

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur

et de la recherche scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem



وزارة التعليم العالي  
و البحث العلمي  
جامعة عبد الحميد ابن باديس  
مستغانم

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Laboratoire : Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN)

THÈSE de DOCTORAT 3<sup>ème</sup> CYCLE LMD en Sciences Agronomiques

Option : Science et Technologie Alimentaire

## Intitulé : Essais d'optimisation des procédés de fabrication des fromages traditionnels de qualité (*J'ben*)

Présenté par : Mme AMIMOUR Meryem ep. ALIOUA

Soutenue publiquement le : / / 2019

Devant le jury :

Mme GHOUGRANI Fadela,	Professeur	Université de Mostaganem	Présidente
Mr CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	Université de Mostaganem	Encadreur
Mr IDOUI Tayeb	Professeur	Université de Jijel	Co-Encadreur
Mr BOUDEROUA Kaddour	Professeur	Ecole Supérieure d'Agronomie à Mostaganem	Examineur
Mr AIT SAADA Djamel	Maitre de conférences classe A	Université de Mostaganem	Examineur

Laboratoire de recherche de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) Université Abdelhamid IBN  
BADIS à Mostaganem

Laboratoire de microbiologie Université Mohamed Saddik BEN YAHYA à Jijel.

Année universitaire : 2019 /2020

# **REMERCIEMENTS**

## REMERCIEMENTS

*Je remercie en premier lieu le Clément Miséricordieux de m'avoir donnée le courage, la volonté et de m'avoir éclairée la voie pour aboutir à cette fin fructueuse.*

*Cette thèse m'a donnée l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Si un travail de thèse est porté par une seule personne, c'est aussi et surtout le fruit de rencontres, de soutien, d'entraides et de collaborations avec de nombreuses personnes. Je désire adresser de profonds remerciements à tous ceux qui m'ont accompagnés et soutenue jusqu'ici.*

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier :*

*Mon encadreur de thèse monsieur CHERIGUENE Abderrahim, Professeur à l'université de Mostaganem, qui m'a ouvert les portes et m'a généreusement accueilli au sein de son unité de recherche, pour la confiance qu'il m'a témoignée en acceptant la direction scientifique de mes travaux. Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, et de son efficacité certaine que je n'oublierai jamais.*

*Monsieur IDOUI Tayeb, Professeur à l'université de Jijel, pour avoir accepté de co-encadrer ce travail. Je lui suis très reconnaissante de me permettre de travailler au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Jijel. C'est grâce à son aide, ses conseils et ses recommandations pertinentes ainsi que sa gentillesse que j'ai pu mener à bien ce modeste travail. Soyez assuré de ma profonde gratitude.*

*Mes remerciements s'adressent aux membres de jury, qui ont accepté de faire partie du jury d'évaluation de cette thèse :*

*Madame CHOUGRANI Fadela, Professeur à l'université de Mostaganem, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de thèse. Je tiens à l'assurer de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'elle porte à ce travail.*

*Monsieur BOUDEROUA Kaddour, professeur à l'Ecole Supérieure d'Agronomie à Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait pour sa participation à mon jury de thèse en qualité de rapporteur de mon travail, pour le temps consacré à la lecture de cette thèse, et pour les suggestions et les remarques judicieuses qu'il m'a indiquées.*

*Monsieur AIT SAADA Djamel, maitre de conférence classe A à l'université de Mostaganem, pour sa participation à mon jury de thèse en qualité de rapporteur de mon travail ainsi que pour les commentaires m'ayant permis de l'améliorer.*

*Mes remerciements s'adressent également à monsieur BENMILOUD Djamel, enseignant à l'université de Mostaganem, pour son aide et ses conseils pertinents tout au long de ce travail sans oublier les innombrables services qu'il m'a toujours rendus, ainsi que pour sa gentillesse.*

*Enfin, mes remerciements vont aussi à tous les enseignants et collègues de L'université de Mostaganem, au personnel technique et au personnel administratif ainsi qu'à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*

# **DEDICACES**

## **DEDICACES**

*Je dédie ce modeste travail*

*A la mémoire de mon regretté père qui a tant voulu me voir réussir.*

***A ma grande famille***

*Ma très chère mère, mes très chers frères et ma très chère sœur qui m'ont accompagnée le long de la réalisation de ce travail par leurs prières et leurs grands souhaits pour un bon et un joyeux couronnement. Que dieu vous bénisse, vous protège, vous accorde sa grâce et vous guide dans le droit chemin.*

***A ma petite famille***

*Mon très cher mari qui a bien su me supporter, me soutenir et m'aider jusqu'à la mise du point final. Mon fils Moundir Rassim la joie de ma vie. Soyez en remerciés éternellement.*

*A tous ceux qui me sont chers*

# RESUME

## Résumé

Notre étude a pour but le développement d'une méthode optimisée pour le procédé de fabrication du fromage traditionnel algérien *J'ben*. A cette fin, nous avons commencé par une étude comparative de la qualité physicochimique et sensorielle des échantillons de fromage de fermes et des échantillons préparés expérimentalement au laboratoire. L'ensemble de caractéristiques physicochimiques (pH, acidité, matière sèche, humidité, matière minérale et matière grasse) et sensorielles (croûte, texture, odeur, arôme, saveur et sensations) déterminées a montré que les échantillons de fromage issus des fabrications contrôlées (20 fabrications) sont plus acceptables par le jury de dégustation et possèdent une qualité meilleure en comparaison avec ceux provenant de fabrications fermières (5 échantillons témoins). Ceci nous a permis de valider la méthode de fabrication traditionnelle du fromage *J'ben* adoptée dans notre expérimentation. La caractérisation de la pepsine, enzyme extraite à partir de proventricule de poulet nous a permis d'assurer son utilisation comme substitut de présure en industrie fromagère. Sur le plan biochimique, les caractéristiques de cet enzyme et de son gel correspondant ont été étudiées en se référant à la présure industrielle. L'extrait brut de pepsine de poulet obtenue possède une activité coagulante (UAC mL<sup>-1</sup>) égale à 3.06, une force coagulante (US) égale à 1638 et une activité protéolytique (µg mL<sup>-1</sup>) égale à 6.36. Afin de développer la méthode objective de fabrication du fromage *J'ben*, plusieurs facteurs ont été étudiés et un schéma statistique de Plackett-Burman a été appliqué. Les effets des quatre facteurs sélectionnés (enrichissement au lait en poudre; pH du lait, dose d'extrait enzymatique et température d'emprésurage) sur la réponse (rendement fromager) ont été étudiés, en utilisant un modèle statistique de Box-Behnken. Une analyse de régression multiple a été utilisée pour que les données expérimentales correspondent à une équation polynomiale du second ordre. Cette analyse a montré que le modèle explique environ 90,73% de la variation. Les paramètres optimaux de production qui maximisaient la production du fromage (enrichissement de 20g/L avec du lait en poudre, 5,75 pH du lait, 1,29mL d'extrait enzymatique et une température d'emprésurage à 60°C) et le rendement prévu maximal du fromage (52,68%) étaient découverts par la méthodologie pour surface de réponse. Dans ces conditions, une expérience de vérification a été réalisée et le rendement fromager s'est révélé être de 49,46%. Le pourcentage global de concordance entre les résultats expérimentaux et les valeurs prédites (validité supérieure à 93%) indique la validation du modèle statistique et le succès du processus d'optimisation. La caractérisation physicochimique et sensorielle des échantillons de fromage ainsi préparés tout au long de l'étude d'optimisation a confirmé la réussite de la méthode d'optimisation envisagée.

**Mots clés :** Fabrication, optimisation, qualité, fromage, *J'ben*.

## Abstract

The purpose of this study is to develop an optimized method for the manufacture process of traditional Algerian *J'ben* cheese. To this end, we began with a comparative study of physicochemical and sensory quality of farm cheese samples and samples prepared experimentally at laboratory. The set of physicochemical characteristics (pH, acidity, dry matter, moisture, mineral matter and fat) and sensory characteristics (crust, texture, smell, aroma, flavor and sensations) showed that cheese samples from controlled fabrications (20 fabrications) are more acceptable by the tasting panel and have a better quality when compared to those from farmhouse production (5 control samples). This allowed us to validate the traditional method of *J'ben* cheese manufacturing adopted in our experiment. The characterization of pepsin enzyme extracted from chicken proventriculus allowed us to ensure its use as a rennet substitute in cheese industry. On the biochemical level, characteristics of this enzyme and its corresponding gel were studied with reference to industrial rennet. The chicken pepsin crude extract obtained has a coagulant activity (UAC mL<sup>-1</sup>) of 3.06, a coagulant force (US) of 1638 and a proteolytic activity (μg mL<sup>-1</sup>) of 6.36. In order to develop the objective method of manufacturing traditional *J'ben* cheese, several factors have been studied and a Plackett-Burman statistical design was applied. The effects of the four screened factors (enrichment with milk powder; pH of milk, enzymatic extract dose and coagulation temperature) on the response (cheese yield) were investigated, using a Box-Behnken statistical design. Multiple regression analysis was used so that experimental data fits to a second-order polynomial equation. This multiple analysis showed that the model explains about 90.73% of the variation. The optimal production parameters that maximized cheese product (20 g/L enrichment with milk powder, 5.75 pH of milk, 1.29 mL enzymatic extract dose and 60°C coagulation temperature) and the maximal predicted cheese yield (52.68%) were found out through response surface methodology. Under these conditions, a verification experiment was carried out and cheese yield was found to be 49.46%. The overall percentage of agreement for the experimental results (more than 93% validity) with the predicted values indicates the validation of the statistical model and the success of the optimization process. The physicochemical and sensory characterization of cheese samples thus prepared throughout the optimization study confirmed the success of envisaged optimization method.

**Key words:** Manufacture, optimization, quality, cheese, *J'ben*.



## ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير طريقة ل تحسين عملية تصنيع الجبن الجزائري التقليدي « جبن ». ولتحقيق هذه الغاية، قمنا بداية ب دراسة الجودة الفيزيوكيميائية والحسية لعينات جبن مأخوذة من المزرعة مقارنة بالعينات المعدة تجريبيا في المختبر. أظهرت نتائج الخصائص الفيزيوكيميائية (الرقم الهيدروجيني ، الحموضة ، المادة الجافة ، الرطوبة ، المواد المعدنية والدهون) والحسية (القشرة ، الملمس ، الرائحة ، النكهة والأحاسيس) أن عينات الجبن المعدة تجريبيا (20 عينة) مقبولة أكثر من قبل لوحة التذوق وذات جودة أحسن مقارنة مع تلك التي أخذت من المزرعة (5 عينات مراقب). هذه الدراسة سمحت لنا بالتحقق من صحة الطريقة التقليدية التي اعتمدناها في تجربتنا لصنع الجبن التقليدي « جبن ». سمحت لنا دراسة إنزيم البيبسين المستخلص من المعدة الكيميائية (proventricules) للدجاج بضمان استخدامه كبديل لروبة العجل (présure) في صناعة الجبن. على المستوى الكيميائي الحيوي ، تمت دراسة خصائص هذا الإنزيم وهلامه الناتج مقارنة مع الخاصة بالمجبنة الصناعية (روبة العجل). يحتوي المستخلص الخام لبيبسين الدجاج على نشاط تخثر (UAC mL-1) يساوي 3.06 ، وقوة تخثر (US) تساوي 1638 ونشاط تحلل البروتين ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) يساوي 6.36. تمت دراسة عدة عوامل تؤثر على عملية صنع الجبن التقليدي « جبن » بتطبيق النموذج الإحصائي Plackett-Burman. العوامل الأربعة المختارة من الدراسة السابقة (الاثراء بمسحوق الحليب ، درجة حموضة الحليب ، جرعة الإنزيم المستخلص، ودرجة حرارة التثخير) تمت دراسة تأثيرها على الإجابة (إنتاجية الجبن) ، باستخدام نموذج إحصائي Box- Behnken. لقد قمنا باستخدام تحليل تراجع متعدد بحيث تتوافق البيانات التجريبية مع معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية، وقد أظهر هذا التحليل أن النموذج يشرح حوالي 90.73% من التباين. العوامل المثلى التي تزيد من إنتاج الجبن (تخصيب 20 جم / لتر بمسحوق الحليب ، الرقم الهيدروجيني للحليب 5.75 ، 1.29 مل من المستخلص الأنزيمي ودرجة حرارة تنفيح عند 60 درجة مئوية ) بالإضافة إلى إنتاجية الجبن القصوى المتوقعة ( 52.68 %) تمت معرفتها من خلال منهجية سطح الاستجابة (méthodologie pour surface de réponse). في ظل هذه الظروف، بينت التجربة المجراة للتحقق من إنتاجية الجبن أنها بلغت 49.46%. تشير النسبة المئوية الإجمالية للتوافق بين النتائج التجريبية والقيم المتوقعة (صلاحية أكبر من 93 %) إلى التحقق من صحة النموذج الإحصائي ونجاح عملية التحسين. نتاج التحليل الفيزيوكيميائي و الحسي لعينات الجبن التي أعدت طوال دراسة التحسين أكدت نجاح تقنية التحسين المتوخاة.

