai témoin à base d'une présure commerciale d'origine animale. Pour cela la démarche entreprise consiste en:

- ✓ La caractérisation des propriétés coagulantes des extraits précités
- ✓ La caractérisation physicochimique et microbiologique des matières premières mises en jeux lors du procédé de fabrication ainsi que celle du produit fini.
- ✓ La caractérisation organoleptique du produit fini avec estimation du rendement fromager

Etude bibliographique

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les fromages

I-1-Définition du fromage

Le fromage, selon la norme Codex, est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéine de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait (ST-GELAIS et *al.*, 2002).

Il constitue une forme ancestrale de conservation des protéines, de la matière grasse ainsi que d'une partie de calcium et du phosphore, dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe (MAHAUT et *al*., 2003).

La définition légale française du fromage, précise que le produit est fermenté ou non, en fait, il subit toujours au moins la fermentation lactique, il est constitué essentiellement par la caséine du lait, sous forme de gel plus au moins déshydraté retenant la presque totalité de la matière grasse (VEISSEYERE, 1975 ; MIETTON et *al.*, 1994).

I-2-Etapes de fabrication du fromage

La fabrication du fromage comprend trois étapes :

- Coagulation ou formation du gel ou coagulum.
- Egouttage ou déshydratation du gel aboutissant à un caillé.
- Affinage ou digestion enzymatique du caillé.

Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des fromages frais consommés après égouttage. (FAO. 1995).

I-2-1-Coagulation du lait

Elle correspond à une déstabilisation des micelles de caséines qui floculent puis se soudent pour former un gel emprisonnant des éléments solubles du lait. La coagulation peut être provoquée, par l'action d'une enzyme, par acidification, ou encore par l'action combinée des deux. (ST-GELAIS, 2002).

I-2-1-1-Coagulation par l'action des enzymes

Elle consiste à transformer le lait de l'état liquide à l'état de gel par action d'enzymes protéolytiques d'origine animales (présure, pepsine) végétales (bromélie, ficine) ou microbiennes (enzymes de certaines moisissures ou de bactéries). (FAO, 1995 ; MAHAUT et *al.*, 2003).

La coagulation du lait par voie enzymatique comprend trois étapes :

- **Phase primaire ou enzymatique**

Elle correspond à l'hydrolyse de la caséine Kappa, au niveau de la liaison peptidique phénylalanine 105-méthionine 106 (GARNIER et *al*., 1968 ; MAHAUT et *al*., 2003), qui conduit à la formation de deux peptides de haut poids moléculaire : paracaséine KAPPA (1-105) et caséinomacropeptide (CMP 106-169), la paracaséine KAPPA, liée aux caséines ALPHA et BETA, reste intégrée à la micelle, elle a un caractère basique et hydrophobe. Le caséinomacropeptide, qui porte tous les glucides éventuellement présents, est libéré et passe dans le sérum. Il a un caractère acide et hydrophobe. (BRULE et LENOIR, 1987)

- **Phase secondaire ou d'agrégation des micelles déstabilisées**

Elle correspond à la coagulation proprement dite, qui nécessite absolument les ions calcium, mais qui ne peut se produire à 0°C (DESMASEAUD et SPINNLER, 1997). Elle commence lorsque environ 80% de la caséine KAPPA et la micelle perd son caractère hydrophile, il y a diminution de son degrés d'hydratation et de son potentiel de surface. Des liaisons hydrophobes et électrostatiques s'établissent alors entre les micelles modifiées et vont entrainer la formation de gel. (MAHAUT et *al*., 2003).

- **Phase tertiaire ou phase de réticulation**

Les micelles déstabilisées et agrégées sont alors soumises à une profonde réorganisation mobilisant notamment la fraction phosphocalcique et impliquant vraisemblablement des ponts disulfures entre les paracaséines.

I-2-1-2-Coagulation par acidification

L'abaissement du pH du lait a pour effet de neutraliser progressivement les charges électronégatives des caséines. Cette dernière provoque une réduction du potentiel de surface ayant pour conséquence la diminution du pouvoir séquestrant des caséines et l'augmentation de la

solubilité des sels calciques dans l'eau. Les micelles, ainsi dépourvues de leurs éléments stabilisateurs (phosphate de calcium), se désagrègent en leurs sous-unités : les sub-micelles. (BRULE ET LENOIR, 1990).

I-2-1-3-Coagulation mixte

La coagulation mixte, est réalisée selon deux phénomènes, l'acidification (qui consiste à précipiter les caséines isoélectriques (pHi=4.6) par acidification biologique à l'aide de fermants lactiques qui transforment le lactose en acide lactique) et l'addition de l'enzyme coagulante. En pratique cette méthode est utilisée pour la fabrication de fromage frais (petit suisse, demi-sel…) et les fromages à pâte molle (camembert, brie…) (MAHAUT et *al.*, 2003).

Le coagulum obtenu présente des caractères intermédiaires entre ceux du gel lactique et de la présure, il est caractérisé par une souplesse et une contractilité moins grande, une fermeté et une friabilité plus accentuée que celles du gel présure (VEISSEYRE, 1979 ; MIETTON et *al*, 1994).

I-2-2-Egouttage

Il correspond à une élimination progressive de lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement corrélatif du gel, il conduit à l'obtention d'une masse de caillé dont l'extrait sec est plus au moins concentré et qui correspond au fromage formé (RAMET, 1997).Malgré son apparente simplicité, l'égouttage est un phénomène complexe dont les mécanismes ne sont pas entièrement connus, il est le résultat de deux phénomènes physiques différents (FAO, 1995).

-Un phénomène actif, la synérèse, qui est dû à la concentration du gel, il est particulièrement dans le coagulum emprésuré.

-Un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum interstitiel qui est fonction de la porosité et de la perméabilité.

Ces caractéristiques dépendent très étroitement des conditions particulières dans lequel le gel a été formé, elles sont très différents pour le coagulum résultant d'une activité enzymatique dominante et pour celui obtenu par voie acide (WEBER, 1987).

La synérèse est due à la concentration du gel qui est particulièrement importante dans les gels présure. Après les modifications de la micelle de caséine par l'enzyme coagulante et par l'acidification, il se produit d'abord un réarrangement moléculaire qui donne naissance au gel, ensuite, sous l'action de la protéolyse qui découvre progressivement des sites potentiels, il se forme

de nouvelles liaisons (liaisons hydrogène, pont désulfure, liaison calcium) qui provoque la contraction du gel et, par suite, l'expulsion du sérum (MIETTON et *al.*, 1994).

L'égouttage est favorisé par des facteurs mécaniques (le découpage qui consiste à diviser le caillé en cubes réguliers pour accroitre la surface d'exsudation du sérum et le brassage qui consiste à agiter les grains de caillé dans le sérum pour maintenir et déployer la surface d'égouttage), des facteurs physiques (le chauffage qui permet l'établissement de nouvelles liaisons au sein du gel) et des facteurs chimiques (l'acidification qui accroit la perméabilité du gel et diminue l'eau liée au protéines). Selon l'intensité de ses facteurs, des teneurs en eau et en calcium des caillés seront très différentes et conditionnent en grande partie l'évolution future des fromages (MIETTON et *al.*, 1994).

I-2-3-Affinage

C'est la phase ultime de la fabrication du fromage, elle correspond à un ensemble de dégradations enzymatiques, simultanées ou successives du substrat (caillé) préparé par la coagulation et l'égouttage qui lui conférera à la fin une texture et une saveur caractéristiques selon le type du fromage recherché. (FAO, 1995). Il constitue un processus très complexe en raison de la nature du substrat, de la variété des agents responsables des transformations, de la diversité des modifications subies par les constituants et du grand nombre de produits formés. (ST-GELAIS, 2002).

L'affinage se traduit par plusieurs phénomènes biochimiques dont les plus importants sont la fermentation du lactose, la dégradation enzymatique des protéines et l'hydrolyse de la matière grasse. Ces transformations biochimiques confèrent au caillé des caractères nouveaux. En effet, la pâte à l'origine dure, compacte et sans grande saveur, est modifié dans sa composition, sa structure et, par suite dans son aspect, sa consistance, sa couleur. Simultanément, la saveur et l'arôme se développent (CHOISY et *al.*, 1987).

I-3Classification des fromages

On distingue quatre classes de fromages selon le **Tableau 1**.

Tableau 1: Classification des fromages en fonction des opérations de fabrication (GUIRAUD, 1998).

<table>
<tr><th>Type de fromage</th><th>Type de croûte et autres particularités de la pâte</th><th>Opération de fabrication</th><th>Exemples de fromages</th></tr>
<tr><td>Fromage frais ou à pâte fraiche</td><td>Sans croûte</td><td>Fromages à égouttage obtenu par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique et ne sont pas affinés.</td><td>Petit suisse
Fromage demi-sel</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Fromage à pâte molle</td><td>A croûte lavée</td><td rowspan="3">-Fromages obtenus par action de la présure. Ils subissent un affinage après la fermentation lactique.

-La pâte est ni pressée ni cuite

-L’égouttage est long, réalisé par un simple découpage et essentiellement un brassage.</td><td>Munster, Evarot, Pont-l’évêque</td></tr>
<tr><td>A croûte moisie</td><td>Camembert, brie, carré de l’Est</td></tr>
<tr><td>Persillée (à moisissures internes)</td><td>Roquefort, bleu</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Fromage à pâte pressée non cuite</td><td>Pâte ferme non cuite</td><td rowspan="7">Fromages obtenus par l’action de la présure.
Ils subissent un affinage après la fermentation lactique et un égouttage avec découpage du caillé, brassage et pressage.</td><td>Cantal</td></tr>
<tr><td>A croûte lavée</td><td>Saint-paulin
Reblochon</td></tr>
<tr><td>A croûte moisie</td><td>Saint-nectaire
Tomme de Savoie</td></tr>
<tr><td>A croûte artificielle</td><td>Edam</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Fromage à pâte pressée cuite</td><td>Avec ouverture</td><td>Emmental
Comté</td></tr>
<tr><td>Sans ouverture</td><td>Beaufort</td></tr>
<tr><td>Très dure (très brassée)</td><td>Cheddar</td></tr>
</table>

Chapitre II : Fromage à pâte pressée non cuite type Edam

II-1-Définition et origine « Edam »

Le fromage Edam a été fabriqué pour la première fois dans la région d'Edam, située près de la ville de ‘’Zuiderzee’’ au nord de la Hollande. Il est fabriqué depuis le XVIème siècle. Sa forme en boule de 1.7 kg environ et la couleur rouge de paraffine qui enrobe sa croûte lui ont valu le nom de la ‘’tête de maure’’. (LUQUET, 1985).