الكلمات المفتاحية: تصنيع، تحسين، الجودة، الجبن، « جبن » .

# **TABLE DES MATIERES**

# Table des matières

Liste des figures  
Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

## Synthèse bibliographique

<b>1. Définition.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Technologie fromagère.....</b>	<b>5</b>
2.1. Coagulation du lait.....	5
2.1.1. Première voie : coagulation par voie enzymatique .....	5
2.1.2. Deuxième voie : coagulation par voie acide .....	6
2.1.3. Troisième voie : coagulation mixte.....	7
2.2. Egouttage .....	7
2.3. Salage.....	7
2.4. Affinage .....	8
<b>3. Classification des fromages .....</b>	<b>9</b>
<b>4. Qualité des fromages .....</b>	<b>14</b>
4.1. Evaluation de la qualité des fromages .....	16
4.2. Facteurs affectant la qualité des fromages .....	17
4.2.1. Composition chimique du lait .....	19
4.2.2. Composition du fromage.....	19
4.2.3. Maturation du fromage.....	20
4.2.4. Coagulation présure .....	20
4.2.5. Processus de fabrication du fromage .....	21
<b>5. Fromages traditionnels algériens .....</b>	<b>22</b>
5.1. Fabrication traditionnelle du fromage <i>Jben</i> .....	26
5.2. Agents coagulants le lait autochtones utilisés en Algérie.....	28
5.2.1. Agents coagulants d'origine animale .....	28
5.2.2. Agents coagulants d'origine végétale .....	31

**Partie expérimentale**  
**Matériel et méthodes**

<b>1. Echantillonnage et préparation des échantillons.....</b>	<b>32</b>
1.1. Echantillonnage .....	32
1.1.1. Lait utilisé .....	32
1.1.2. Proventricules .....	32
1.1.3. Couches de kaolin .....	33
1.1.4. Caillette d'agneau .....	33
1.1.5. Fleurs de chardon .....	33
1.1.6. Présure de référence .....	33
1.2. Préparation des échantillons .....	33
1.2.1. Fabrication destinée à la caractérisation physicochimique et organoleptique .....	33
1.2.2. Fabrication destinée à l'optimisation .....	34
<b>2. Caractérisation physicochimique et organoleptique du fromage traditionnel <i>Jben</i>....</b>	<b>35</b>
2.1. Etude des caractéristiques du lait cru de vache collecté .....	35
2.2. Caractérisation physicochimique du fromage traditionnel <i>Jben</i> .....	36
2.2.1. Mesure du pH.....	36
2.2.2. Détermination de l'acidité titrable .....	36
2.2.3. Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	37
2.2.4. Détermination de la matière minérale .....	37
2.2.5. Détermination de la matière grasse .....	38
2.2.6. Dosage de l'azote total .....	38
2.3. Détermination du rendement fromager.....	39
2.4. Analyse sensorielle des fromages fabriqués .....	39
2.4.1. Panel de dégustation (sujets).....	40
2.4.2. Déroulement du test .....	40
<b>3. Extraction et caractérisation de l'enzyme coagulant le lait à partir de proventricule de poulet .....</b>	<b>41</b>
3.1. Extraction d'enzyme .....	41
3.2. Calcul du rendement d'extraction.....	42
3.3. Caractéristique de la présure de référence .....	43
3.4. Propriétés coagulantes de l'extrait enzymatique .....	43
3.4.1. Activité coagulante et force coagulante .....	43

3.4.2. Estimation de la dilution coagulante .....	45
3.5. Dosages des protéines.....	45
3.6. Mesure de l'activité spécifique.....	46
3.7. Conditions optimales de coagulation.....	46
3.7.1. Effet du pH sur le temps de floculation .....	46
3.7.2. Effet de la température sur le temps de floculation .....	46
3.7.3. Effet de la concentration en chlorure de calcium (CaCl <sub>2</sub> ) sur le temps de floculation .....	47
3.7.4. Effet de la concentration en enzyme sur le temps de floculation .....	47
3.8. Activité protéolytique .....	47
3.9. Etude de la stabilité enzymatique .....	48
<b>4. Optimisation de la fabrication du fromage traditionnel <i>Jben</i>.....</b>	<b>48</b>
4.1. Etude des facteurs et utilisation du modèle Plackett-Burman (PB).....	49
4.2. Optimisation des facteurs sélectionnés et utilisation du modèle Box-Behnken (BB)...	50
4.3. Validation expérimentale des conditions optimales .....	51
4.4. Analyse des données expérimentales.....	51

## **Résultats et discussion**

<b>1. Caractéristiques physicochimiques du lait cru de vache collecté .....</b>	<b>53</b>
1.1. pH et acidité du lait.....	54
1.2. Densité du lait.....	55
1.3. Matière sèche du lait.....	56
1.4. Matière minérale du lait.....	56
1.5. Lactose du lait.....	57
1.6. Matière grasse du lait.....	57
1.7. Protéines totales du lait.....	58
<b>2. Caractérisation de l'enzyme coagulant le lait extrait à partir de proventricule de poulet .....</b>	<b>59</b>
2.1. Rendement d'extraction.....	59
2.2. Activité coagulante .....	61
2.3. Teneur en protéines de l'extrait enzymatique brut .....	61
2.4. Activité protéolytique .....	62
2.5. Conditions optimales de coagulation.....	64

2.5.1. Effet de la concentration en enzyme sur le temps de floculation .....	64
2.5.2. Effet de la concentration en CaCl <sub>2</sub> sur le temps de floculation.....	66
2.5.3. Effet du pH d'emprésurage sur le temps de floculation .....	67
2.5.4. Effet de la température d'emprésurage sur le temps de floculation.....	69
2.6. Stabilité enzymatique .....	71
2.6.1. Stabilité thermique .....	71
2.6.2. Stabilité vis-à-vis du pH.....	73
<b>3. Optimisation de la fabrication du fromage traditionnel <i>Jben</i>.....</b>	<b>74</b>
3.1. Evaluation des facteurs affectant le rendement fromager.....	74
3.2. Application du modèle Box-Behnken et analyse de données.....	79
3.3. Effets des facteurs.....	86
3.4. Représentations tridimensionnelles et analyse des surfaces de réponses .....	87
3.5. Détermination des conditions optimales et validation expérimentale .....	95
<b>4. Caractérisation physicochimique et organoleptique du fromage traditionnel <i>Jben</i>....</b>	<b>96</b>
4.1. Composition physicochimique .....	96
4.1.1. Rendement fromager.....	98
4.1.2. pH des fromages .....	100
4.1.3. Acidité titrable .....	102
4.1.4. Matière sèche .....	104
4.1.5. Humidité .....	106
4.1.6. Matière minérale .....	108
4.1.7. Matière grasse .....	110
4.1.8. Protéines.....	112
4.2. Analyse sensorielle .....	113
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>117</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>121</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Production scientifique</b>	
<b>Résumé</b>	

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

## Liste des abréviations

TCA	Acide trichloracétique
BSA	Albumine sérique bovine
DSA	Analyse sensorielle descriptive
AFNOR	Association Française de Normalisation
NaHCO <sub>3</sub>	Carbonate de sodium
CMP	Caséino-macropéptide
R <sup>2</sup> ajusté	Coefficient de corrélation
R <sup>2</sup>	Coefficient de détermination
°D	Degré Dornic
d	Densité
FIL	Fédération internationale de laiterie
F	Force coagulante
JFC	<i>Jben</i> issu de fleurs de chardon
JPC	<i>Jben</i> issu de fleurs de chardon
JCS	<i>Jben</i> issu de la caillette séchée
JPE	<i>Jben</i> issu de la caillette séchée
JPB	<i>Jben</i> issu de proventricule de poulet
JPP	<i>Jben</i> issu de proventricule de poulet
JPA	<i>Jben</i> optimisé
JPD	<i>Jben</i> optimisé épicé à la menthe
JPT	<i>Jben</i> prélevé de la ferme
k	Kappa
TAN	Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition
RSM	Méthodologie pour surface de réponse



P.	Pâte
PME	Petites et moyennes entreprise
p.	Pour
MGES	Pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec
TEFD	Pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé
P	Probabilité
Rf	Rendement fromager
UAC	Unité d'activité coagulante
UP	Unité de présure
US	Unité soxhlet

---

# **LISTE DES FIGURES**

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage : (a) protéolyse, (b) lipolyse, (c) métabolisme de lactose, de lactate et de citrate (McSweeney and Sousa 2000)	9
02	Schéma de classification de fromage basée sur la méthode de coagulation (Fox et al. 2000)	13
03	Facteurs affectant la qualité des fromages (Law and Tamime 2010)	18
04	Méthodes de fabrication des principales préparations laitières traditionnelles algériennes (Lahsaoui 2009)	23
05	Schéma de fabrication traditionnelle du fromage <i>Jben</i>	28
06	Méthode traditionnelle de la préparation de la caillette	29
07	(A) Appareil digestif du poulet ; (B) Complexe stomacal du poulet (Larbier and Leclercq 1992)	31
08	Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet selon la méthode de Bohak (Bohak 1969)	42
09	Mesure du temps de floculation par méthode de Berridge (Berridge 1945) modifiée par Collin (Collin et al. 1977)	44
10	Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines par la méthode de Lowry et al (1951)	62
11	Courbe d'étalonnage pour la détermination de l'activité protéolytique par la méthode de Green and Stackpoole (1975)	63
12	variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la concentration en extrait brut de pepsine et de présure	65
13	variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la concentration en CaCl <sub>2</sub> pour l'extrait brut de pepsine et de présure	66
14	variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction du pH pour l'extrait brut de pepsine et de présure	68
15	variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la température pour l'extrait brut de pepsine et de présure	70

16	Stabilité thermique de l'extrait enzymatique brut de pepsine de poulet après 30 minutes d'incubation	72
17	Stabilité vis-à-vis du pH de l'extrait enzymatique brut de pepsine de poulet après 24 heures d'incubation à 4 C	73
18	Effet de différents facteurs sur le rendement fromager (%) tel que défini par le modèle statistique Plackett – Burman	78
19	Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement fromager (%)	78

**(Suite)**

20	Graphique des résultats observés en fonction des résultats prévus	83
21	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et le pH du lait sur le rendement fromager	89
22	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et la dose d'extrait enzymatique sur le rendement fromager	90
23	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et la température d'emprésurage sur le rendement fromager	91
24	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de pH du lait et la dose d'extrait enzymatique sur le rendement fromager	92
25	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de pH du lait et la température d'emprésurage sur le rendement fromager	93
26	Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de la dose d'extrait enzymatique et de la température de coagulation sur le rendement fromager	94
27	Rendement fromager des échantillons de fromage du plan de criblage	99
28	Rendement fromager des échantillons de fromage du plan d'optimisation	99
29	pH des échantillons de fromage du plan de criblage	101

---

30	pH des échantillons de fromage du plan d'optimisation	101
31	Acidité titrable des échantillons de fromage du plan de criblage	103
32	Acidité titrable des échantillons de fromage du plan d'optimisation	103
33	Matière sèche des échantillons de fromage du plan de criblage	105
34	Matière sèche des échantillons de fromage du plan d'optimisation	105
35	Humidité des échantillons de fromage du plan de criblage	107
36	Humidité des échantillons de fromage du plan d'optimisation	107
37	Matière minérale des échantillons de fromage du plan de criblage	109
38	Matière minérale des échantillons de fromage du plan d'optimisation	109
39	Matière grasse des échantillons de fromage du plan de criblage	111
40	matière grasse des échantillons de fromage du plan d'optimisation	111

---

# **LISTE DES TABLEAUX**

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification des fromages selon la norme CODEX STAN A-6. (1978)	11
02	Critères de qualité des fromages (Law and Tamime 2010)	15
03	Plage et niveau des variables codées pour le modèle Plackett-Burman	49
04	Plage et niveau des variables codées pour le modèle Box-Behnken	50
05	Analyses physico-chimiques des échantillons de lait cru de vache collectés	54
06	Activités enzymatiques de l'extrait brut de pepsine de poulet par comparaison à la présure	59
07	Modèle expérimental Plackett–Burman pour l'évaluation des facteurs affectant le rendement fromager Rf (%)	75
08	Coefficient de régression, erreur standard et résultats du test t-student du modèle statistique Plackett Burman pour le rendement fromager (%)	76
09	Matrice du modèle expérimental Box-Behnken, les valeurs expérimentales et prévues pour les quatre variables indépendantes utilisées	79
10	Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet de l'enrichissement au lait en poudre, pH du lait, dose d'extrait enzymatique et température d'emprésurage sur le rendement fromager	85
11	Coefficient de régression, erreur standard et résultats du test t-student de surface de réponse pour le rendement fromager (%)	88
12	Conditions et valeurs théoriques et expérimentales optimales pour le rendement fromager	96
13	Caractéristiques de composition des échantillons de fromage <i>Jben</i> de ferme et ceux fabriqués au laboratoire	97
14	Composition physicochimique du fromage <i>Jben</i> de fabrication optimisée	98
15	Résultats du test de dégustation des fromages <i>Jben</i> de ferme et ceux fabriqués au laboratoire	116
16	Résultats du test de dégustation des fromages de fabrication optimisée	117

---

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**



---

## Introduction générale

La transformation du lait en fromage est très fréquente dans le monde où il existe une très grande variété de celui-ci (Eck 1987). Le fromage est connu depuis des temps immémoriaux par la plupart des cultures à travers le monde. Les indigènes le fabriquent par l'utilisation des procédures purement traditionnelles (sans addition de levains) pendant des siècles. Cette technologie de fabrication a été par la suite transférée d'un pays à l'autre au temps que les hommes se déplaçaient à travers le monde (Lahsaoui 2009).

Depuis des siècles, les produits laitiers indigènes y compris les fromages traditionnels ont occupé une place importante dans la consommation des certains pays, dont le mode de fabrication découle partie intégrante d'héritage culturel de la population et a une grande importance médicinale et économique (Alichanidis and Polychroniadou 2008; Othman 2011). Au cours de ces dernières années, une attention particulière a été manifestée pour ces produits laitiers indigènes par les consommateurs surtout dès que ces produits ont montré une grande contribution dans l'atténuation de la faim et au développement économique dans certains pays du monde (Benkerroum and Tamime 2004).

En Algérie, les produits laitiers et plus particulièrement les fromages traditionnels forment une tradition bien connue, transmise de génération en génération, ce qui représente un aspect important de la culture algérienne. Cependant, la fabrication de ces fromages traditionnels est limitée par les populations rurales où elle est destinée à l'autoconsommation et le surplus peut être vendu dans les marchés urbains (par des voies informelles) (Bencharif 2001). Ces fromages méritent la particularité d'être produits à petite et grande échelle industrielle pour améliorer leurs qualités et les commercialiser par des voies formelles surtout avec l'augmentation du risque de disparition. Ceci amènera à une standardisation de leurs propriétés technologiques (Benkerroum and Tamime 2004). Environ dix types de fromages traditionnels sont fabriqués dans certaines régions en Algérie. Ces fromages se distinguent par plusieurs facteurs comme la nature du lait utilisé, les techniques de fabrication et les conditions locales. Parmi les fromages traditionnels les plus populaires en Algérie en retrouve *J'ben* et *Klila* (Hallel 2001). Bien que le *J'ben* soit un fromage traditionnel largement fabriqué dans le nord algérien, aucune étude n'est axée sur ses caractéristiques. Les informations sur sa technique de fabrication restent très limitées. Sa fabrication traditionnelle comporte une étape d'acidification spontanée du lait cru de vache, de brebis, de chèvre ou encore du mélange à température ambiante suivi d'une coagulation sous l'effet d'un agent coagulant autochtone

---

d'origine végétale (exemple : fleurs de chardon, d'artichaut) (Nouani et al. 2009) ou d'origine animale (exemple : caillette, proventricules).

A l'échelle mondiale, la fabrication du fromage à partir de présure d'origine animale ne couvre qu'approximativement 30% de la production fromagère du fait du manque de la disponibilité des caillettes de veaux (FAO, 2012). De ce fait, plusieurs succédanés de présure de différentes origines ont été envisagés. Les enzymes de remplacement d'origine végétale sont extraites à partir du chardon (*Cynara cardunculus*), du latex du figuier (*Ficus caricas*), d'artichaut (*Cynara scolymus*), des feuilles du papayer (*Caricapapaya*)... etc (Aworh and Nakai 1986; Vioque et al. 2000; Sousa and Malcata 2002). Les enzymes de remplacement d'origine bactérienne sont extraites à partir du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* et d'origine fongique (Ramet 1997 ; Mandy et al. 2011). Il existe encore des enzymes de remplacement d'origine animale sécrétées par l'estomac des mammifères principalement les bovins, ovins, caprins, porcins et volailles. Ces enzymes sont très intéressants en industrie fromagère (Alais 1984; Ramet 1997). Le choix d'un succédané de présure est lié principalement à son activité coagulante qui doit être forte, à son activité protéolytique qui doit être modérée et à sa capacité de donner une qualité alimentaire au produit fini (Alais 1984). La pepsine de poulet est fréquemment utilisée dans la préparation traditionnelle du fromage frais *J'ben* consommé dans le nord et le sud-ouest algérien. D'autre part, la fabrication de ce fromage traditionnel algérien est affectée par plusieurs facteurs. Afin d'avoir les meilleurs performances au cours de la fabrication, il est bien évident de déterminer ces facteurs et de les optimiser. Le choix de la méthode d'optimisation présente une importance primordiale où une optimisation incorrecte provoque une faible production de ce fromage.

Les méthodes d'optimisations classiques basées sur des expériences à facteurs uniques semblent ne pas prendre en considération l'effet de toutes les interactions présentes entre les différents facteurs. Cependant, les techniques de conception expérimentales permettent de surmonter ces désavantages (Gupta et al. 2004; Ferreira et al. 2007). La méthodologie pour surface de réponse (RSM) est une technique statistique efficace largement utilisée dans la modélisation mathématique. Elle permet d'étudier l'effet de plusieurs variables avec leurs interactions mutuelles, de minimiser le nombre d'expériences et donc d'optimiser les processus technologiques (Hong and Haiyun 2010; Hamzah et al. 2013; Bachir bey et al. 2014). La RSM a prouvé son efficacité et son utilité dans le domaine alimentaire où elle a été utilisée avec succès dans l'optimisation des processus biotechnologiques (Gomes et al. 2013).

---

Pour assurer la préservation de ce fromage traditionnel algérien *J'ben* dans le cadre du patrimoine traditionnel, il est très important de rassembler les données scientifiques sur ce fromage. Dans cette optique, et compte tenu de la dépendance algérienne en matière de fromage, de l'importante évolution du secteur agro-alimentaire en Algérie ainsi que des exigences quant au choix judicieux des produits alimentaires présentes sur nos assiettes; la présente étude vise à mettre en valeur un des fromages traditionnels existant dans notre pays. Il s'agit de l'optimisation du procédé de fabrication du fromage traditionnel *J'ben*. L'étude sera consacrée à la caractérisation de la qualité du fromage *J'ben* afin de pouvoir optimiser sa fabrication. Cette étude comportera les principaux volets suivants :

- Caractérisation de la qualité physicochimique et organoleptique des échantillons de fromage *J'ben* prélevés de la région *d'Ain Sefra* en comparaison avec des échantillons de fromage contrôlé fabriqués au laboratoire ;
- Extraction et caractérisation de l'extrait enzymatique brut de pepsine obtenu à partir de proventricule de poulet et détermination du rendement et des conditions optimales de coagulation;
- Application d'un modèle factoriel Plaquett- Burman afin de déterminer les facteurs affectant significativement la fabrication du fromage *J'ben*;
- Optimisation de la production du fromage *J'ben* par la maximisation du rendement fromager à l'aide d'un modèle statistique de Box- Behnken ;
- Evaluation physicochimique et organoleptique des échantillons de fromage préparés dans l'étude menée sur l'optimisation.

---

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## 1. Définition

Selon la réglementation française n°2007-628 : La dénomination "fromage" est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse. La dénomination "fromage" peut également être utilisée pour tout produit issu de fromages, par mélange ou assemblage entre eux ou avec des matières premières laitières mentionnées précédemment, pour autant que ce produit n'incorpore pas d'autres ingrédients que ceux qui sont autorisés dans ces fromages. La teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 grammes pour 100 grammes de fromage (Norme française : NF n°2007-628).

Le *Codex Alimentarius* 1996 (norme FAO/OMS A 6), définit le fromage comme: Le produit frais ou affiné, de consistance solide ou semi-solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, et qui est obtenu:

- a) par coagulation complète ou partielle des matières premières suivantes: lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème, crème de lactosérum ou babeurre, seuls ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation;
- b) par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou de matières provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini au paragraphe a).

Le fromage affiné est du fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais 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 un fromage affiné où 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 sa fabrication (FAO/OMS 1990 (1978 modifié)).

---

## **2. Technologie fromagère**

Le fromage est le véritable moyen de préservation des principaux composants de lait. A l'échelle mondiale, il existe plus de 1000 variétés de fromage produites grâce à la fois de la récupération des matières sèches et de l'élimination de l'eau à partir du lait (Irlinger and Mounier 2009).

Le fromage est un système biochimique complexe et variable qui s'explique comme un gel de protéines concentrés englobant de la graisse et de l'humidité. La fabrication du fromage implique une gélification de la protéine du lait, une formation d'un caillé après déshydratation du gel et un traitement du caillé obtenu (par exemple : agitation à sec, cheddarisation, salage, moulage...etc). Le caillé moulu obtenu peut être consommé frais (peu de temps après sa fabrication) et sa qualité est fortement liée à la composition du caillé. Cette dernière dépend particulièrement de la charge microbienne, la richesse en caséine et la qualité chimique et organoleptique du lait utilisé. Le caillé obtenu peut également être affiné pendant une période allant de 2 semaines à 2 ans pour donner un fromage affiné avec la saveur, la texture et la fonctionnalité appropriée (Law and Tamime 2010).

### **2.1. Coagulation du lait**

La coagulation du lait correspond à une modification d'état physique irréversible des micelles de caséines. Celle-ci entraîne un passage du lait de l'état liquide à l'état semi-solide après formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel (Eck and Gillis 1997).

La gélification de la protéine du lait peut être effectuée par : hydrolyse de la caséine du lait (représente environ 75% de la production en fromage) par le biais des protéinases acides en particulier la présure (chymosine, pepsine) au niveau de la liaison peptidique phényalanine<sup>105</sup>-méthionine<sup>106</sup> ; acidification du lait (représente moins de 30% de la production en fromage) à l'aide d'addition de ferments ou d'acides de qualité alimentaire à une température qui varie entre 20 et 40°C jusqu'à atteindre un pH proche du pH isoélectrique de la caséine, c'est-à-dire 4.6 ; ou une combinaison acide-thermique (par exemple, chauffage du lait à un pH de 5.6 à une température de 90°C) (Law and Tamime 2010).

#### **2.1.1. Première voie : coagulation par voie enzymatique**

La coagulation par voie enzymatique du lait s'effectue par l'hydrolyse des caséines par le biais des enzymes protéolytiques d'origine animale (veau, porc, poulet), végétale (artichaut, chardon, graines de citrouille) et microbienne (enzymes extraits de certains champignons,

---

comme : *Mucorpusills*, *Endothia parasitica*), ayant la propriété de coaguler le lait. L'enzyme animale la plus utilisée en fromagerie est la présure, provenant du sac gastrique (la caillette) des jeunes ruminants non sevrés (Eck and Gillis 1997). Cette enzyme est constituée de la pepsine (représente 20%) et de la chymosine (représente 80%). Son mécanisme d'action comporte trois phases : L'hydrolyse de la caséine kappa au niveau de la liaison peptidique phénylalanine105-méthionine106 et libération de la para-caséine et caséino-macropéptide (CMP) dans le sérum du lait ; La coagulation proprement dite et formation d'agrégats de paraffine, due à l'augmentation des forces d'attraction des micelles de para-caséine (agrégation des micelles) et à la perte du CMP dans le sérum ; La réorganisation des liaisons entre les para-caséines des micelles de caséines et formation du coagulum (Brulé et al. 1997). Le calcium joue un rôle très important dans l'agrégation des micelles de caséines en gel dont la caséine calcique constitue le principal agent induisant à cette agrégation. Néanmoins, sa contribution exacte à la coagulation ne soit pas claire. (Brulé et al. 1997). Le gel obtenu de la coagulation par voie enzymatique est élastique, souple, peu friable, fortement imperméable et contractile avec un raffermissement important et rapide par rapport au gel lactique (Aissaoui-Zitoun 2014).

### **2.1.2. Deuxième voie : coagulation par voie acide**

L'acidification du lait conduit à une précipitation des caséines du lait à leurs points isoélectriques par action des produits de fermentation de bactéries acidifiantes (processus progressif) ou par des composés chimiques d'action acidifiante soit directe (acide lactique) ou indirecte (protéines sériques à pH acide) (Brulé et al. 1997). L'acidification aboutit à une diminution du pH du lait. La réduction du pH à environ 5.2–5.4 provoque une solubilisation de l'agent cimentant des micelles (phosphate de calcium colloïdal chargé positivement) avec diminution des charges négatives. Par contre, une réduction supplémentaire du pH à environ 5.2–4.6 provoque une désorganisation des micelles suivi d'une réorganisation des sous unités micellaires (Law and Tamime 2010).

L'acidification biologique est un mécanisme progressif, lent et uniforme. Elle est due grâce à l'aptitude des bactéries lactiques à produire de l'acide lactique à partir du lactose. Le gel acide ainsi formé est friable, lisse, homogène, perméable, peu contractile et occupe entièrement le volume initial du lait. Cependant, l'acidification rapide par ajout d'acide organique ou minéral provoque la formation d'un précipité plus au moins granuleux dispersé dans lactosérum (Eck and Gillis 1997).