Selon la durée d'affinage, sa pâte homogène va de tendre à dure. Elle est de couleur ivoire claire à ivoire foncé et son goût va de doux franc à piquant et salé. Il se consomme après 4-6 semaines d'affinage jusqu'à plus d'un an. Il porte la qualification de tendre ou jeune après 6 semaines d'affinage, demi-étuvé ou demi-vieux après 6 mois et étuvé ou vieux après 12 mois. Il se présente aussi sous forme de brique de 2 à 2.5 kg. Sa croûte est également affinée et il se consomme uniquement tendre (LUQUET, 1985).

II-2-Caractères physico-chimiques

Les principaux caractéristiques physico-chimiques du fromage « Edam » sont représentés dans le **Tableau 2.**

Tableau 2 : caractéristiques physico-chimiques du fromage « Edam »

Caractéristiques	normes
Extrait Sec Total « EST »	51 +/- 1%
Matière Grasse « MG »	20 +/- 1%
Gras/sec	45 +/- 1%
pH	5,3 – 5,5
Humidité	50 +/- 2%
Nacl	1,5 – 2%

II-3-Composition et valeur nutritionnelle

Selon LUQUET (1985), la valeur nutritive du fromage Edam est considérable, comme le montre les données suivantes :

Protéines :	24 à 27%
Matière grasse :	24 à 45%
Calcium:	750 à 855 mg /100 g
Sodium:	900 mg /100 g
Phosphore:	500 mg / 100 g
Valeur énergétique :	390 à 400 k cals / 100 g de fromage.

Chapitre III : La présure

III-1-Définition

Selon LENOIR (1985), la présure est un agent coagulant traditionnellement utilisée pour la coagulation du lait en vue de fabriquer des fromages. Elle est extraite de la caillette du veau non sevré. La solution obtenue contient deux enzymes : la chymosine et la pepsine bovine en proportions variables.

Les solutions sont mises en vente en exprimant la force coagulante selon SOXHLET qui correspond au volume de lait à 35°c coagulé par un litre de présure en 40 min. ainsi, un litre de présure de force 10 000éme doit coaguler 10 000 litres de lait à 35°c en 40 min. cependant, la détermination précise du temps de coagulation par une enzyme donnée nécessite un substrat normalisé et une technique appropriée (COLLIN et *al.*, 1977).

III-2-Propriétés et caractéristiques

- **Chymosine**

La chymosine est sécrétée inactive sous forme de prochymosine dans la caillette. Sous l'action de l'acidité (ion H3O+) sécrétée par cet organe, elle se transforme en chymosine active. C'est une holoprotéine de 35 000 daltons de poids moléculaire. Elle appartient au groupe des protéases acides et comporte 323 acides aminés (FOLTMANN et *al.*, 1979).

Elle est stable à pH acide (5.3 – 6.3), inactive à pH basique (7.5) et dénaturé à pH fortement basique (8.0). L'inactivation thermique de cet enzyme commence à 50°c et atteint son maximal à 61°c. (ALAIS, 1984).

- **Pepsine bovine**

Elle est sécrétée par la caillette des bovidés, alors que la chymosine disparait. Son action protéolytique est voisine de celle de la chymosine mais les conditions d'action sont différentes.

Industriellement, la présure est extraite par macération de morceaux de caillette sèche provenant de veaux non sevrés, dans une saumure à 10% de NaCl avec certains additifs à savoir : le phosphate di sodique, des antiseptiques et des antifongiques, de l'acide benzoïque, des ions minéraux (Na, K et Ca) et un colorant (COGITORE, 1978). Le jus brut obtenu est ensuite purifié par voie physique et chimique.

Pour obtenir 1 litre d'extrait commercial au 10 000^{e} avec 10 – 16% de NaCl, il faut 1 à 2 caillettes de 60g. A l'état naturel, l'extrait est jaune d'or. (ALAIS, 1984).

III-3-Les succédanés de présure

Il s'agit des enzymes ou mélanges d'enzymes pouvant à l'échelle traditionnelle, expérimentale ou industrielle faire office de présure, et possédant de manière générale les propriétés de cette dernière.

Le terme le plus approprié pour les enzymes de la présure ainsi que pour leurs succédanés est celui d'Aspartils protéases acides, car leurs site catalytique contient deux résidus d'acide aspartique (GRIPON, 1985 ; HEIMGARNER et *al.*, 1990).

Selon leur origine et comme le montre **Tableau 3**, on distingue trois catégories de succédanés : succédanés d'origine animale, microbienne, végétale. (ECK, 1997).

Tableau 3: Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait.

Origines			**Enzymes**
Animale	Ruminants	Veau	CHYMOSINE
		Chevreau	+pepsine
		Agneau	
		Bovin adulte	PEPSINE+chymosine
	Monogastriques	Porc	Pepsine porcine
		Poulet	Pepsine de poulet
Végétale	Figuier (suc)		FICINE
	Chardon – artichaut (panicules)		
	Gaillet (caille lait)		
	Ananas (tige)		BROMELINE
	Etc.		
Microbienne	Moisissures *Mucor miehei*		Mm
	Mucor pusillus		Protéase de Mp
	Cryphonectria Parasitica		Cp
	Aspergillus niger var awamori		CHYMOSINE
	Levures *Kluyveromyces lactis*		
	Bactéries *E. Coli K12*		

III-3-1-Les succédanés d'origine animale

Plusieurs protéases autres que la présure sécrétées par l'estomac de divers animaux ont fait l'objet d'utilisation en industries fromagères.

Les importantes enzymes digestives produites par le pancréas tel que la Trypsine et la Chymosine ne conviennent pas à cause de leur très grande activité protéolytique non spécifique et leur pH optimum d'action qui se situe dans la zone alcaline (ALAIS, 1974).

La pepsine porcine est une protéase à caractère plus acide que la chymosine. Son activité est meilleure en milieu acide, mais décroit fortement au-dessus de pH 6.3. Mélangée à la présure a raison de 50 / 50, la pepsine porcine parait être d'une utilisation plus large surtout dans les pays anglo-saxons. (ECK, 1990).

La pepsine avicole est extraite des proventricules du poulet. Elle fait l'objet de plusieurs études pour être utilisé comme remplaçante de présure dans la fabrication de fromage type Cheddar, l'Emmental et le camembert. (MORSLI, 1996).

La pepsine bovine est l'une des constituants de la présure et dont la sécrétion devient importante après le sevrage. Son activité est moins dépendante du pH que celle de la pepsine porcine.

Des extraits enzymatiques à base de pepsine extraits de la paroi interne de l'estomac de la morue peuvent coaguler le lait à 15°c. C'est une température d'activité meilleure comparant à la chymosine de veau. (BREWER et *al.*, 1984 ; SCRIBAN, 1993).

Les nomades du Ahaggar, fabrique du fromage à partir du lait du dromadaire en utilisant des morceaux d'estomac du lapin du désert qui renferme la pepsine. (BTAWAY et *al.*, 1987 ; EL ABASSI, 1987).

III-3-2-Les succédanés d'origine microbienne

Ce sont les coagulases produites par les bactéries et les mycètes

- ✓ **Les succédanés d'origine bactérienne**

Ils se distinguent par leur activité protéolytique très élevée. Leur pouvoir coagulant est meilleur que celui de ceux d'origine végétale mais moins que celui de ceux d'origine fongique.

Aucune préparation de ces enzymes bactériennes n'a dépassé le stade expérimental. On cite quelques espèces qui pourront faire office de succédanés de présure. (BOUDIER, 1974) :

Bacillus brevis, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Micrococcus lipoliticus, Streptococcus feacalis.

- ✓ **Les succédanés d'origine fongique**

A l'échelle expérimentale ces coagulases ont donné des résultats satisfaisants et comparables à ceux obtenus avec la présure. (LUQUET, 1985).

Actuellement, plusieurs préparations sont commercialisées sur le marché international et utilisées à plus ou moins grande échelle selon le pays. (BOUDIER, 1974).

III-3-3-Les succédanés d'origine végétale

Plusieurs espèces végétales ont été utilisées comme souche de coagulase, bien longtemps avant les microorganismes. Les protéases végétales sont extraites à partir de divers organes de plantes supérieures (feuilles, fleurs, fruits, graines).

Les coagulases végétales sont rarement utilisées dans l'industrie fromagère. Sont utilisées surtout dans la fabrication traditionnelle du fromage frais dans les régions montagneuses.

Ces succédanés possèdent un pouvoir coagulant très variable et une forte activité protéolytique. Ceci, se traduit par une baisse du rendement en fromage, une mauvaise fermeté du caillé avec un goût d'amertume. (ALAIS, 1984).

III-4-Les principaux caractères de succédanés de présure

Il est évident que toutes les protéases, quel que soit leur origine, sont capables d'hydrolyser la caséine, provoquant ainsi le phénomène de coagulation du lait.

Malheureusement, ce critère n'est pas suffisant pour une large utilisation en industrie fromagère. (ALAIS, 1984).