---

### **2.1.3. Troisième voie : coagulation mixte**

La coagulation résulte le plus souvent, d'une action conjuguée de l'acidification et des enzymes protéolytiques. Les gels formés par cette coagulation mixte possèdent des caractéristiques intermédiaires entre celles du gel obtenu par voie acide et celle du gel obtenu par voie enzymatique (Brulé et al. 1997).

### **2.2. Egouttage**

L'égouttage est un phénomène dynamique qui se caractérise par une déshydratation partielle (élimination du lactosérum) et durcissement du gel. Ce qui conduit à l'obtention d'un caillé correspondant au fromage formé et avec une teneur en matière sèche plus ou moins élevée (Brulé et al. 1997). Ce phénomène dépend des facteurs directs (il s'agit des traitements mécaniques et thermiques), des facteurs indirects (il s'agit de la coagulation enzymatique et/ou de l'acidification) et des facteurs liés à la matière première (richesse en caséines, en protéines solubles et en matière grasse) (Ramet 1985).

L'élimination rapide du lactosérum consiste à couper le gel en morceaux (particules de caillé), le brasser, le presser et/ou le cuire (améliore l'égouttage dans certaines variétés). Et plus rapidement, elle peut être atteinte par centrifugation ou ultrafiltration. Par contre, l'élimination lente du lactosérum consiste une filtration du gel dans des sacs à fromage (Law and Tamime 2010).

Le gel obtenu par voie enzymatique (gel imperméable avec égouttage par voie mécanique) possède des propriétés rhéologiques opposées à celles du gel obtenu par voie acide (gel très friable avec égouttage spontané) (Veisseyre 1975).

### **2.3. Salage**

Le salage est une opération indispensable dans la plupart des fromages (les fromages affinés) qui consiste à enrichir le fromage en chlorure de sodium. Par action sur l'activité de l'eau, le salage conserve le fromage, améliore l'arôme et accélère le mécanisme du séchage (Bendimerad 2013). Le salage exerce un effet inhibiteur sur l'activité des enzymes et joue un rôle très important dans le mécanisme d'affinage. Plusieurs techniques sont envisagés, saupoudrage du sel en surface ou dans la masse du gel ou par saumurage (Eck and Gillis 1997).



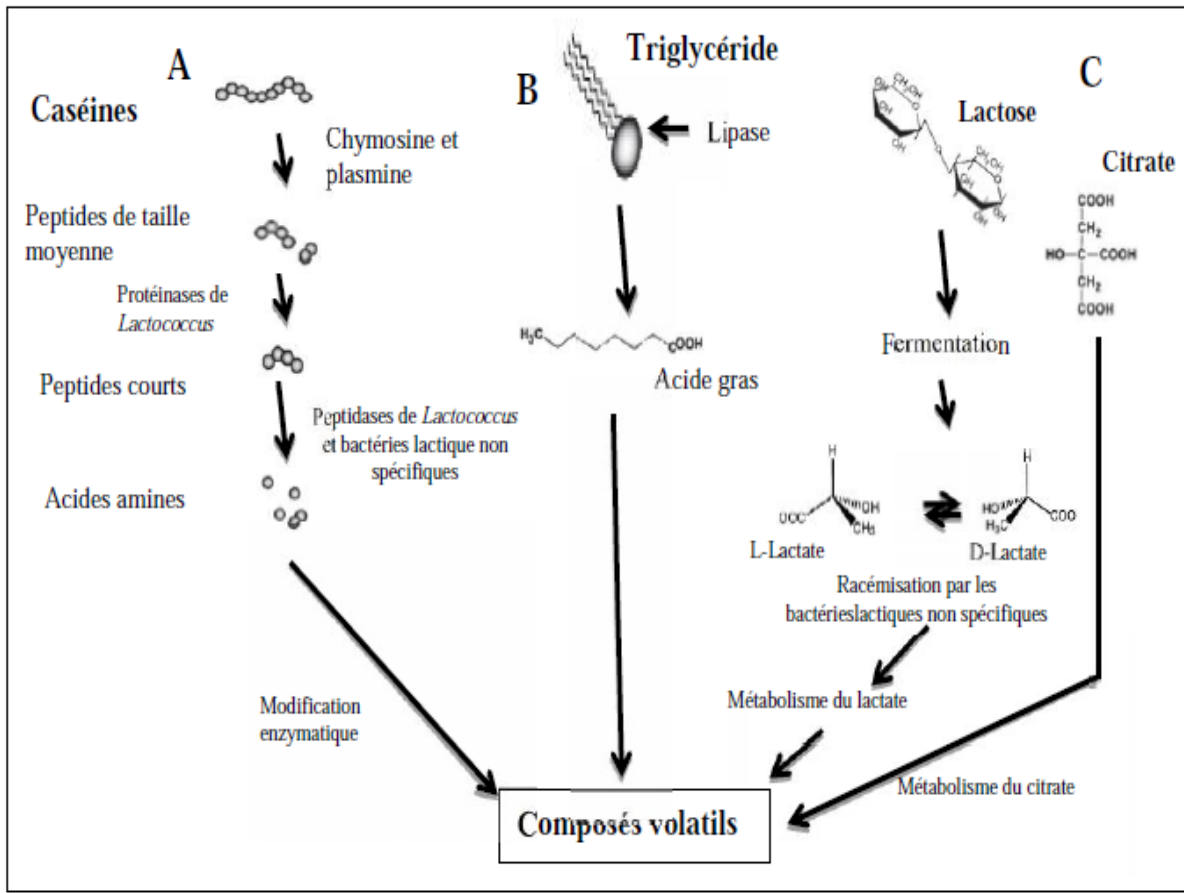
---

## 2.4. Affinage

Le processus du vieillissement des fromages consiste à les maintenir dans des cuves spéciales parfois appelées « hâloirs », ventilées ou non, dans des conditions spécifiques de température et d'humidité pendant des durées variantes de 2 à 4 semaines pour les fromages à pâte molle et jusqu'à 2 ans pour certains fromages à pâte dure (Law and Tamime 2010; Bendimerad 2013). Ce processus implique une cascade complexe d'événements biologiques et biochimiques qui s'effectuent simultanément ou successivement aboutissant à la transformation du caillé de fromage frais en un fromage affiné caractérisé de qualité souhaitée (développement de l'odeur approprié, la texture et les propriétés physiques du fromage) (Law and Tamime 2010; Othman 2011).

L'affinage est la transformation biochimique (figure 1) complexe des composants du caillé sous l'action des agents d'affinage, soient les enzymes. Elles ont trois origines différentes : les enzymes de coagulation (présure avec un effet protéolytique ou protéases microbiennes); les enzymes indigènes du lait (microflore du lait particulièrement : la plasmine, la cathepsine D et lipoprotéine lipase) et les enzymes des micro-organismes intervenant au moment de l'affinage (provenant des ferments lactiques ou des ferments secondaires) (Fox and Kelly 2006).

Les principales modifications physicochimiques sont : La glycolyse qui consiste à convertir le lactose en acide lactique par le biais des cultures starters et le catabolisme des acides lactiques et du citrate en d'autres composés sous l'action des cultures de démarrage secondaires ; La protéolyse qui consiste à hydrolyser les caséines en peptides par le biais des endopeptidases (protéinases) et la transformation des lipides libérés en acides aminés sous l'action des exopeptidases (peptidases); La lipolyse qui consiste à hydrolyser les triacylglycérols, di- et monoacylglycérols en acides gras libres par le biais des lipases et des estérases provenant de diverses sources (à partir du lait natif et / ou des cultures secondaires ajoutées. (Choisy et al. 1997 ; McSweeney and Fox 2004).



**Figure 1 :** Principaux mécanismes biochimiques de l’affinage : (a) protéolyse, (b) lipolyse, (c) métabolisme de lactose, de lactate et de citrate (McSweeney and Sousa 2000).

### 3. Classification des fromages

Une large gamme de variétés de fromages est produite dans le monde entier, environ 2000 variétés dont approximativement 500 variétés de fromages sont reconnues par la Fédération internationale laitière (FIL) (IDF 2008). Suite à cette grande diversité liée aux propriétés ou aux modes de fabrication des fromages, aucune liste définitive et universelle de classification ne pourra être établie (Chambers et al. 2005). Autrement dit, la classification demeure très difficile surtout pour les nouvelles variétés de fromage qui apparaissent sur le marché suite à l’évolution technologique reconnue ces dernières années.

Plusieurs tentatives de classification des variétés de fromages ont été faites pour les classer en groupes significatifs. En général, les classifications sont basées sur la nature de la matière première (cru ou pasteurisé ; lait entier, écrémé...etc), la méthode de coagulation, le

---

mode d'affinage, la technologie de fabrication et l'espèce animale de provenance du lait (vache, chèvre, brebis...etc) (Mietton et al. 2004).

La norme internationale A-6 (FAO/OMS 1978) du codex alimentarius donne la classification officielle des fromages (tableau 1) selon trois critères : la teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD), le pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec (MGES), et les principales caractéristiques d'affinage.

Les fromages peuvent être classés selon la méthode de coagulation en quatre familles (figure 2) : Fromages à coagulation présure (la plupart des variétés de fromages), fromages à coagulation acide (comme : cottage, quark, crème), coagulation thermique / acide (par exemple : ricotta) et concentration (par exemple : fromage Feta) (Fox et al. 2000).

Les fromages peuvent être classés selon leur teneur en pH et en calcium ((Lawrence et al. 1984) cité par (Lawrence et al. 1987)).

Les fromages acides (couleur légèrement jaune) peuvent être classés selon leur technologie de fabrication en fromages frais et fromages affinés. Ces derniers regroupent deux catégories : les fromages salés à sec et les fromages saumurés dont on trouve les fromages saumurés Blanc (A) et les fromages saumurés Divers (B). Ces fromages acides avec une texture légèrement friable, développent une odeur très forte (Schulz-Collins et al. 2004). Les fromages peuvent être classés selon l'espèce animale de provenance du lait en fromages de chèvre : sont essentiellement des pâtes fraîches ou des pâtes molles à croûte naturelle ou fleurie préparés exclusivement à partir du lait de chèvre. Les fromages de chèvre comprennent deux types (selon leur mode de fabrication) : Les fromages de chèvre lactiques (fromages affinés de texture cassante, légèrement fondante et de goût typé) et les fromages de chèvre présure (fromages affinés de texture souple, fondante et onctueuse et de goût est peu typé). On trouve aussi les fromages mi-chèvres qui sont préparés d'un mélange de matières premières laitières provenant de la chèvre et de la vache (50 p.100 au minimum de l'extrait sec est d'origine caprine) (Jeantet et al. 2007).

Les laits fermentés et fromages traditionnels algériens ne figurent pas dans les revues représentant les différentes variétés de produits laitiers (Tamime et al. 2011), à cause de l'absence de minime d'information accessible à propos de leur sujet.

En conclusion, avoir une classification regroupant tous les fromages selon leurs technologies de fabrication et leurs caractéristiques demeure très difficile, en tenant en compte que certains fromages peuvent être classés dans la même catégorie alors qu'ils se diffèrent d'un point de vue sensoriel. Un modèle de fiche-questionnaire qui caractérise les fromages est proposé pour une éventuelle identification uniforme de ces fromages. Cette classification est basée sur des critères liés à la technologie de fabrication, la composition globale et fine et aux caractéristiques sensorielles (Fox et al. 1993).

Le fromage traditionnel algérien *Jben* peut être classé parmi les fromages frais qui résulte de la coagulation mixte (combinaison d'acide et d'enzyme) ou de la coagulation acide / chauffage du lait, de crème ou de lactosérum. Les fromages frais figurent dans la plupart des cultures des pays et se consomment juste après fabrication (Schultz-Collins et al. 2004).

**Tableau 1:** Classification des fromages selon la norme CODEX STAN A-6. (1978).

<b>Formule I</b>	<b>Formule II</b>	<b>Formule III</b>		
TEDF <sup>1</sup> (%)	Le présent élément de la dénomination sera	MGES <sup>2</sup> Le second élément de la dénomination sera	Dénomination d'après les principales caractéristiques d'affinage	
< 51	Pâte extra dure	> 60	Extra gras	1. Affiné
49-56	Pâte dure	45-60	Tout gras	a. principalement en surface b. principalement dans la masse
54-63	Pâte demi-dure	25-45	Mi-gras	2. Affiné aux moisissures
61-69	Pâte demi-molle	10-25	Quart-gras	a. principalement en surface
< 67	Pâte molle	<10	Maigre	b. principalement dans la masse

<sup>1</sup> TEFD : Pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé, c'est-à-dire:

$$\frac{\text{poids de l'eau dans le fromage}}{\text{Poids total du fromage} - \text{matière grasse dans le fromage}} \times 100$$

<sup>2</sup> MGES : Pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec, c'est-à-dire:

$$\frac{\text{Teneur en matière grasse du fromage}}{\text{Poids total du fromage} - \text{eau dans le fromage}} \times 100$$

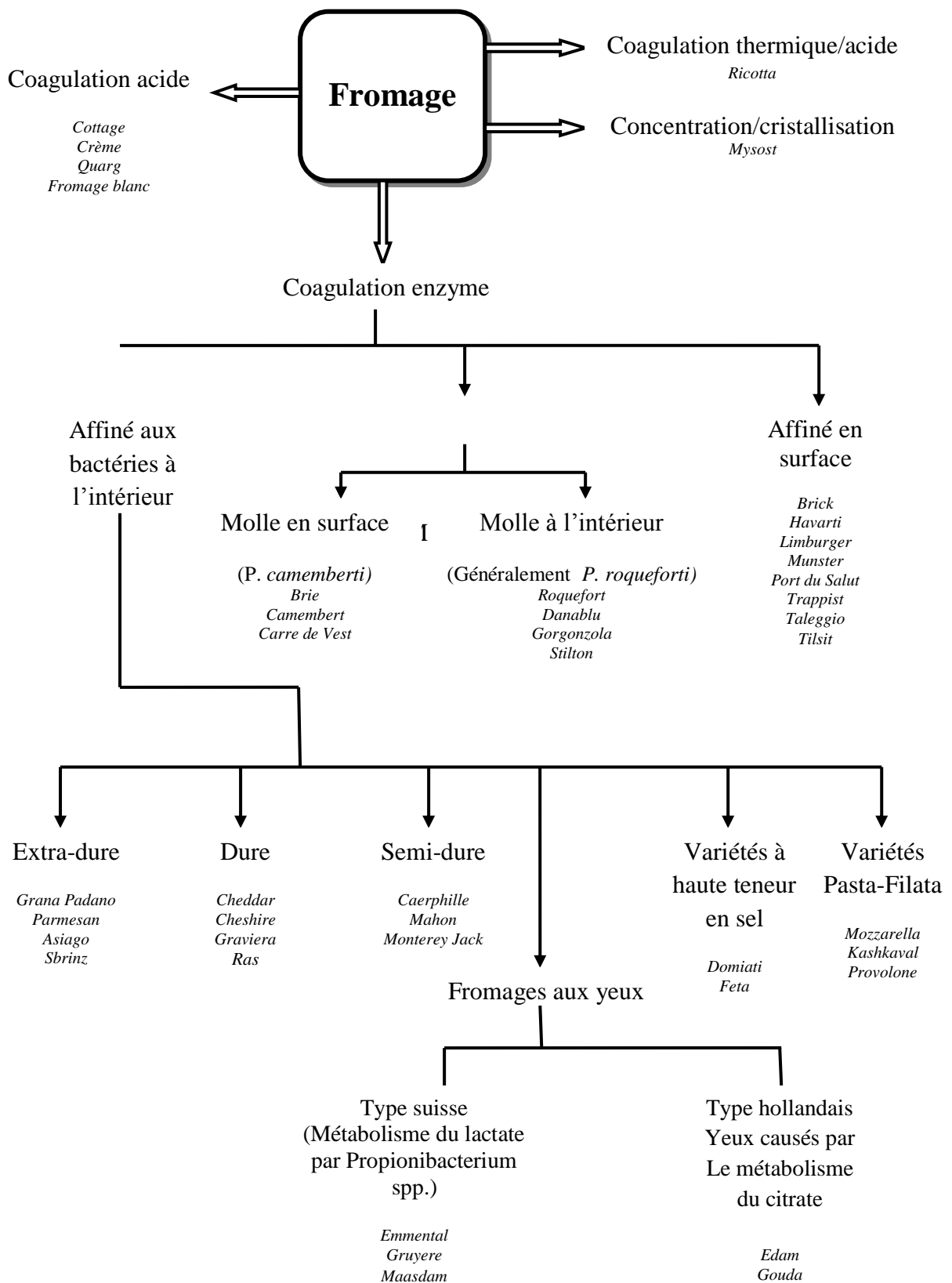
### Exemple

Un fromage ayant une TEFD de 57% et une MGES de 53% qui est affiné de la même manière que le Roquefort. Serait nommé :

Pâte demi-dure  
(Formule I)

Tout gras  
(Formule II)

Fromage affiné aux moisissures dans la masse  
(Formule III)



---

**Figure 2:** Schéma de classification de fromage basée sur la méthode de coagulation (Fox et al. 2000).

#### 4. Qualité des fromages

D'une manière globale, le degré d'acceptabilité du produit par l'utilisateur final définit la qualité du fromage (Peri 2006). Les critères de qualité englobent les caractéristiques suivantes :

- Caractéristiques sensorielles : il s'agit de la saveur (gout et arôme), la texture (dureté, capacité d'étirement,...etc. c'est un indicateur de qualité très important pour les consommateurs et l'apparence du fromage (uniformité, couleur qui est l'un des caractéristiques les plus importants de la qualité du fromage) (Othman 2011) ;
- Ces caractéristiques dépendent essentiellement de la technologie de production ainsi que les propriétés chimiques et microbiologiques de la matière première utilisée (varient en fonction de facteurs d'origine alimentaire, génétique...etc) (Mistry et al. 2002) ;
- Caractéristiques physiques : il s'agit de la dureté de la pâte de fromage, l'élasticité, l'aptitude au tranchage et la sensation en bouche ;
- Caractéristiques de cuisson : on parle du débit, le filant et le brunissement ;
- Composition nutritionnelle : on peut citer la teneur en protéines, en lipides, lactose, sodium et calcium ;
- La présence des produits chimiques : par exemple acides gras libres, acides aminés libres ;
- La sécurité alimentaire : il s'agit de la conformité de certaines substances comme les amines biogènes aux niveaux recommandés, et l'absence totale de résidus toxiques et d'agents pathogènes.

La combinaison spécifique de critères de qualité dépend de l'application (tableau 2). Par exemple, la présence d'une surface brillante, une élasticité, une texture filante et une saveur fade sont des critères essentiels pour le consommateur de Mozzarella sur une pizza. En revanche, une bonne aptitude au tranchage liée aux niveaux élevés de calcium et de caséine

intacte et une aptitude modérée à la fusion sont essentielles pour le consommateur du fromage fondu en bloc (Law and Tamime 2010).

**Tableau 2** : Critères de qualité des fromages (Law and Tamime 2010).

<b>Chimique</b>	<b>Physique</b>	<b>Sensorielle</b>	<b>Composition nutritionnelle</b>	<b>Santé</b>
Protéolyse primaire (profil électrophorétique sur gel, azote soluble à pH 4,6, azote soluble dans l'eau)	Propriétés de rupture / élasticité (contrainte de fracture, contrainte de fracture, fermeté / douceur, adhésivité / collage, élasticité, cohésion, déchiquetage, émiettement, découpage / partageabilité, moelleux, filage)	Saveur et arôme (doux, lactique, acide / acide, doux, amer, noisette, caramel, sarriette, salé, champignon, cétone, fruité, butyrate / rance)	Graisse Protéine Calcium Lactose Amines biogènes Le sel de sodium) Valeur calorifique	Absence de pathogènes Nombre total de bactéries Coliformes Salmonella spp. Levure et moisissures
Protéolyse secondaire (peptides	Apparence	Apparence		



---

de faible poids moléculaire, acides aminés libres)	Couleur (blancheur, jaunâtre)	Texture visuelle (ouverte, fermée,
	Caractéristiques oculaires (taille, distribution, finesse, surface - lustre / mat)	granulaire, yeux, lisse, veiné, farineux)
	Texture visuelle (granularité, finesse, farineuse / particulaire)	Couleur Revêtement de moule Smear coating
		Forme
		Écorce
Acides organiques (lactiques, acétiques, propioniques)	Propriétés de cuisson (temps de fusion, aspect fondu, surface brillante, taches brûlées, couleur, débit, étirement, huile libre)	Texture tactile (humide, moelleux, doux / ferme / dur, caoutchouteux, fragmentaire, enduit de la bouche, farineux, granuleux / grainé, gras / gras, astringence)

---

Acides gras libres

(butyrique,  
caproïque,  
caprylique,

lauric, autres)

Méthylcétones

Alcools

Lactones

Les esters

---

#### **4.1. Evaluation de la qualité des fromages**

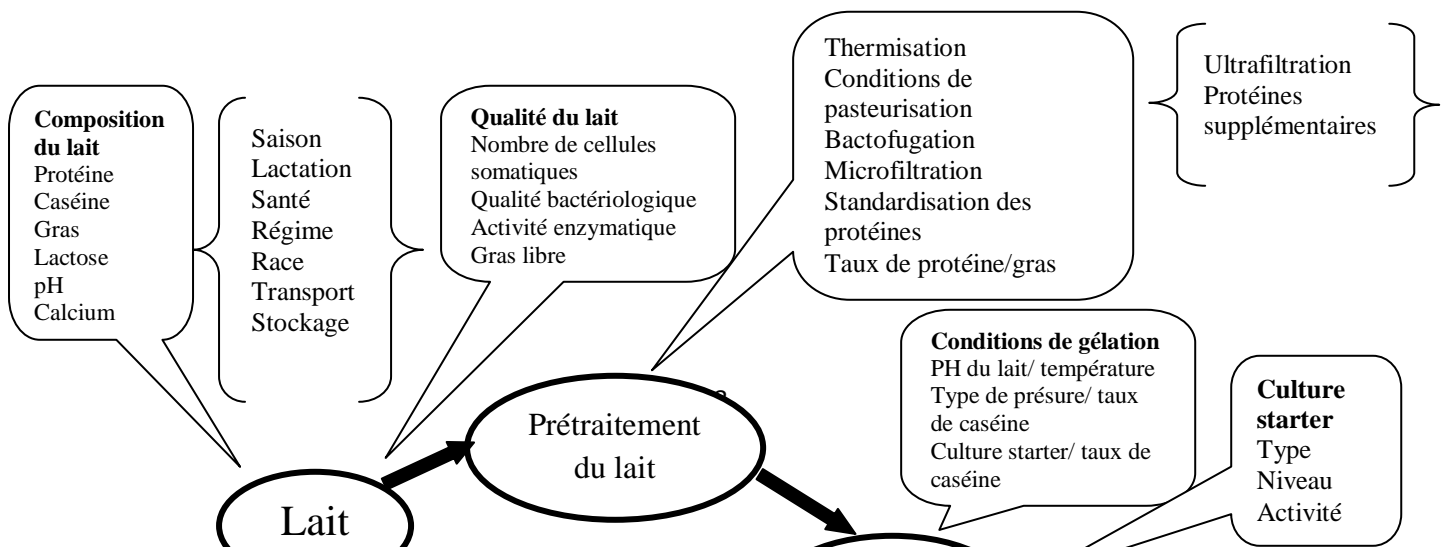
L'évaluation de la qualité du fromage demeure très importante notamment dans le contrôle de qualité de routine, le développement des produits et la recherche. Elle est fonction de plusieurs critères mesurables liées à la microstructure, la rhéologie, la composition, les propriétés sensorielles ainsi que l'acceptabilité du consommateur. Parmi ces critères mesurables:

- Caractéristiques sensorielles du fromage déterminées par une analyse sensorielle descriptive (DSA) à différents stades de la maturation ;
- L'indicateur de l'aptitude de transformation du fromage naturel en fromage spécifique (fromage fondu) ;
- Les composants chimiques spécifiques, tels que la proline, ainsi que le niveau d'acides gras à courte chaîne (C4 à C10) ;
- Les propriétés de cuisson du fromage chauffé (débit, viscosité et étirement) déterminées par une analyse rhéométrique ;
- La texture (tel que la déformation du fromage due à la fracture) et la fluidité du fromage de longueur qui sont des critères rhéologiques ;
- La viscosité (autrement dit, la facilité d'étalement du fromage fondu ou affiné à tartiner) dans des conditions définies ;

- L'intensité ou la teinte d'une couleur donnée (coordonnées de couleur : valeurs L \*, a \*, b \*) utilisée pour mesurer par exemple la blancheur dans les fromages de chèvre (Law and Tamime 2010).

#### 4.2. Facteurs affectant la qualité des fromages

Plusieurs facteurs affectent la qualité des fromages soient, la composition chimique du lait, la composition du fromage, la maturation du fromage, la coagulation présure et le processus de fabrication du fromage. La fabrication de fromages de qualité supérieure semble être possible en contrôlant ces facteurs. De nombreux facteurs peuvent être contrôlés facilement. Cependant et malgré tout les efforts déployés en matière de recherche et de contrôle de qualité, il n'est pas encore possible de contrôler certains facteurs (facteurs interactifs) (Fox et al. 2000). La figure 3 résume les différents facteurs affectant la qualité.