Les succédanés de présure doivent présenter un certain nombre de caractère pour pouvoir être utilisé en industrie fromagère, à savoir :(BOUDIER, 1974)

- Une odeur et couleur fiable
- Une bonne solubilité dans l'eau
- Absence d'activité toxique
- Une activité protéolytique faible
- Un rendement fromager élevé
- Absence de goût d'amertume et de friabilité du caillé
- Une activité enzymatique efficace et longue.

III-5-Les facteurs influençant l'action enzymatique

III-5-1-Nature et concentration en enzyme

Le temps de prise est inversement proportionnel à la dose d'enzyme utilisée. La nature des préparations enzymatiques, est dans le cas de la présure, le rapport chymosine/pepsine a aussi une influence sur la vitesse d'agrégation des micelles et par suite sur la vitesse de raffermissement du gel. (MIETTON et *al*., 1994).

III-5-2-Température

Le phénomène de coagulation est fortement dépendant de la température. A une température inférieure à 10°c, la présure ne coagule pas le lait. Dans l'intervalle 10 à 20°c, la vitesse de coagulation est lente. Au-dessus de 20°c, elle augmente progressivement jusqu'à 40 à 42°c, elle diminue ensuite et au-dessus de 65°c elle devient nulle, l'enzyme est inactive. (MAHAUT, 2003).

III-5-3-Teneur en calcium

La présence de sels de calcium solubles dans le lait favorise l'action de la présure (LE JAOUEN, 1977). L'augmentation d'ions de calcium dans le lait va influencer l'agrégation des caséines.

Le temps de prise va diminuer tandis que le temps de raffermissement et la fermeté du gel vont augmenter jusqu'à des concentrations en chlorure de calcium d'environ 0.01 M. en revanche, à des concentrations en CaCl2 supérieures, on observe un phénomène inverse pour chacun des paramètres de coagulation. (ST-GELAIS, 2002).

III-5-4-pH

Le pH d'emprésurage joue un rôle important sur les caractéristiques du gel. En effet sans abaissement va entrainer un temps de coagulation plus court. En passant de pH 6.7 à pH 5.6 la vitesse d'hydrolyse de la caséine est multipliée par 7 et la vitesse de coagulation par 30. Cet accroissement de la vitesse de coagulation par l'abaissement du pH entraine une augmentation de la vitesse du raffermissement, et par la suite une diminution du temps de raffermissement.

En revanche, à pH élevé (supérieur à 7), il n'y a plus de coagulation, l'enzyme étant inactivée rapidement. (MAHAUT et *al.*, 2003).

L'acidité facilite également l'expulsion du lactosérum, s'oppose à la croissance des microorganismes contraignants, et intervient dans la maturation du fromage. (BRULE et LENOIR, 1987).

III-6 : La pepsine bovine issue de la caillette des bovins adultes

La pepsine bovine adulte est sécrétée par les caillettes en quantité importantes après le sevrage des bovidés, alors que la chymosine disparait. Elle est caractérisée par un poids moléculaire de 33400 Da. Son action protéolytique est voisine de celle de la chymosine, mais les conditions diffèrent, en effet, il y'a une différence importante en pratique qui consiste en l'influence du pH sur l'activité ; la chymosine est encore active à pH 6.8, alors que la pepsine ne coagule plus le lait au-dessus de pH 6.7 (GOURSAUD, 1999).

Cependant, plus récemment, il nous faut encore citer des recherches entreprises dans l'Europe de l'Est. Cerna et ses coll. ont décrit la fabrication d'une préparation à base de pepsine et obtenue à partir d'estomacs de porcs et de bovins. Ces auteurs estiment que ce produit, d'après des essais de laboratoire, permet la fabrication du Quarg (fromage à pâte fraîche de couleur blanche, sans croûte), en donnant un rendement satisfaisant et ces recherches ont été confirmées par des fabrications à l'échelle commerciale. Le fromage obtenu est comparable à celui préparé avec la présure et à l'époque cette fabrication était envisagée sur un plan industriel.

Matériel & méthodes

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I-1-Matériel et réactifs

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

I-1-1-Matériel et réactifs pour analyses physicochimiques :

En plus du petit matériel consommable d'un laboratoire de physicochimie nous avons utilisé les appareils suivants :

- Gelograph (GEL INDUSTRIEL)
- Dessiccateur (SARTORIUS)
- pH mètre (GERBER)
- Centrifugeuse (GERBER)
- Butyromètre à lait (BERGER)
- Butyromètre à fromage (VANGULIK)
- Thermolactodensimetre (KEVIN)
- Balance analytique (OHAUS)
- Burette hydrométrique

Les réactifs utilisés sont présentés en **Annexe 1**

I-1-2- Matériel utilisé pour l'analyse bactériologique

Nous avons utilisé du matériel usuel de laboratoire de bactériologie. Les réactifs et les milieux de culture utilisés sont présentés en **Annexe 2**

I-1-3-Matériel utilisé au cours de la fabrication :

- Bacs à lait
- Micropipettes
- Couteaux et louche
- Toiles et moules
- Bain de saumure
- Tables d'affinage

I-2-Matière première utilisée

I-2-1-Lait cru

Le lait cru utilisé au cours de notre essai de fabrication est du lait collecté au niveau des fermes environnantes par des collecteurs de lait privés et livré à la LFB en citernes maintenus à +4°C.

I-2-2-Enzymes utilisées

Nous avons utilisé deux solutions enzymatiques d'origine animale extraite à partir de caillettes de bovins adultes (pepsine bovine) selon la méthode de VALLES et FURET (1977) **(Annexe3),** et l'autre une présure commerciale d'origine animale **(Annexe 4)**

I-3-Méthodes

I-3-1-Détermination de l'activité enzymatique

I-3-1-1-Mesure du temps de prise

Plusieurs méthodes ont été mises au point pour mesurer le temps de l'addition d'enzyme jusqu'à la coagulation commençante du mélange de réaction encore appeler le temps de prise et ou de coagulation d'une solution enzymatique : méthode visuelle (méthode de BERRIDGE), méthodes physiques (GELOGRAPH.), et méthodes chimiques (méthodes thermiques par un coagulomètre). (INRA, 1988).

Au cours de cette étude , nous avons déterminé ce temps par Méthode de BERRIDGE (1945) rapporté par (COLLIN et *al*.,1977) dont le principe consiste à déterminer visuellement, dans des conditions standardisées, l'apparition des premiers flocons de micelles sur la paroi d'un tube à essai légèrement incliné, contenant le substrat de BERRIDGE **(Annexe 5)** additionné de notre solution enzymatique et tournée lentement à raison de 2 à 4 tours par minute dans un bain marie. Les conditions standards de mesure sont :

-Volume de la solution enzymatique :…….1ml.
-Volume de lait coagulé :…… 10ml.
-Température du lait :……..35°C.
-pH du lait :.....…… .6,40
-Durée de la mesure :……40 min.

Notons que cette détermination à également était mesurée conformément aux conditions standards déjà cités au GELOGRAPH dont le principe est présenté en **Annexe 6.**

I-3-1-2-Mesure de l'activité coagulante « force coagulante »

L'activité coagulante des enzymes est déterminée selon la méthode de SOXHLET. (TSOULI, 1979) exprimant l'activité enzymatique en force coagulante « Force de SOXHLET ».

Cette force définit le volume de lait coagulé par unité de volume de l'enzyme utilisée, en 40 minutes, à 35°c et à pH 6.4. L'évaluation de cette mesure est fixée dans les conditions standards suivantes :

Volume de la solution enzymatique : ……1ml
Volume de lait coagulé (substrat de BERRIDGE)……10ml.
Température du lait : ……..…..35°c.
pH du lait : ……..……...…….6.4.

Elle est exprimée par la relation suivante: **F = 2400 V / t v**

Avec :

F = force coagulante de l'enzyme.
V = volume de lait ajusté.
v = volume de la solution enzymatique.
t = temps de coagulation de lait en secondes.

I-3-2- Analyses physicochimiques

Les méthodes d'analyses effectuées selon les normes fournies par la LFB (normes AFNOR modifiées) sont détaillées dans l'**Annexe 7.** Les analyses effectuées à savoir (pH, MG, EST et ESD) sur les fromages obtenus répondent aux mêmes principes utilisés pour le lait cru.

I-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 8.**

Concernant la méthode de détection des résidus de pénicilline, nous avons utilisé le Kit de test Delvo ; qui se compose d'un incubateur et d'une boite de 25 ampoules de test, chaque ampoule est un test individuel contenant de pourpre gélose dans lequel 0.1 ml de lait est placé à l'aide de la pipette fournie, la lecture se fera après 3 heures d'incubation.

I-4-Procédé de fabrication

Lors de cette étude, nous avons effectué deux (02) essais de fabrication de fromage à pâte pressée non cuite type EDAM à l'échelle laboratoire selon le procédés technologique de la LFB présenté par les **Figures (1** et **2)** et le **Tableau 4**, à savoir :

- ✓ L'essai 1 emprésuré avec de la présure commerciale d'origine animale,
- ✓ l'essai 2 «emprésuré » avec un extrait concentré de pepsine bovine adulte.

Notons que chaque essai a été effectué sur un échantillon de 6 litres de lait cru.