---

**Figure 3** : facteurs affectant la qualité des fromages (Law and Tamime 2010).

#### **4.2.1. Composition chimique du lait**

Le facteur le plus déterminant de la qualité des fromages et qui a une grande influence sur plusieurs aspects de la fabrication (particulièrement sur la coagulabilité de la présure, la synérèse de caillé et la résistance du gel) est la composition chimique du lait (il s'agit notamment des concentrations de matières grasses, de caséine, du pH et de calcium) (Fox et al. 2000). Cette dernière est influencée par de nombreux facteurs, notamment l'espèce

---

d'origine, l'individualité, la race, la santé, l'état nutritionnel et le stade de lactation (Law and Tamime 2010). Plusieurs aspects de la composition chimique du lait sont capables d'être normaliser grâce aux techniques de traitement modernes. Cependant, malgré ces procédures de standardisation dans la fabrication des fromages modernes, il existe certaines variations du lait difficiles d'être corriger, par exemple, les différentes tailles des micelles de caséine, les taux et les polymorphes génétiques de caséines individuelles, , le degrés de phosphorylation de la caséine et le rapport colloïdal calcium-caséine (Mazal et al. 2007; Vianna et al. 2008). Par conséquent, la qualité des fromages est influencée dans leur fabrication non seulement par la concentration de ses principaux constituants, mais également par l'intégrité et la composition de chaque caséine, l'intégrité de son unité structurale (micelle de caséine) ainsi que par son équilibre avec les sels du lait (Law and Tamime 2010).

#### **4.2.2. Composition du fromage**

La qualité des fromages dépendent de leur composition, y compris la texture, les propriétés sensorielles et celles de cuisson. Cette tendance convient aux effets de la composition sur l'étendue de la solubilisation du calcium, de l'hydratation des protéines, de l'activité enzymatique (la glycolyse, la protéolyse et la lipolyse) et de la microbiologie (Guo et al. 1997). Cependant, les caractéristiques du fromage obtenu (par exemple les propriétés de cuisson, la texture, le goût) affectent le niveau d'effet sur la modification d'un ou plusieurs paramètres de composition (Law and Tamime 2010). La richesse des fromages en matière grasse (quantité faible de matrice protéique) permet d'avoir des pâtes fermes et plus élastiques, tandis que les fromages en faible teneur en matière grasse sont plus fermes et moins lisses (quantité élevée de matrice protéique). Il a également été démontré que les variations dans la teneur en protéines affectent directement la fermeté des fromages. De même, le niveau d'eau qui est affectée par les conditions de fabrication des fromages et par l'évaporation de la surface au cours de la maturation affecte de son tour grandement la fermeté (Addeo 1992). Il est difficile d'étudier les effets exacts des changements ciblés d'un paramètre de composition en raison de l'interaction de ces différents paramètres (par exemple humidité, graisses, protéines, pH, calcium total et rapport entre le calcium soluble et colloïdal) (Law and Tamime 2010).

---

### **4.2.3. Maturation du fromage**

La maturation est une transformation du caillé frais pendant le stockage en un fromage qui présente les caractéristiques souhaitées en se référant aux modifications biochimiques, microbiologiques, structurelles, physiques et sensorielles. En fonction de la variété de fromage, ces modifications sont associées à des modifications corrélées du pH, du gonflement de la matrice de caséine, de l'hydratation des protéines et de la coalescence des graisses. L'effet de la maturation est majeur sur la qualité de la plupart des fromages (fromages affinés) et dépend essentiellement de la température, de l'humidité et de l'emballage (Law and Tamime 2010). Comme la phase lipidique dans le fromage est discontinue et ne contribue pas beaucoup à la cohérence globale du fromage, la diminution de la fermeté (ramollissement) du fromage est provoquée par la dégradation de la matrice protéique. Le développement de la texture des fromages comportent deux phases essentielles. La première comporte une transformation de la texture caoutchouteuse du jeune fromage en une texture plus lisse caractéristique de la variété spécifique sous l'action de la protéolyse. La deuxième phase consiste un changement plus graduel de la texture du fromage (Lawrence et al. 1987).

### **4.2.4. Coagulation présure**

Il est généralement admis que la meilleure qualité de fromage est produite par la chymosine de veau. Un apport adéquat en cette dernière est maintenant disponible sous l'action de micro-organismes génétiquement modifiés (sachant que son utilisation ne soit pas autorisée dans certains pays). Il faut prendre en considération que la qualité de présure ne devrait pas avoir un effet sur la variabilité de la qualité du fromage. La quantité de présure retenue dans le caillé de fromage dépend essentiellement du type de présure, de la température de cuisson et du pH au moment d'égouttage. La production d'un fromage de qualité constante est atteinte grâce à la normalisation de ces variables. La présence du coagulant dans le caillé du fromage entraîne une hydrolyse initiale de la caséine. Cette opération ne reflète pas dans l'évaluation sensorielle de la texture et de la saveur du fromage. Cependant, la présence de cette enzyme dans le caillé du fromage constitue un facteur limitant de la maturation. Elle peut provoquer l'amertume du fromage d'après son utilisation excessive (Fox et al. 2000).

---

#### 4.2.5. Processus de fabrication du fromage

La fabrication du fromage se déroule à partir d'un lait de qualité et de composition satisfaisante après avoir subi une gamme d'opérations permettant d'affecter la qualité final du fromage. Il s'agit de :

- Stockage du lait au froid avant pasteurisation encore appelé vieillissement à froid pendant 2 à 5 jours. Ce stockage entraîne certaines modifications physicochimiques qui agissent sur la capacité de coagulation du lait par de la présure, diminuent le rendement fromager et affectent la qualité du fromage ;
- Thermisation du lait dans des conditions des températures inférieures à la pasteurisation (généralement entre 50 et 70°C pendant 5 à 30 secondes). Cette thermisation améliore le rendement fromager ainsi que la qualité des fromages fabriqués à partir des laits stockés à froid ;
- Pasteurisation du lait (72°C pendant 15 secondes) et incorporation in situ de protéines de lactosérum dénaturées ce qui provoque l'amélioration du rendement fromager ;
- Bactofugation du lait (8000 à 10000g) et élimination des spores bactériennes survivantes à la pasteurisation ce qui améliore la qualité des fromages ;
- Clarification du lait dans un séparateur centrifuge et élimination des saletés et des cellules épithéliales ;
- Normalisation du rapport protéines / graisses afin de se conformer aux spécifications du fromage final ;
- Homogénéisation du lait et réduction de la taille des globules gras avec augmentation de la surface des graisses ;
- Addition de chlorure de calcium au lait qui favorise la diminution du pH et l'augmentation d'attraction entre les molécules de para-caséines ;
- Gélification du lait après addition de présure, d'acide ou sous l'action de la chaleur ;
- Coupe du caillé ce qui accélère la contraction du coagulum obtenu ;
- Mélange du gel découpé lentement et cuisson ce qui provoque une diminution de la teneur en humidité et du taux de la synérèse avec le temps dans le fromage ;
- Lavage de caillé: normalisation du taux de lactose dans la phase d'humidité du caillé ;
- Drainage (élimination physique) du lactosérum (Law and Tamime 2010).

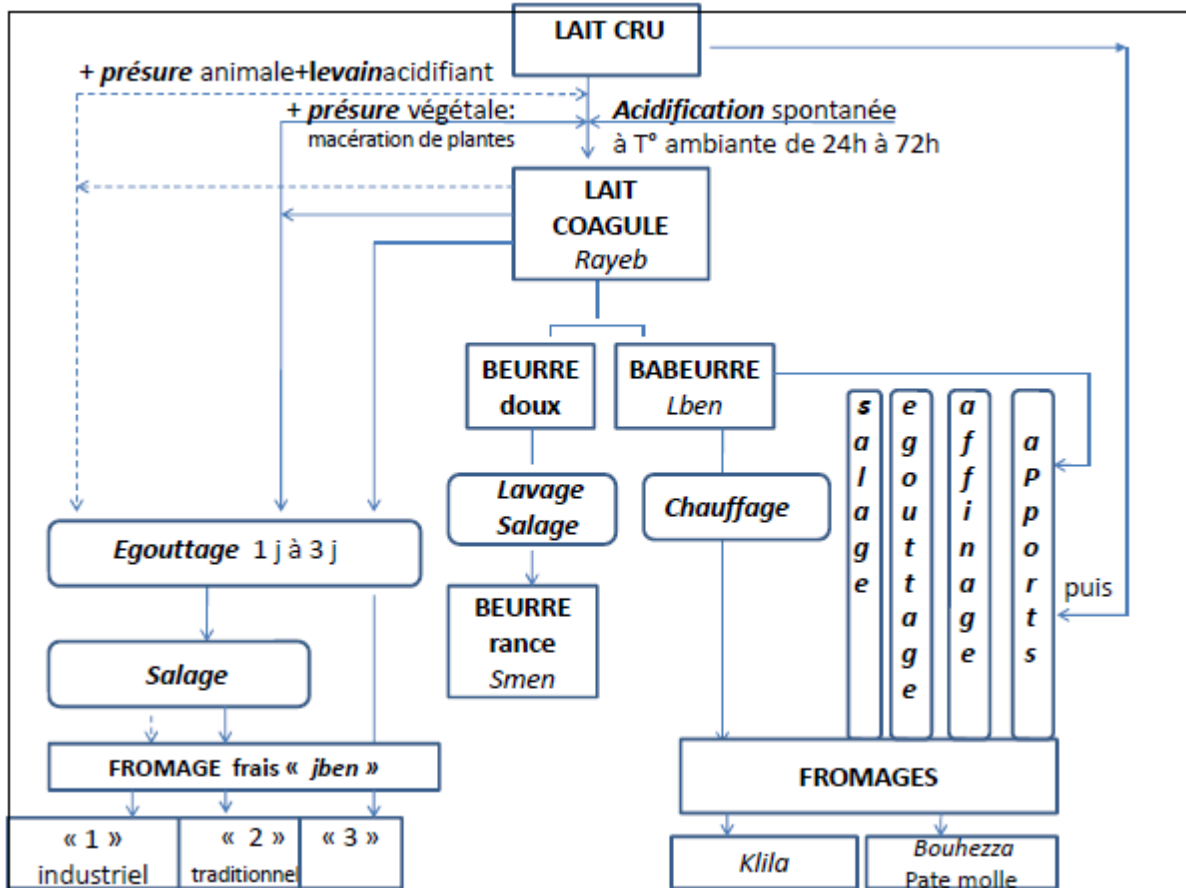
---

## **5. Fromages traditionnels algériens**

Depuis des siècles, les produits laitiers indigènes y compris les fromages traditionnels ont occupé une place importante dans la consommation des certains pays, dont le mode de fabrication découle partie intégrante d'héritage culturel de la population et a une grande importance médicinale et économique (Alichanidis and Polychroniadou 2008; Othman 2011). Au cours de ces dernières années, les consommateurs ont manifesté une attention particulière pour ces produits laitiers indigènes qu'ont joué un rôle important dans l'atténuation de la faim et au développement économique dans certains pays du monde (Benkerroum and Tamime 2004).

L'Algérie a une tradition des produits laitiers et plus particulièrement de fromages traditionnels bien connus, transmise de génération en génération, ce qui a un aspect important de la culture algérienne. Ces fromages traditionnels sont cependant confectionnés par les populations rurales et son destinés à l'autoconsommation et le surplus peut être vendu par des vois informelles (dans les marchés urbains) (Bencharif 2001). Ces fromages qui risquent d'être en voie de disparition méritent la particularité d'être produits à petite et grande échelle industrielle pour améliorer leurs qualités et leur faire commercialisés par des vois formelles. Ceci amènera à une standardisation de leurs propriétés technologiques (Benkerroum and Tamime 2004). La figure 4 schématise les principales préparations lactières traditionnelles en Algérie.





**Figure 4 :** méthodes de fabrication des principales préparations lactières traditionnelles algériennes (Lahsaoui 2009)

Il existe environ dix types de fromages traditionnels fabriqués dans certaines régions en Algérie. Ces fromages se distinguent par plusieurs facteurs comme la nature du lait utilisé, les techniques de fabrication et les conditions locales. Le *Jben* constitue avec le *Klila* les fromages traditionnels les plus populaires en Algérie (Hallel 2001).

### ***Klila***

Le *Klila* est un fromage fermenté à pâte dure produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie. Il est fabriquée par un chauffage relativement modéré (entre 55 et 75C°) du *Lben* jusqu'à l'obtention d'un coagulum (entre 10 et 15 minutes) et sans utilisation de culture starter (Mennane et al. 2007). Le coagulum peut être consommé tel qu'il est après égouttage naturel ou à l'aide d'une pierre (fromage frais) ou bien, il peut subir un découpage et séchage (réhydratation de 2 à 15 jours selon la saison) et être utilisé comme un ingrédient

---

dans les préparations culinaires traditionnelles. Le fromage *Klila* se conserve plusieurs années à température ambiante sous sa forme déshydratée, dans des jarres en poterie ou en verre, dans des sacs en peau de chèvre ou de mouton (Lahsaoui 2009).

### ***Jben***

Le *Jben* est un fromage traditionnel fabriqué dans le nord et le sud ouest algérien. Aucune étude n'est axée sur ses caractéristiques. Les informations sur sa technique de fabrication restent très limitées. Sa fabrication traditionnelle comporte une étape d'acidification spontanée du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre à température ambiante suivi d'une coagulation par de biais d'addition d'un agent coagulant autochtone d'origine végétale (exemple : fleurs de chardon, d'artichaut) (Nouani et al. 2009) ou d'origine animale (exemple : caillette, proventricules). Le salage peut avoir lieu après avoir égoutté le caillé obtenu.

Une autre préparation laitière produite au Maroc et dans plusieurs régions en Algérie porte de nom du *Jben* ou *Jibneh Beida* c'est-à-dire fromage blanc. Elle est obtenue suite à une fermentation spontanée du lait cru de vache ou de brebis ou bien d'un mélange des laits jusqu'à coagulation et obtention du *Rayeb*. La collecte du lait destiné à cette préparation dure 3 à 4 jours (des grandes quantités sont utilisés). Le coagulum ainsi obtenu est égoutté dans une mousseline jusqu'à atteindre la consistance désirée (pendant environ 2 à 3 jours) (Benkerroum and Tamime 2004).

### ***Bouhezza***

Fromage affiné préparé par les populations *Chaoui* dans la région des Aurès (l'est de l'Algérie) à partir du lait cru de vache, de chèvre, ou de brebis avec la possibilité de faire des mélanges de lait. Sa spécificité est l'utilisation de *chekoua* qui est un sac souple et humide obtenu de la peau d'animaux. Sa fabrication n'obéit pas aux règles générales de fabrication fromagère (les étapes coagulation, salage, égouttage et affinage sont successives). La fabrication du *Bouhezza* se caractérise par la simultanéité et la continuité de ces étapes dans plusieurs semaines voire des mois (Aissaoui- Zitoun et al. 2011). Il peut être consommé tel qu'il est (pâte ferme, tartine sur pain) comme il peut subir une réhydratation après séchage et broyage (ingrédient dans les plats traditionnels, *Aiche*, Couscous, *Rfiss*...etc.). Le fromage *Bouhezza* se conserve soit dans la *chekoua* soit dans des récipients en verre, en céramique, ou en plastique (Aissaoui-Zitoun 2014).

---

### ***Ighounane***

Le colostrum (premier lait provenant de vache venant de mettre bas) est utilisé pour la fabrication de ce fromage. *L'Ighounane* originaire de la Kabylie est préparé dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive. Le lait est chauffé et coagulé après addition d'une petite quantité d'eau salée. Le caillé obtenu se consomme après découpage (Lahsaoui 2009).

### ***Takammart***

Littéralement le nom *Tamahaq* désigne le fromage selon les Touaregs. Le *Takammart* est un fromage originaire du Hoggar (Tamanrasset). Il est obtenu de la coagulation du lait de chèvre après incorporation d'un morceau de caillette de jeunes chevreaux. A l'aide d'une louche, Le caillé obtenu est retiré et déposé en petits tas sur une natte, par la suite, le sérum est évacué et le caillé est déposé sur une autre natte à base de tiges de fenouil pour lui transmettre un arôme particulier (Agroligne 2001).

### ***Imadhghass***

*L'Imadhghass* est produit à partir d'un mélange de lait frais et de *Klila* fraîche dans la région des Aurès. Il est consommé comme un dessert (Bendimerad 2013).

### ***Aghoughlou***

Fromage fabriqué en Kabylie. Il est obtenu après coagulation de lait frais de vache ou de chèvre par la sève du figuier (Bendimerad 2013).

### ***Aoules***

Fromage préparé à partir d'un lait de chèvre extrêmement aigre. Une pâte dure de fromage est obtenue (matière sèche représente 92%) après une coagulation intense. Le caillé est égoutté dans une paille puis séché au soleil pour donner à la fin des boules plates. Ce fromage se consomme généralement avec les dates (Gast et al. 1969).

### ***Kemaria***

Encore nommé *Takkmerit* (Berbère), fromage fabriqué dans les régions du Sud algérien notamment dans les wilayas de Ghardaïa et Nâama à partir de lait de chèvre selon des

---

procédés traditionnels. Il est souvent servi avec du thé et utilisé à des fins festives. Le *Kemariya* est un fromage obtenu après coagulation du lait par des présures végétales. Le lait de vache et de chamelle sont également utilisés dans la fabrication de ce fromage (Nouani et al. 2009). Le *Kemariya* est de plus en plus produit par des PME en suivant des processus semi industriels du fait de sa forte demande. Il sera commercialisé de ce fait aussi bien traditionnellement qu'au niveau de certaines grandes surfaces du Nord algérien (Bendimerad 2013).

### **5.1. Fabrication traditionnelle du fromage *Jben***

Le fromage *Jben* est un fromage frais préparé traditionnellement dans plusieurs régions de l'Algérie notamment dans les zones rurales. Plusieurs techniques de fabrication sont utilisés pour préparer le fromage *Jben* ce qui aboutit à des produits aux caractéristiques très variées (Mennane et al. 2007). La fabrication de ce fromage traditionnel algérien est affectée par plusieurs facteurs. Afin d'avoir les meilleurs performances au cours de la fabrication, il est bien évident de déterminer ces facteurs et de les optimisés. Le choix de la méthode d'optimisation présente une importance primordiale où une optimisation incorrecte provoque une faible production de ce fromage.

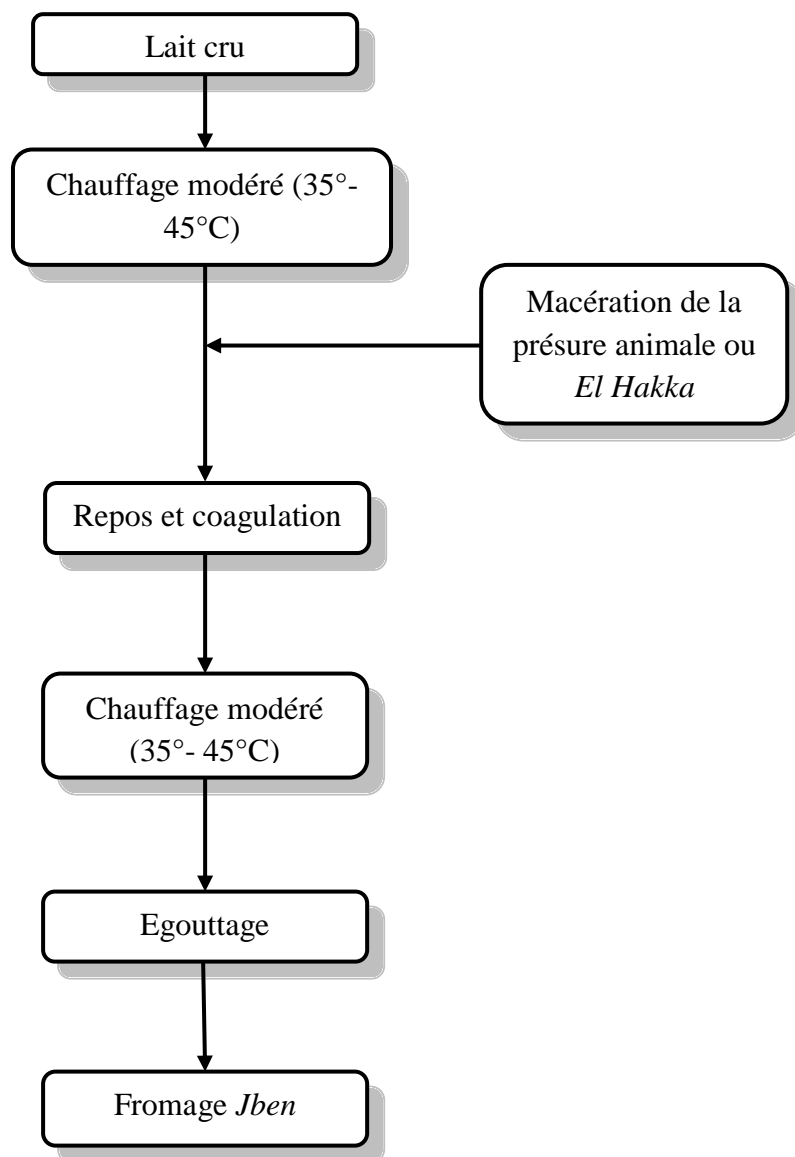
Le *Jben* noté « 2 » de la figure 4 est préparé avec du lait cru acidifié spontanément et coagulé sous l'action des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs d'artichaut (*Cynara scolymus L*), de chardon (*Cynara cardunculus L*), des graines de citrouille ou du latex de figuier (*Ficus carica*) (Mennane et al. 2007). Au Maroc et dans certaines régions de l'Algérie, le fromage *Jben* est obtenu traditionnellement suite à une coagulation purement acide (acidification spontanée) du lait cru (de vache, de chèvre ou un mélange des deux) à la température ambiante jusqu'à coagulation (*Jben* noté « 3 » de la figure 4). L'opération se déroule dans un récipient en terre cuite. Le caillé obtenu est égoutté pendant 2 à 3 jours dans un sac en mousseline. La période de drainage pourra être allongé de 10 jours au maximum jusqu'à atteindre la consistance désirée (fromage plus ferme). Par la suite, le fromage est vidé, coupé en tranches (environ 250g) et salé. Il subira un égouttage ultérieur pendant le conditionnement (Benkerroum and Tamime 2004).

Dans la région de Nâama au sud-ouest de l'Algérie, la fabrication du fromage traditionnel *Jben* se fait à la fois à partir du lait cru de la traite du jour et du lait cru acidifié

---

spontanément. La présure animale (caillette, gésier de poulet, proventricule) ou végétale (fleurs de chardon ou d'artichaut nommées *El Hakka*) est macérée dans le lait après avoir subi un chauffage modéré (environ 35-45°C). Le caillé ainsi obtenu est placé dans un récipient poreux et pressé à la main pour accélérer l'égouttage (figure 5).

La fabrication industrielle du fromage *Jben* se fait après addition de la présure animale au lait en poudre reconstitué acidifié par les levains acidifiants (*Jben* noté «1» de la figure 4). Ce changement dans le processus de fabrication traditionnelle du *Jben* sans aucun doute accélère de manière significative le temps de fabrication et améliore la sécurité du fromage, mais sa qualité sensorielle est totalement différente du *Jben* traditionnel ce qui met en danger son authenticité (Benkerroum and Tamime 2004).



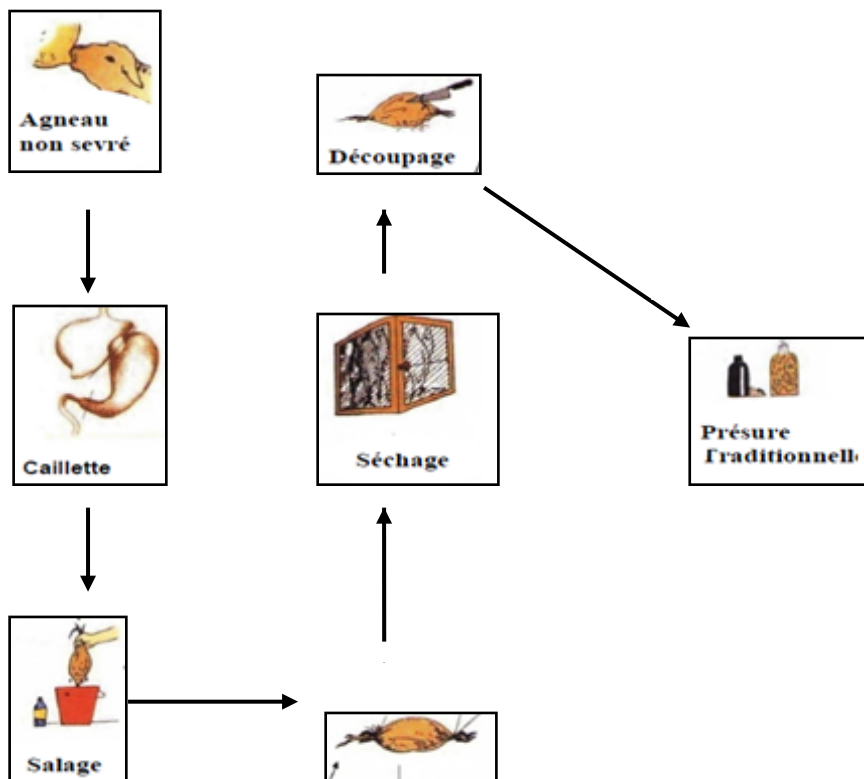
**Figure 5 :** Schéma de fabrication traditionnelle du fromage *Jben*.