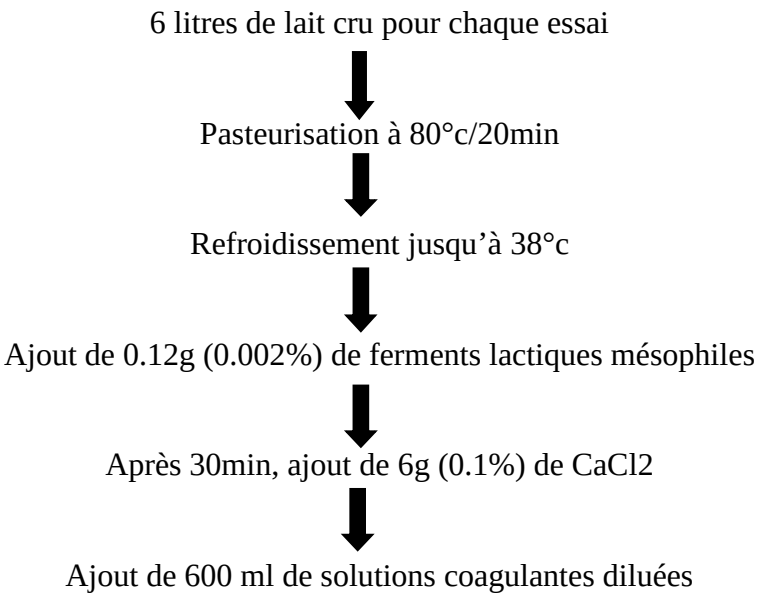


Figure 1 : Protocole de préparation du lait cru destiné à la fabrication

Tableau 4 : différentes étapes de fabrication du fromage type EDAM

Différentes étapes	**Pepsine bovine adulte**	**Présure animale**
Addition de l'enzyme		
Quantité	600 ml	600 ml
Température d'emprésurage	38°C	38°C
Coagulation		
Temps de prise	376 secs (6'16'')	390 secs (6'30'')
Temps de coagulation	Environ 19 minutes	Environ 20 minutes
Tranchage et brassage		
Durée	10 minutes	10 minutes
Délactosage		
Soutirage du sérum	4.2 litres	4.33 litres
Ajout de l'eau :		
-Quantité	4.2 litres	4.33 litres
-Température	38°C	38°C
Durée de brassage	10 minutes	10 minutes
moulage		
Pressage		
Durée sous presse	4 heures	4 heures
Démoulage		
Saumurage		
Durée	4 heures	4 heures
Concentration	20° B	20° B
Affinage		
Durée	4 semaines	4 semaines
Température	12°C	12°C
Hygrométrie	90%	90%
Conditionnement, stockage, paraffinage		

Caillage

Découpage

Brassage

Egouttage

Pressage

Démoulage

Saumurage

Affinage

Paraffinage

Figure 2 : Différentes étapes de fabrication de l'EDAM

I-5 Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle des fromages obtenus, a été effectuée conformément à une fiche de dégustation (**Annexe 9**) fourni par la L.F.B à un jury de dégustation composé de huit (08) membres du personnel de l'unité en question. Les principaux Critères sensorielle retenu lors de cette étude sont :

- Gout
- Odeur
- Texture
- couleur

I-6 Détermination du rendement fromager

Le rendement de la transformation du lait en fromage est l'une des plus importantes données en fromagerie, c'est l'expression mathématique de la quantité du fromage obtenu 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 fromage fabriqué pour 100 Kg de lait ;
- La quantité de lait mise en œuvre pour fabriquer 1 Kg de fromage ;

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

$$R = Pf / Pl .100$$

Avec :

Pf : Poids du fromage en Kg.
Pl : Poids du lait.

Résultats & discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

II-1-Détermination du temps de prise

Afin d'arriver à des produits fromagers comparables respectivement pour l'extrait de pepsine bovine adulte et de la présure animale, nous avons dans un premier temps estimer les dilutions auxquelles ces derniers conduiraient à un même temps de prise compris entre 5 - 10 minutes. Temps généralement préconisé en fromagerie à l'échelle industrielle.

A l'issue de cet essai nous avons obtenu les résultats présentés par le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Activité coagulante des préparations enzymatiques utilisées.

Paramètres	**Pepsine bovine**	**Présure animale**
Dilutions	1/50	1/1200
Temps de prise	6 min 16 sec (376 sec)	6 min 30 sec (390 sec)
Temps de coagulation	1128 sec	1170 sec
Force coagulante « F »	3191.48	73846.15

De ces résultats il ressort :

- Les dilutions 1/50 et 1/1200 ont conduit à des temps de prise comparables égales respectivement 376 sec et 390 sec pour l'extrait concentré de pepsine bovine adulte et la présure commerciale d'origine animale. De ce fait, elles ont été retenues comme dilutions de choix pour mener notre essai de fabrication.

- Une activité coagulante exprimée en Force coagulante nettement plus élevée soit de 73846.15 pour la présure animale du faite que c'est un extrait purifié en comparaison à celle obtenue avec l'extrait concentré de pepsine bovine égale à 3191.48 d'où l'utilité de sa purification.

II-2-Résultats des analyses effectuées sur les matières premières

Notons que l'ensemble des examens physico-chimiques et bactériologiques de l'eau de reconstitution dont les résultats son présentés par les **Tableaux 7** et **10** ont été effectuées par le laboratoire de physico-chimie et de microbiologie de la L.F.B.

II-2-1 Résultats des analyses physico-chimiques

- **Lait cru**

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du lait cru.

	pH	**densité**	**Acidité titrable (D°)**	**EST**(%)	**MG** (%)	**ESD**(%)
Normes L.F.B	6,5-6,75	1030-1032	15-18	120-130	34-40	86-90
Lait cru	6,5	1028	18	118.45	36	82,45

- **Eau de reconstitution**

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimique de l'eau de reconstitution.

	pH (°F)	**TA** (°F)	**TAC** (°F)	**TH** (°F)	**Chlorure** (%)
Normes L.F.B	6.5-8.5	0	Max 50	Max 60	Max 200
Eau utilisée	7.83	0	32	70	217

TA = titre alcalimétrique, **TAC** = titre alcalimétrique complet, **TH** = titre hydrométrique.

De ces résultats, il ressort :

- Un taux d'ESD et ou de densité du lait cru respectivement égale à 82.45% et 1028 légèrement bas aux normes établies par la LFB d'où la nécessité de son enrichissement par [2] la poudre de lait « low heat » favorisant ainsi un bon rendement fromager.

- Une valeur de TH supérieure aux normes de la L.F.B démontrant fort probablement la présence de grandes quantités de calcium et de magnésium qui pourrait être due à une mauvaise déminéralisation de l'eau de reconstitution. 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 calcium et le magnésium avec les ions bicarbonates.

- Un taux en chlorure supérieur aux normes, cela résulterait probablement d'une javellisation excessive en vue de l'obtention d'une meilleure désinfection.

Toutefois et à l'issue de toutes ces résultats, on note la conformité physicochimique des matières premières précitées mise en jeu dans le procédé de fabrication aux normes établies par la LFB.

II-2-2-Résultats des analyses bactériologiques

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées sur le lait cru avant et après pasteurisation ainsi que sur l'eau de reconstitution sont présentés par les **Tableaux 8, 9 et 10** en comparaison aux normes de la LFB.

- **Lait cru**

Tableau 8 : Qualité bactériologiques du lait cru.

	Germes aérobies à 30°c/g ou ml	**Coli. Totaux /gr ou ml**	**Coli. Fécaux /gr ou ml**	***Staph. aureus* /gr ou ml**	***Salm.* Dans 25 gr**	**CSR /gr**	**Residus de penicilli-ne**
Normes L.F.B	Max 10^5	Max 10^3	Max 10^3	Abs	-	Max 50	Abs
Essai	125.10^3	1200	50	Abs	-	0	négatif

Coli : Coliformes ; *staph. aureus* : *Staphylococcus aureus* ; *salm* : *Salmonelles* ; CRS : Clostridium sulfito-reducteurs.

- **Lait pasteurisé**

Tableau 9 : Qualité bactériologiques du lait pasteurisé.

	Germes aérobies à 30°c/g ou ml	**Coli. Totaux /gr ou ml**	**Coli. Fécaux /gr ou ml**	***Staph. aureus* /gr ou ml**	***Salm*. Dans 25 gr**	**CSR /gr**	**Residus de penicilli -ne**
Normes	10^3	Abs	Abs	Abs	-	Abs	-
Essai	Abs	Abs	Abs	Abs	-	Abs	-

Coli :Coliformes ; *staph.- Aureu : Staphylococcus-aureus* ; *salm :Salmonelles* ;CRS = clostridium sulfito-reducteurs ; Res. de peni : Résidus de la pénicilline.

- **Eau de reconstitution**

Tableau 10 : Qualité bactériologiques de l'eau de reconstitution.

	Germes aérobies à 30°c/g ou ml	**Coli. Totaux /gr ou ml**	**Coli. Fécaux /gr ou ml**	***Staph. aureus* /gr ou ml**	***Salm*. Dans 25 gr**	***CSR* /gr**	***Strep* /50 ml**	**Residus de penicill-ine**
Normes	Abs	<10	Abs	Abs	Abs	< ou = 5	Abs	-
Essai	Abs	<10	Abs	Abs	-	< ou = 5	Abs	-

Les résultats de l'analyse bactériologique présentés par le **Tableau 8** du lait cru en comparaison aux normes fournies par la LFB révèlent la présence :

- de germes totaux et de coliformes totaux
- de coliformes fécaux (indice de contamination fécale), bien que leur charge est banale en comparaison aux normes fournies par la LFB inspirées de l'arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 du JORA N°35.

Les résultats ainsi obtenus et qui sont en accord avec les observations de ECK et GILLIS (1997) révèlent fort probablement une contamination conséquente soit d'un mauvais

nettoyage du matériel de la traite et/ou du personnel manipulateur. Après pasteurisation, la totalité des germes signalés ont été éliminé traduisant l'efficacité du barème de pasteurisation choisie.

Concernant les résidus d'antibiotiques, nous avons effectué la recherche des résidus de la pénicilline vue son usage très répondu pour combattre les mammites par voie générale et locale comme le confirme LEDERER (1977). Tous nos résultats se sont avérés négatifs. Toute fois un résultat négatif ne signifie pas que le lait est exempt de résidus de pénicilline car il peut en contenir moins de 0.001µg /ml de lait ne compromettant pas son acidification puisque l'activité des levains lactiques est inhibée par la présence de 0.26µg/ml de résidus comme spécifié par ECK et GILLIS (1997).

Au vu des différents résultats que nous avons obtenus, nous constatons que les produits analysés à savoir le lait cru (avant et après pasteurisation) et l'eau de reconstitution, présentent une qualité physicochimique et bactériologique satisfaisantes les rendant propre à la transformation fromagère.

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

- **Les fermants lactiques**

Les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur les ferments lactiques sont présentés par le **Tableau 11**.Ces derniers se sont révélés relativement en accord avec les normes de L.F.B.

Tableau 11 : Caractéristiques physicochimiques des ferments lactiques.

Paramètres à analyser	**pH**	**Acidité (°D)**
Normes LFB	Min 3.5	Min 70
Ferments lactiques	3.5	78

- **Lactosérum I et II**

Les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur le Lactosérum I et II issu des caillés de fromage obtenus avec l'extrait concentré de pepsine de bovin adulte et celui de la présure animale sont présentés par le **Tableau 12** en comparaison aux normes de la LFB.

Tableau 12 : Caractéristiques physicochimiques des lactosérums I et II.

Paramètres à analyser		pH	Acidité (°D)	EST (%)	MG (%)	Volume en litres
LS I	**Normes LFB**	6.5 – 6.6	16 – 18	80 +/- 4	2 – 8	
	Présure animale	6.4	18.5	82.38	3	4.33
	Pepsine bovine	6.3	19	81.10	3	4.2
LS II	**Normes LFB**	6.8 – 6.9	7 – 8	40 +/- 4	0 – 2	
	Présure animale	6.5	8.5	41.33	0	
	Pepsine bovine	6.4	9	41.12	2	

LS I : lactosérum issu directement du 1er égouttage du caillé. LS II : lactosérum issu du 2e égouttage après le délactosage du caillé, qui consiste à remplacer le volume du 1er lactosérum par de l'eau pour abaisser la richesse du caillé en lactose.

Ces résultats révèlent :

Dans le cas du lactosérum I, une conformité aux normes établies par la LFB pour les taux en MG et en EST (%). cependant nous avons noté un pH légèrement bas aux normes précitées soit égal respectivement à 6.4 et 6.3 pour le LSI présure et pepsine bovine adulte associe à une augmentation de leur acidité (18.5 et 19 °D) respective. Cette élévation de l'acidité peut être expliquée fort probablement par l'ajout des ferments lactiques comme ca été observé par VIGNOLA (2002) ; ECK et GILLIS (1997).

-Un volume du lactosérum I égoutté à partir des caillés obtenus, légèrement supérieur soit égal à 4.33 l pour le LSI présure en comparaison au LSI pepsine et qui est égal à 4.22 l. Celui ci est certainement dû à un égouttage insuffisant d'où l'utilité de prolonger la durée d'égouttage pour éviter tout risque de rétention d'eau dans le caillé.

-Dans le cas du lactosérum II, les résultats obtenus montrent des taux en MG et en EST (%) conformes aux normes fournies par la LFB. Cependant l'acidité notée (8.5-9 °D) est légèrement élevée dans les deux cas, elle est associé à un pH bas égal réspectivement à 6.5et

6.4 pour le LSII présure et pepsine bovine adulte. Celle-ci est fort probablement due à un mauvais 1ér égouttage, au cours duquel le lactosérum I un peu plus acide est resté emprisonner dans le caillé puis libéré lors de délactosage (LSII).

- **Fromage après pressage**

Les résultats des analyses physicochimiques des fromages obtenus après pressage avec l'extrait concentré de pepsine de bovin adulte et celui de la présure animale sont rapportés par le **Tableau 13** en comparaison aux normes de la LFB.

Tableau 13 : Qualité physicochimiques des fromages après pressage.

Paramètres à analyser	**pH**	**EST (%)**	**MG (%)**
Normes	5.4 – 5.5	50 +/- 1	20 – 22
F1 /Présure animale	5.30	56.20	21.5
F2/Pepsine de bovine adulte	5.34	57.43	22

De ces résultats il ressort:

- Une conformité aux normes de la LFB pour le taux de MG (%) et ce pour les deux fromages pressés obtenus avec les deux extraits enzymatiques.
- Une augmentation du taux d'EST respectivement égal à 56.20 et 57.43 % pour les fromages F1 et F2 cela peut être expliqué par une perte plus ou moins importante d'eau suite à une longue durée de pressage.
- Un pH légèrement bas par rapport aux normes recommandées par la LFB pour les deux essais, à cause des opérations de tranchage et de brassage effectuées manuellement qui ont induit un délactosage incomplet à l'origine d'une quantité résiduelle d'acide lactique dans le caillé. La taille des grains de caillé ainsi obtenus, ne permettait pas une exsudation complète du lactosérum comme décrit par BRULE et *al*., (2003).
- **Fromage après saumurage**

Tableau 14 : Qualité physicochimiques des fromages après saumurage.

Paramètres à analyser	pH	EST (%)	MG (%)
Normes LFB	5.3 – 5.4	50 +/- 1	20 – 22
F1/Présure animale	5.22	58.31	22
F2/Pepsine bovine	5.26	59.16	22.5

Les résultats de l'analyse physicochimique présentés par le **Tableau 14** du fromage après saumurage en comparaison aux normes fournies par la LFB révèlent :

- Un pH inférieur.
- Une conformité du taux de MG(%)
- Une augmentation du taux d'EST(%)

Au vu des différents résultats que nous avons obtenu, nous constatons que la baisse relative du pH et l'augmentation relative de l'EST (%) entre les deux étapes de pressage et de saumurage, pourraient être lié directement à la sortie du lactosérum et la migration des sels de la saumure vers l'intérieur du fromage suite au phénomène d'osmose.

II-4-Résultats des analyses effectuées sur le produit fini après l'affinage

II-4-1-Résultats des analyses physicochimiques

Tableau 15 : Qualité physicochimiques du produit fini après affinage.

Paramètres à analyser	pH	EST (%)	MG (%)	ESD (%)	Nacl (%)
Normes LFB	5.3 – 5.5	51 +/- 1	20 +/- 1		1.5 - 2
F1/Présure animale	5.18	61.62	25	36.62	2.63
F2/Pepsine bovine adulte	5.06	60.33	23	37.33	2.63

Les résultats de l'analyse physicochimique présentés par le **Tableau 15** des produits finis obtenus après l'affinage : F1etF2 en comparaison aux normes fournies par la LFB révèlent :

-Des taux de MG et d'EST(%) supérieurs aux normes de la L.F.B conséquent fort probablement à une conduite défectueuse des conditions de l'affinage. Effectivement nous avons constaté lors de cet essai, une légère élévation de la température d'affinage associée à un taux d'humidité insuffisant entrainant une évaporation d'eau certaine des fromages obtenus et donc une augmentation de l'EST.

-Un % en ESD bas soit de 36.62 pour le fromage présure contre 37.33% pour le fromage pepsine. Ces résultats pourraient s'expliquer fort probablement par les pertes constatées lors des étapes d'égouttage et de délactosage du caillé présure conduisant ainsi à des taux respectifs d'EST et où ESD de 82.38 et 41.33% contre 81.1 et 41.12 pour le caillé pepsine (voir Tableau 12).

-Un pH nettement bas aux normes précitées égal à 5.18 et 5.06 respectivement pour F1 et F2 du aux facteurs déjà cités.

-Un taux en Nacl élevé pour les formages F1 et F2 en comparaison aux normes LFB conséquents fort probablement d'un mauvais saumurage et ou d'une évaporation excessive d'eau lors de l'affinage et delà une concentration du Nacl dans les fromages en question.

Au vu des différents résultats obtenus, le fromage pepsine (F2) type non cuit à pate pressé c'est montrer de qualité physico-chimique comparable à celui obtenu avec la présure animale

II-4-2-Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini sont représentés dans le **Tableau 16** en comparaison aux normes aux normes de la LFB.

Tableau 16: Qualité microbiologique du produit fini.

	Coli. Totaux à 37°C	**Coli. Fécaux à 44°C**	***Staph.aureus* à 37°C**	***Salm*. à 37°C**	**C.S.R à 35°C**
Normes LFB	10	10^2	10^2	Abs	1
F1/Présure animale	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
F2/Pepsine bovine	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Coli : Coliformes ; *staph. aureus* : *staphylococcus aureus* ; *salm. : Salmonelle* ; CRS : clostridium sulfito-reducteurs.

Les résultats de l'analyse microbiologique présentés par le **Tableau 16** du produit fini après l'affinage en comparaison aux normes fournies par la LFB révèlent l'absence totale des germes recherchés. Ces résultats témoignent une bonne hygiène de fabrication et d'environnement ainsi qu'une manipulation correcte des fromages.

II-4-3-Analyses sensorielles

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 stimule les sens de la vue, de l'ouïe, du toucher, de l'odorat et du goût et provoque les réactions plus ou moins vives d'acceptations ou de rejet. (ISSANCHOU, 1997).

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

Tableau 17 : Qualité sensorielle du produit fini.

Critères sensorielle	**Fromage 1 de Présure animale**	**Notes (moyenne)**	**Fromage 2 de Pepsine bovine**	**Notes (moyenne)**
Couleur	Ivoire claire	0.93/1	Ivoire claire	0.93/1
Odeur	Caractéristique de l'EDAM	1.56/2	Caractéristique de l'EDAM	1.31/2
Texture	Ferme	2.56/4	Tendre	2.75/4
Goût	Salé	1.75/3	Salé	2.37/3
Totale		6.8/10	**Totale**	7.36/10

Un jury de 8 personnes composées par le personnel du laboratoire de la LFB, a jugé la qualité sensorielle des fromages suivants une fiche de dégustation décrites en **Annexe 9** conformément à l'essai par notation. Des résultats obtenus et présentés par la Tableaux ci-dessus, il ressort :

-Six (06) personnes ont trouvé le fromage fabriqué par la pepsine bovine adulte de meilleure qualité comparativement à celui obtenu avec la présure animale commerciale surtout pour le critère relatif au goût. Les autres critères à savoir la texture, couleur et l'odeur ce sont montrées comparables pour les deux fromages.

-Deux(02) personnes parmi les jurys, ont signalé une légère odeur moisie pour le fromage fabriqué à partir la pepsine bovine adulte mais qui reste tolérée d'un point de vue organoleptique. Cette odeur peut être expliquée par une rétention d'eau plus ou moins élevée en comparaison avec celui fabriqué par la présure animale qui favorise le développement des moisissures. L'aspect interne des fromages obtenus est représenté dans la **figure 3.**

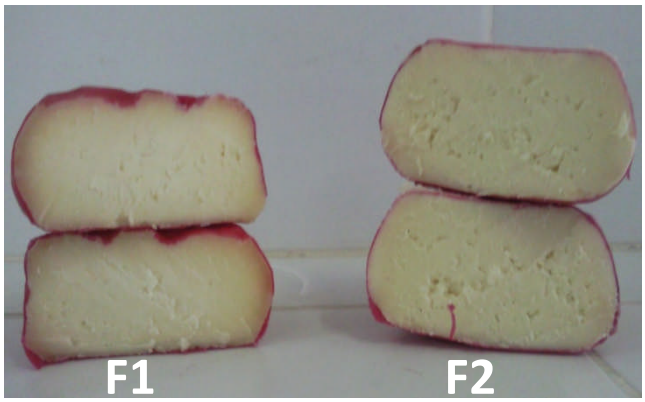


Figure 3 : aspect interne des boules de fromage.

F1= fromage obtenu à partir de la présure animale ; F2= fromage obtenu à partir de la pepsine bovine adulte.

II-5-Rendement fromager

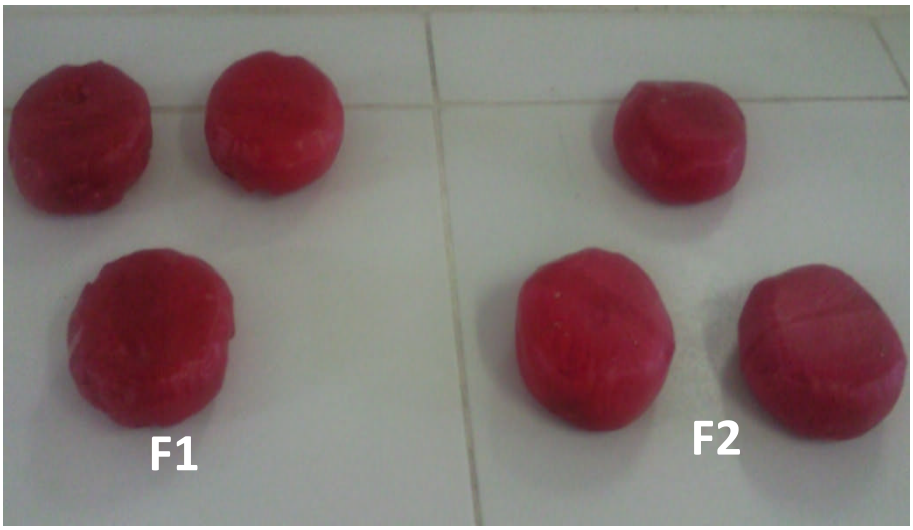
Le rendement fromager est une des données les plus importantes en fromagerie. En effet, la quantité du fromage généralement obtenu est faible par rapport à la quantité du lait mise en œuvre. (ST-GELAIS et *al.*, 2002).

Dans notre fabrication, en partant de 6 litre de lait utilisé pour chaque fabrication, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Présure animale : Nous avons obtenu 541.5 g de fromage répartis en 3 boules (**Figure 4**) de : 173.5 g, 185.8 g, 182.2 g, avec un rendement R de 9.02 %
- Pepsine bovine adulte : Nous avons obtenu 571 g de fromage répartis en 3 boules (**Figure 4**) de : 163.8 g, 197.9 g, 209.3 g, avec un rendement R de 9.51 %

Au vu des différents résultats obtenus, nous constatons que l'utilisation de la pepsine bovine adulte a permis un gain de fromage de 29.5 g.

Nos résultats sont proches aux normes énoncées par EVETTE en 1975 et par BRULE et *al.*,(2003), comprise entre 10 à 11%. La légère diminution du rendement noté avec le fromage de présure animale, pourrait être expliquée par le non maitrise de certaines étapes de fabrication à savoir l'étape d'égouttage rendu difficile par le matériel utilisé conséquente de la perte de quelques grains de caillé. Toute fois l'essai de fabrication à été mené avec succès à l'échelle laboratoire



F1= Fromage de la présure animale ; **F2**= Fromage de la pepsine bovine adulte.

Figure 4 : Boules de fromage EDAM obtenus au cours de nos essais après paraffinage

Conclusion

Conclusion

L'étude comparative de l'utilisation de la pepsine bovine adulte et de la présure animale comme coagulant du lait dans la fabrication d'un fromage à pâte pressée non cuite type EDAM a été réalisée avec succès à l'échelle laboratoire en suivant plusieurs étapes :

Dans un premier temps nous avons ajusté les dilutions auxquelles ces derniers conduiraient à un même temps de prise compris entre 5 - 10 minutes. Temps généralement préconisé lors du procédés de fabrication fromagère à l'échelle industrielle, afin d'arriver à des produits fromagers comparables.

Dans un deuxième temps, nous avons effectué deux fabrications fromagères à l'échelle expérimentale :

- La première fabrication a été réalisée en utilisant la présure animale commerciale comme enzyme de référence.
- La deuxième fabrication a été réalisée en utilisant un extrait concentré de pepsine bovine adulte.

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

L'essai de fabrication de fromage à partir du lait cru ; coagulés avec l'extrait concentré de pepsine de bovin adulte à permis l'obtention de produits dont la qualité microbiologique, physico-chimique et organoleptique, se rapprochait assez de celle du fromage type EDAM fait avec de la présure commerciale d'origine animale.

L'évaluation du rendement fromager à conduit à un bon rendement avec le formage fait à base de l'extrait concentré de pepsine de bovin adulte. En effet, le fromage fabriqué en utilisant la pepsine bovine adulte a donné un rendement de 9.51% contre un rendement de 9.02% pour le fromage fabriqué à partir de la présure animale commerciale.

L'apport de cette étude est non négligeable, car les résultats obtenus mettent en évidence la possibilité d'utilisation de la pepsine bovine adulte dans la fabrication de fromage à pâte pressée non cuite Type EDAM.

.

En perspective, il serait nécessaire de compléter ce travail par :

-Des essais complémentaires, associés à une analyse statistique et pourquoi pas à l'échelle industrielle, avec un extrait purifié de pepsine bovine adulte pour juger avec plus de précisions son apport et son rôle dans le développement des caractères organoleptiques et le rendement fromager

-Suivi de l'activité protéolytique lors de l'étape d'affinage des fromages.

-La réalisation d'essais de fabrication avec un mélange approprié de pepsine bovine adulte et de présure animale.

A travers la présentation des résultats de ce travail, il est espéré que ce type de fromage à pâte pressée non cuite type EDAM fabriqué avec l'extrait de pepsine de bovin adulte , puissent générer un intérêt suffisant pour mériter plus d'efforts de recherches nécessaires à sa caractérisation fondamentale complète, qui sans doute va aider au développement de l'utilisation du coagulant pepsine extrait de caillettes de bovins adultes, en Algérie.

Il ressort de cette étude que la pepsine bovine peut être un succédané à même d'être utilisé avec succès pour la fabrication de fromage à pâte pressée non cuite type EDAM

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIES

ALAIS C, 1974. In: Le fromage, ECK A. (1997). 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 891 p.

ALAIS C. 1984. Science du lait. Principes des techniques laitières, Edi, Sepaic., 68 p.

BERRIDGE (1945)

BOUDIER G.F., 1974. Présure et succédanés de présure. Edition Technique & Documentation, APRIA, France, 74 p.

BREWER P., HELBIG N. et HAAARD N.D., 1984. In: Le fromage, ECK A. (1997). 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 891 p.

BRULE G, LENOIR J, REMEUF R. 1990. La micelle et la coagulation du lait. In ECK : le fromage de la science à l'assurance de la qualité. 3ed. Ed, Technique de documentation.

BRULE G. et LENOIR J., 1987. Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. In : Fromage. Edi. Lavoisier, Paris (France) pp 1 – 21.

CHOISY C., DESMAZEAUD M., GRIPON J.C., LAMBERE G., LENOIR J., TOURNEUR C., 1987. Les phénomènes microbiologiques et enzymatiques et la biochimie de l'affinage in : Le fromage. Edi. Lavoisier, Paris (France), pp. 62- 99.

COGITORE A., 1978. In : biotechnologie, SCRIBAN R. (1995) 5e édition technique & Documentation, Lavoisier, Paris, 1042 p.

COLLIN J C, GRAPPIN R, LEGAET Y. 1977. Etude de la méthode de mesure Berridge, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. Revenue laitière française, N° 355., pp. 389 – 394.

DESMASEAUD M., SPINNLER E., 1997. Lait et produits laitiers. In. Enzymes en agroalimentaires. Edi. Lavoisier, Paris.

ECK A., 1990. Le fromage. 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 539 p.

ECK A., 1997. Le fromage. 3e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, pp : 165 -168.

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.

EL ABASSI, 1987. BTAWAY D., 1987 et RIFFAT A., 1970. In: Le fromage, ECK A. (1997). 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 891 p.

EVETTE., 1975. In : BOUTICHE S., KHEROUF L., 2004. production et application d'une enzyme végétale coagulante extraite des grains de citouilles (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 des technologies HOUARI Boumediene, 84 p.

FAO., 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. N° 28. Rome, F.A.O., 271 p.

FOLTMANN B, VIBEKE BARKOHOLT P, KAUFFMAN D, WYBRANDT G. 1979. The primary structure of calf chymosin. The journal of biological chimestry, Vol. 254, N° 17., pp 8447 – 8456.

GARNIER J, MUCQUOT G, RIBADEAU S B, MAUBOIS J B.1968 : Coagulation du lait par la présure. Ann. Nutr. Alim, Vol. 22., 495 – 501.

GOURSAUD J., 1999. Réacteurs traditionnels à enzymes libres : cas de l'industrie laitière. In : biotechnologies. Edi. Coord. SCRIBAN R., pp. 365 – 401.

GRIPON J.C., 1985. In : Le fromage, ECK A. (1997). 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 891 p.

GUIRAUD J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD, 62 p.

HEIMGARNER U., PEITRZAK M., GEERISEN R., BRODELIUS P., DA SILVA FIGUREDO A.C. et PAIS M.S.S., 1990. In: Le fromage, ECK A. (1997). 2e édition technique & documentation, Lavoisier, Paris, 891 p.

INRA, 1988. Le lait : matiére première de l'industrie laitiére. Edition CEPIL, Paris, 236 p.

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 : l'arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 du JORA N°35. Analyses bactériologiques du lait et des produits laitiers.

LE JAOUEN J.C., 1977. La fabrication du fromage de chevre fermier. Edi. ITOVIC et Société de presse et d'édition ovine et caprine. Paris (France), 217 p.

LEDERER J., 1977. Encyclopédie moderne de l'hygiéne alimentataire. Tome II : Hygiéne des aliments. NAUWELAERTS, Paris, pp. 241 – 242.

LENOIR J., 1985. In : biotechnologie, SCRIBAN R. (1999). 5e édition technique & Documentation, Lavoisier, Paris, 1042 p.

LUQUET F.M., 1985. Laits et produits laitiers : vaches, brebis, chèvres. Transformations et technologies : tome 2. Edition technique & Documentation, Lavoisier, 633 p.

LUQUET F.M., 1990. Lait et produits laitiers Vache, Brebis, Chevre, Tome II : Les produits laitiers, transformation et technologie. TEC & DOC, Paris, pages : 170, 181,217.

MAHAUT M., JEANTET R., BRULE G., 2003. Initiation de la technologie. Edi. Lavoisier, Paris (France), 194 p.

MIETTON., DERMAZEAUD M., DERNOISSART H. et WEBER F ., 1994. Transformation du lait en fromage. In : bactéries lactiques. Edi. Lorica, T2, pp. 55 – 780.

MORSLI A., 1996. Recherches sur les activités protéasiques des extraits de *Cynara scolymus*, du latex de *ficus carica* et du proventricule de *gallus gallus* en vue de leur utilisation en technologie fromagère. Thèse de Magister. INA/ EL HARRACH, 181 P.

RAMET J. P., 1997. Les agents de transformation du lait. In : le fromage. Edi. Lavoisier, Paris (France), pp. 165 – 174.

ST-GELAIS D, TIRARD-COLLET P., 2002. Fromage In : Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales POLYTHECHNIQUE, Montréal, pages : 349 à 357, 364, 368, 369, 402.

TSOULI J., 1979. Etude d'une protéase coagulante extraite de *cyanara scolymus* et de *cyanara cardunculus*, adaptation de la méthode conductimétrique pour la détérmination du temps de coagulation du lait et le contrôle du fabrication, Doctorat es-sci, univ. C. Bernard, Lyon, pp. 1 - 62.

VALLES E et FURET J.P.,1977. Etude des caillettes des bovins à l'etat ruminants pour l'obtention d'extrait coagulant à base de pepsine bovine. I- méthode d'extraction. Le lait, 569 – 570 p.

VANDEWEGHE J., 1997. Le rendement en fromage : prédétérmination et mesure. In. Le fromage. ECK, de la science à l'assurance qualité. Edition technique & documentation, Lavoisier, pp. 791 – 801.

VEISSEYERE, 1975. Technologie du lait. Récolte, traitement et transformation du lait, pays Indus. Aliment. et Agri. Vol.116.N° 6, pp.19 – 26.

VEISSEYRE R., 1979. Technologie du lait. 3e édition La Maison Rustique, Paris, 713 p.

VIGNOLA C-L., 2002. Science et technologie du lait : transformation du lait. Edi. P.I.P., Québec (Canada), 600 p.

WEBER F., 1987. Egouttage du coagulum. In: le fromage (ECK A.). Edi. Lavoisier, Paris (France), pp.22 – 36.

Annexes

Annexe 1

Réactif pour analyses physico-chimique

-l’hydroxyde de sodium N/9

-phénolphtaléine 1% solution alcoolique

-Acide sulfurique N/2

-Alcool iso-amylique

- solution de l’EDTA 0.1%

-Eau distillée

-Potasse alcoolique N/2

-Nitrate d’argent N/10

Annexe 2

Milieux de culture et réactifs pour les analyses bactériologiques

-Gélose Plat Count Agar (PCA)

-Gélose Baird Parker

-Solution de jaune d'œuf au tellurite de potassium

-Gélose viande foie(VF)

-Gélose Hecktoen

-Gélose désoychlorate

-Bouillon lactosé mannitol tamponné (BLMT)

-Bouillon lactosé au bromocrésol pourpre(BCPL)

-Bouillon sélectif au sélénite de sodium et cystéine (SFB)

-Milieu de Roth

-Milieu Litsky -Milieu gélosé

Annexe 3 : Méthode d'extraction de la pepsine bovine à l'état ruminant selon VALLES et FURET. (1977)

L'extraction de la pepsine bovine à partir des caillettes de bovins adultes est réalisée selon la méthode décrite par Valles et Furet (1977) dont les principales étapes présentées par la Figure2 sont :

II-2-2-1 la Macération

Les échantillons sont d'abord décongelés à -4°C pendant une nuit puis hachés et pesés : PU (g) et macérés dans une solution de HCl 0,2M de volume (1,25xPU) dans un bain de Marie à 42°C pendant une heure .Le mélange obtenu et par la suite macéré puis filtré sur gaz permettant ainsi l'obtention d'un extrait total brut et trouble de pepsine bovine.

II-2-2-3Clarification

Après la macération l'extrait brut obtenu est clarifié par ajout de 1% du volume macéré (V/V) d'une solution de sulfate d'aluminium $Al_2(SO_4)_3 18H_2O$ 1M et 5% (V/V) d'une solution de sulfate dissodique Na_2SO_4 1M chauffée à 42°C. Après agitation et quelques minutes de repos à 42°C, on procède à une centrifugation de 3000 tours/min pendant 10 min à 4°C conduisant à un extrait clarifié jaune plus ou moins limpide.

II- 2-2-4 Concentration des extraits clarifiés

A un poids donné de macération clarifiée, on ajoutait deux fois son poids d'une solution saturée de NaCI qui contenait 1 p. 100 *(p/p)* d'acide chlorhydrique concentré d = 1,19.Une fois le mélange agité et laissé en repos pendant 1 h. On centrifugeait à 2100 g pendant 20 mn et à 4°C. Le surnageant est par la suite rejeté et on notait le poids du précipité humide repris dans une quantité déterminée d'eau distillée. le pH des extraits clarifiés obtenus et par la suite ajusté à 5,30 avec une solution de phosphate disodique 1M (chauffée vers 42° C).

Annexe 4

INFORMATION PRODUIT

RENIDAN 95/5

Force 1/125.000

REFERENCE: DANIMEX 11-02-01

DESCRIPTION: Présure en poudre d'une pureté exceptionnelle extraite du quatrième estomac de jeunes bovidés, et standardisée à une teneur de 95% de chymosine active.

ANALYSE CHIMIQUE:

Force coagulante	1:125.000
Chymosine %	95 (+/-3)
Pepsine %	5 (+/-3)
Arsenic	< 3 ppm
Métaux lourds	< 40 ppm
Plomb	< 10 ppm

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE:

Germes totaux	< 1000/gr.
Moisissures	< 50/gr.
Lactobacilli	< 50/gr.
Salmonella	Absent en 25 gr.
Listeria	Absent en 20 gr.
Coliformes	Absent en 5 gr.
Staphylococcies	Absent en 1 gr.

PRESENTATION: Poudre blanche claire avec une odeur faible de présure.

UTILISATION: Tous types de fromages.

DOSAGE: La force coagulante de RENIDAN 95/5 a été standardisée à 1:125.000.

Or, la coagulation est sujette à des influences telles que variations saisonnières de la qualité du lait, pH, variations de l'acidité, l'addition d chlorure de calcium et la présence d'agents inhibiteurs dans le lait.

Ainsi la dose d'emploi préconisée est de 2,5 gr. pour 125 litres de lait entier.

Annexe 5

Mode de préparation du substrat de Berridge (COLLIN *et al*., 1977).

Le substrat de Berridge, est obtenu par reconstitution de 12 grammes de poudre de lait écrémé (Low-heat) dans une solution de chlorure de calcium à 0,01 mole/l. Après une agitation non violente en vue d'éviter la formation de mousse, et un repos de 30 minutes à l'obscurité ; le substrat de pH égal à 6,4 est prêt à l'emploi (COLLIN *et al*., 1977).

Annexe 6

Principe du Gélographe (Réf I.S.O.)

Le gélographe est un appareil qui permet la mesure de l'évolution de la coagulation du lait ou des produits à base de gélifiant. Il offre les avantages suivants :

- Mesure non destructive des structures du gel
- Sensibilité et reproductibilité excellente
- Grande fiabilité
- Surveillance pratique inutile
- Mesure possible aussi bien sur prélèvement de 10, 50 ml qu'en cuve de fabrication.
- Détermination de la fermeté du caillé
- Mesure du temps de coagulation

Il est aussi convenable dans la détermination du point optimum de tranchage du coagulum durant la fabrication fromagerie.

- Principe

Un électro-aimant mobile, soumis à une tension alternative anime l'aiguille de la sonde de mesure d'un mouvement d'oscillation de part et d'autre en 1/30 de seconde et sur une distance d'environ 0,5 mm, après une oscillation, la sonde de mesure n'est plus entraînée par l'électro-aimant pendant un "temps de pause" que l'on peut régler de 2 à 120 secondes.

Au début de ce temps de pause, le mouvement de l'aiguille dû à la réaction du milieu à l'oscillation, crée dans une bobine électrique une tension induite qui est proportionnelle à la fermeté.Cette tension, est amplifiée et convertie dans un bloc de mesure, puis affichée sur un écran en unité spécifique du gélographe : le milligel (m.G).

Suite Annexe 6

- Condition de l’expérience

Nous avons choisi d’effectuer l’analyse sur un échantillon de lait (substrat BERRIDJE et du lait cru) de 50 ml ou de plonger la sonde de mesure directement dans la cuve de fabrication.

Les mesures sont faites à 35°C avec 5 ml de l’extrait enzymatique. Le temps d’arrêt de l’aiguille entre deux oscillations est fixé à 20 secondes afin de permettre au caillé de retrouver ses propriétés.

- Pleine échelle = 1000 m.G
- Amplification = 4 décades

Annexe 7

Analyses physicochimique

Lait cru

- **Mesure du PH**

-**principe :** la mesure du ph se fait directement à l'aide d'un PH mètre.

-**mode opératoire :** on introduit directement l'électrode du PH mètre dans un bécher contenant le lait et la valeur du PH est lue directement sur le PH mètre

- **Mesure de la densité (D)**

-**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

-**mode opératoire :** le lait est verse doucement dans une éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse. Remplir l'éprouvette jusqu'en haut de manière à ce le lait déborde légèrement lors d'introduction du lactodensimètre qui est muni d'un thermomètre.

Attendre 5 a10 minutes et lire la température et la densité brute au sommet du ménisque.

$$\mathbf{D}=°D+0.25\ (15+T)$$

°**D** est la densité lue sur le lactodensimètre.

T est la température.

- **Détermination de l'acidité titrable**

-**principe :** titrage de l'acide lactique par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine 1% comme indicateur de PH.

-**mode opératoire :** dans un bécher on introduit 10ml de lait, on ajoute quelque goutte de phénolphtaléine puis on titre par la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à virage de la couleur du blanc à la rose pale.

Acidité titrable (°D)=chute de burette.

1°D=0.1g d'acide lactique.

Suite Annexe 7

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

-**principe :** cette méthode est basée sur l'évaporation de l'eau d'une quantité donnée de lait placée dans un dessiccateur.

-**mode opératoire :** une capsule préalablement pesé renferment une quantité donnée 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)**

-principe : elle base sur la dissolution des protéines par l'addition de l'acide sulfurique.la séparation de la matière grasse par centrifugation est favorisée par l'addition de l'alcool.

-mode opératoire :on introduit dans un butyromètre à lait 10ml d'acide sulfurique puis à l'aide d'une pipette ,on ajoute 11ml de lait et 1ml d'alcool iso amylique, on ferme le butyromètre et on procède a une agitation. On centrifuge à 1100 tours par minute pendant 5 à 10 et La lecture se fait directement sur le butyromètre

- **Détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD)**

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

ESD=EST-MG

L'eau de reconstitution

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

- **Détermination du titre alcalimétrique (TA)**

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

Suite Annexe 7

-**Mode opératoire** :

Dans un Becher, on introduit 50ml d'eau à analyser, on ajoute 3 gouttes de phénolphtaléine. On titre le mélange avec une solution d'acide sulfurique jusqu'à la disparition de la couleur rose.

TA (°F)=V1*5*10

1V : volume de l'acide sulfurique utilisé pour le titrage.

°**F** degré français

- **Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC)**

-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 obtenue par la même formule.

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

- **Détermination du titre hydrométrique (TH)**

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

-mode opératoire : pour 100ml d'eau, on ajoute 12 gouttes de l'indicateur NET et 5ml de solution tampon ammoniacal, on titre avec l'EDTA jusqu'à virage de la couleur du violet au bleu.

TH (°F)=volume de chute de burette.

Suite Annexe 7

- **Dosage de chlorure (Cl)**

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

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

Cl=35.5 (N-B)

N est le volume de nitrate d'argent ayant servi au titrage.

B est le volume de nitrate d'argent nécessaire pour obtenir la même teinte avec un même volume d'eau distillée.
35.5 : masse molaire du chlore.

Annexe 8

Analyses bactériologique

Préparation des échantillons

- 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.

- 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}

- 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.

Suite Annexe 8

I-Recherche et dénombrement des bactéries

- **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 boite de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée. Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45±1°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 boites 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 boites en tenant compte des facteurs suivants :

- ne dénombrer que les boites 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 totaux et fécaux**

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

Suite Annexe 8

Compléter ensuite chaque boite avec environ 20 ml de gélose au Désoychlorate fondue puis refroidie à 45±1 °C. Mélanger toujours.

• une série de boites 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 ce 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 des Salmonelles**

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 incuber 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 gélose Hecktoen est incubé à 37°C pendant 24 h.

Suite Annexe 8

Jour 4 : Lecture des boites 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 boites de pétri à raison de 15 à 18 ml par boite. Laisser solidifier les boites sur paillasse, 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 boite contenant le milieu de Baird Parker puis étaler à l'aide d'un étaloir (pipette Pasteur). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture :

Seront considérées comme positives, les boites 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.

Suite Annexe 8

- **Recherche des clostridies sulfito-réductrices (CSR)**

Préparation du milieu :

Faire fondre un flacon de gélose viande foie, laisser refroidir à 45°C,puis préparer une série de 3 tubes,2tubes avec 5ml de la dilution décimale 10^{-1} et un tube avec 1ml de la même dilution et compléter avec 5ml de l'eau distillée stérile, porter ces 3 tubes au bain marie à 80°C pendant 10 minutes, puis les refroidir à l'eau courante ;ajouter environ 15ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes. Ces tubes seront incubes 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 poussée en masse avec un diamètre supérieur à 0.5mm ; effectuer aussi une identification biochimique.

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

Annexe 9 Fiche de dégustation

L**AITERIE FROMAGERIE DE BOUDOUAOU**

DEPARTEMENT ANALYSES ET

CONTROLES DE QUALITES

BOUDOUAOU, LE…….

FICHE DE DEGUSTATION

NOM :……..

PRENOM :……..

FONCTION :……..

NATURE DU PRODUIT :…….

NOTATION :…….

PARAMETRES	**NOTATIONS**	**FROMAGE**
Goût	**00-03**	
Odeur	**00-02**	
Couleur	**00-02**	
Consistance	**00-04**	
Total	**/10**	**/10**

Observation et suggestions : ……..

…….

SIGNATURE DU DEGUSTATEUR

Résumé :

Dans cette étude, nous nous sommes proposé d'effectuer un essai comparative à l'échelle laboratoire de fabrication d'un formage pressé à pate non cuite type EDAM par l'utilisation d'un extrait coagulant concentré de pepsine bovine à l'état ruminant et une présure commerciale d'origine animale. Al'issu des résultats obtenus et qui sont très encourageant, il ressort:

-Une qualité microbiologique, physico-chimique et organoleptique, proche de celle du fromage type EDAM fait avec de la présure commerciale d'origine animale

-Un rendement fromager presque comparable des fromages fabriqués mais qui reste conditionné par la maitrise du processus de fabrication.De tels résultats, mettent en évidence la possibilité d'utilisation de la pepsine bovine adulte dans la fabrication de fromage à pâte pressée non cuite Type EDAME.

Mots clés :Fromage à pâte pressée non cuite type EDAM ; pepsine bovine ; fromage.

Abstract:

In this study, we proposed to conduct a comparative test at a laboratory scale manufacturing of forming a pressed uncooked dough EDAM type by using an extract of bovine pepsin coagulant concentrate on the ruminating state and commercial rennet of animal origin.At the end results are very encouraging and show:
-A microbiological, physico-chemical and organoleptic close to that kind EDAM cheese made with commercial rennet of animal origin
-An almost-cheese yield comparable cheeses but still conditioned by the mastery of the manufacturing process. These results highlight the potential use of adult bovine pepsin in the manufacture of pressed cheese uncooked Edam type.

Keywords: cheese uncooked pressed type EDAM; pepsin bovine, cheese.

ملخص:

في هذه الدراسة اقترحنا اجراء تجربة مقارنة على مستوى المخبر باستعمال مستخلص مخثر مركز من بيبسين الأبقار المجترة مع المنفحة الحيوانية التجارية في صناعة الأجبان من أصل عجينة منزوعة الماء وغير مطبوخة من طراز " إدام " وتوصلنا من خلال النتائج المتحصل عليها والمشجعة للغاية إلى:

- أن الخصائص البكتيريولوجية والفيزوكيميائية للجبن المتحصل عليه مماثلة لتلك التي تحصلنا عليها من خلال استعمال المخثر من أصل حيواني.

- أن مردود الأجبان المتحصل عليها بعد استخدام كلا الأنزيمين متقارب نوعاما، ولكن يبقى هذا مشروطا بالتحكم في مراحل التصنيع. إذا، هذه النتائج تسلط الضوء على امكانية استخدام بيبسين الأبقار المجترة في صناعة الأجبان من أصل عجينة منزوعة الماء وغير مطبوخة.

الكلمات المفتاحية: جبن من أصل عجينة منزوعة الماء و غير مطبوخة من طراز " إدام "- بيبسين الأبقار- الجبن.