## 5.2. Agents coagulants le lait autochtones utilisés en Algérie

### 5.2.1. Agents coagulants d'origine animale

#### Caillette

Dans la fabrication traditionnelle du fromage *Jben* la caillette des jeunes ruminants est fréquemment utilisée par les femmes algériennes. Il s'agit de la quatrième poche de l'estomac des veaux, des chevreaux et d'agneaux qui ne boivent que du lait à leur naissance (ruminants non sevrés). La caillette est récupérée, rincée à l'eau puis saupoudrée avec du sel. Par la suite, les deux extrémités sont bouchées et la caillette est séchée à l'air libre pendant des périodes variantes de 15 jours à 1 mois selon la saison. La caillette séchée est découpée en morceaux puis conservée pendant 6 mois (figure 6).



**Figure 6:** Méthode traditionnelle de la préparation de la caillette.

La caillette possède des glandes digestives avec une muqueuse sécrétrice. Elle se caractérise de plusieurs replis disposés à la manière de valvules qui s'opposent au reflux des aliments. L'enzyme responsable de la coagulation du lait par la caillette est la présure. Cette

---

dernière renferme deux protéases gastriques actives à pH acide (protéases acides) la chymosine (avec effet coagulant) et la pepsine (Benyahia 2013). La chymosine est sécrétée principalement dans le fœtus et l'estomac des nouveaux nés, et son taux diminue graduellement jusqu'à ce qu'elle devienne absente chez l'adulte (Foltmann 1971).

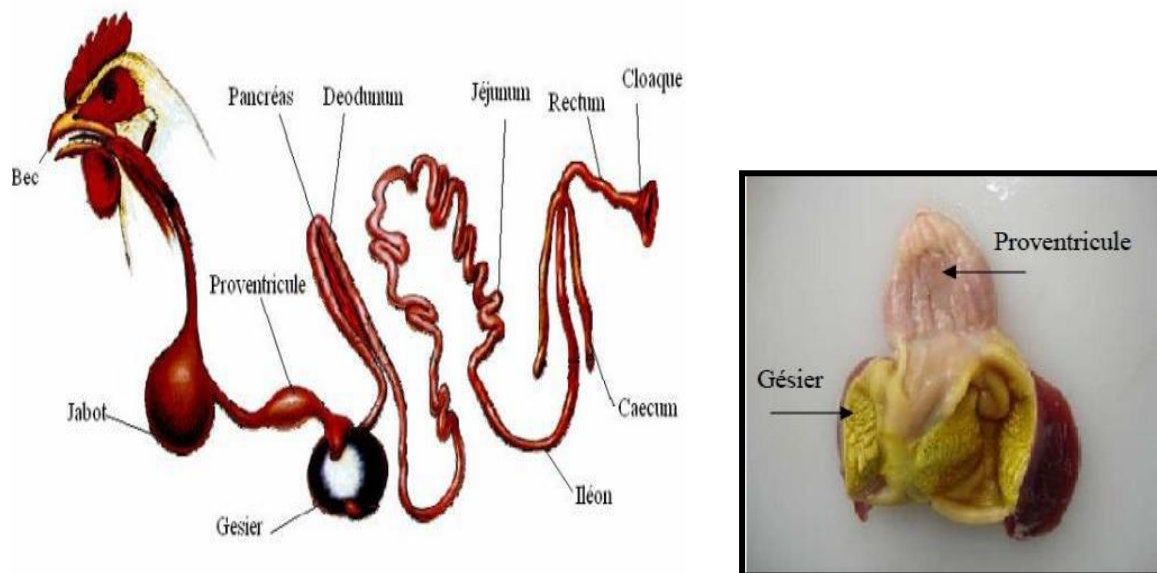
### **Proventricule et gésier de poulet**

L'utilisation de présure issue de la caillette des jeunes ruminants pour coaguler le lait dans la fabrication traditionnelle du fromage *Jben* prédomine depuis des années. Ces dernières années, et du fait de l'augmentation de la consommation de ce fromage traditionnelle avec la diminution de la disponibilité des estomacs de ruminants non sevrés, les femmes ont commencé à utiliser d'autres substances à caractère coagulant (agents coagulants autochtones) comme substituant de la présure. Il s'agit de la couche de Kaolin du gésier de poulet et le proventricule de poulet ou ventricule succenturié. La couche de kaolin est de forme cornée et plissée et est localisée dans la face interne du gésier de poulet. Le proventricule de poulet de nature glanduleuse est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne, situé entre le jabot et le gésier (figure 7).

Ces deux agents coagulants sont récupérés du tube digestif de poulet, rincés à l'eau courante pour éliminer les particules d'aliments adhérentes après être coupé par incision longitudinale à l'aide d'un couteau. Les couche de Kaolin et les proventricules nettoyés subissent ainsi un séchage à l'air libre pendant des périodes variantes (environ 3 jours et 15 jours respectivement) et sont conservés pendant deux mois à température ambiante. Les proventricules peuvent être conservés directement après nettoyage au congélateur (-18°C).

Ces sous produits d'abattage sont constitués de cellules spécialisées sécrétant une pro-enzyme protéolytique appelée pepsinogène qui possède des propriétés enzymatiques différentes comparées à la chymosine (stable dans les solutions à pH neutre et modérément alcalin) (Nouani et al. 2011). La pepsine de poulet est utilisée comme succédané de présure pour la fabrication de certains fromages, par exemple le cheddar et l'emmental (Gordin and Rosenthal 1978).





**Figure 7 :** (A) Appareil digestif du poulet ; (B) Complexe stomacal du poulet (Larbier and Leclercq 1992).

### 5.2.2. Agents coagulants d'origine végétale

#### *El Hekka* (présure végétale)

Un agent coagulant le lait d'origine végétale est utilisé pour la fabrication traditionnelle du *Jben* en Algérie. Cet agent nommé *El Hekka* est représenté par les fleurs de chardons et les fleurs d'artichaut. Ces dernières sont cueillies et séchées à l'air libre puis conservées. Le lait utilisé pour la coagulation est le lait de brebis ou de chèvre.

Le chardon (*Cynara cardunculus L*) pousse sur les sols argileux dans des endroits pierreux. Il est utilisé pour coaguler principalement le lait de brebis. Son utilisation dans le lait de vache provoque une modification de texture et de goûts (plus acide et amer) des produits laitiers du fait de son activité protéolytique non coagulante élevée (Chazarra et al. 2007; Jacob et al. 2011).

L'artichaut (*Cynara scolymus L*) possède les mêmes propriétés coagulantes que le chardon dont leur activité coagulante résulte de la présence des protéinases aspartiques à caractère acide qui rompent la liaison phénylalanine<sup>105</sup>-méthionine<sup>106</sup> de la caséine-k. Ces protéinases appelées cardosine A et cardosine B possèdent des caractéristiques et activités similaires de la chymosine et la pepsine (Silva et al. 2003).

---

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

---

# **MATERIEL ET METHODES**

---

## 1. Echantillonnage et préparation des échantillons

Le présent travail a été réalisé avec la collaboration de deux laboratoires : Laboratoire de recherche de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) de l'université Abdelhamid IBN BADIS à Mostaganem et au laboratoire de microbiologie de l'université Mohamed Saddik BEN YAHYA à Jijel.

### 1.1. Echantillonnage

#### 1.1.1. Lait utilisé

Au cours de notre étude, nous avons utilisé :

**Le lait cru de vache :** Les échantillons de lait cru de vache utilisés pour la fabrication du fromage *J'ben* destiné à la caractérisation physicochimique et organoleptique ont été prélevés à partir de l'atelier d'élevage du département d'agronomie université de Mostaganem située dans la région *Hassi Mamech*, en Algérie. Alors que les échantillons de lait cru de vache utilisés pour la fabrication du fromage *J'ben* destiné à l'optimisation ont été prélevés à partir d'une petite ferme située dans la région de Jijel, en Algérie. Tous les échantillons de lait ont été conservés au froid dans un système de réfrigérant (refroidisseur iso-thermique) et rapidement transférés au laboratoire dans les 24 heures.

**Le lait écrémé en poudre :** de type « low heat »(0% de matière grasse), a été fourni gracieusement par l'unité laitière *Igilait* de Jijel. Il a été utilisé pour la préparation du substrat de Berridge et pour l'enrichissement de la matière première dans le processus d'optimisation.

#### 1.1.2. Proventricules

Les proventricules utilisés pour la fabrication du fromage *J'ben* destiné à la caractérisation physicochimique et organoleptique ont été prélevés au niveau de l'abattoir communal de Mostaganem, en Algérie. Tandis que ceux utilisés pour la fabrication du fromage *J'ben* destiné à l'optimisation ont été obtenus de l'abattoir LAOUAR situé dans la région de Jijel, en Algérie. Les proventricules proviennent du système digestif de poulets (*Gallus gallus domesticus*) âgés de 55 à 60 jours. La graisse a été complètement éliminée et ensuite les proventricules ont été lavés sous l'eau courante pour éliminer les particules alimentaires adhérentes. Ils ont été stockés dans des sacs en plastique et congelés à -18 ° C jusqu'à leur utilisation.

---

### **1.1.3. Couches de kaolin**

Des couches de kaolin ont été prélevées au niveau de l'abattoir LAOUAR situé dans la région de Jijel et transportées au laboratoire. Au sein de ce dernier, les couches de Kaolin ont été lavées, séchées et broyées en poudre.

### **1.1.4. Caillette d'agneau**

Après abattage du jeune agneau au niveau d'une ferme localisée dans la région d'*Ain Sefra*, la caillette (la quatrième poche de l'estomac) a été prélevée et transportée au laboratoire. Puis lavée à l'eau courante, dégraissée, séchée et hachée.

### **1.1.5. Fleurs de chardon**

Les fleurs de chardon (*Cynara cardunculus L.*) ont été récoltées à partir des capitules frais à un stade avancé de floraison. Elles ont été récupérées de *Tassoust*, un village situé pas loin de la région de Jijel. Au niveau du laboratoire, les fleurs ont été séchées et conservées jusqu'à utilisation.

### **1.1.6. Présure de référence**

La présure bovine issue de la laiterie *Igilait* a été utilisée comme référence dans notre travail. Elle est sous forme de poudre de force 1/100.000 à 520mg de chymosine/1g (Rhodia food, Marshall TM, France). La poudre de présure est conservée à 4° C.

## **1.2. Préparation des échantillons**

### **1.2.1. Fabrication destinée à la caractérisation physicochimique et organoleptique**

Un total de 30 fromages ont fait l'objet d'une étude physicochimique comparative. 5 échantillons de fromages ont été prélevés à partir de la région d'*Ain Sefra* et maintenus sous froid dans un système réfrigérant (glacière iso-thermique) et rapidement transférés (dans un délai de 48h) au laboratoire. Le reste des échantillons (25) a été fabriqué dans le laboratoire de recherche Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) (Faculté des sciences de la nature et de la vie de université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem) en Algérie selon la méthode traditionnelle utilisée dans la région d'*Ain Sefra*. 4 échantillons de fromage ont été sélectionnés pour faire une analyse sensorielle comparative.

---

Quatre agents coagulants autochtones ont été utilisés pour la fabrication du fromage (5 échantillons de fromage ont été fabriqués à partir de chaque agent coagulant). Il s'agit de fleurs de chardons séchés (2g), la caillette séchée (0.5g), la couche de Kaolin du gésier de poulet (2g) et le proventricule de poulet (1.3g). La présure industrielle (2ml de solution mère) a été également utilisée pour la fabrication des échantillons de fromage.

Un volume d'un litre de lait cru de vache a été placé dans chaque Erlenmeyer de 2 litres de capacité. Ensuite, ils ont été chauffés modérément à une température de  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  sur une plaque chauffante. Les agents coagulants placés dans des gazes fines ont été ajoutés à différentes quantités et les Erlenmeyer ont été incubés dans l'étuve réglée à  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à coagulation. Le caillé ainsi obtenu a été placé dans un récipient poreux et pressé à la main pour accélérer l'égouttage.

### **1.2.2. Fabrication destinée à l'optimisation**

Un total de 74 échantillons de fromage a été préparé dans le laboratoire de microbiologie (Faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Mohamed Saddik BEN YAHYA de Jijel), en Algérie. Le procédé de fabrication a été réalisé selon la méthode traditionnelle et des échantillons ont été préparés dans différentes conditions, comme indiqué dans le protocole expérimental présenté dans les tableaux 3 et 4.

Un litre de lait cru de vache a été placé dans un Erlen Meyer de 2 litres de capacité et enrichi en différents pourcentages de poudre de lait à basse température (enrichissement en matière sèche). Ensuite, du chlorure de calcium a également été ajouté au mélange avec différentes concentrations. Les flacons ont été incubés dans un bain-marie à  $30^\circ\text{C}$  (prématuration) et le pH a été mesuré. L'incubation a été arrêtée lorsque les valeurs de pH souhaitées ont été atteintes. Ensuite, les échantillons ont été chauffés modérément à la température d'emprésurage et différents volumes de l'extrait brut enzymatique ont été ajoutés. Après coagulation, le moulage a été effectué en déposant le coagulum dans des moules similaires en plastique perforés. Ces dernières ont facilité l'évacuation du sérum lié au caillé. L'opération a pris quelques heures et dépendait de la cohérence requise des échantillons.

---

## **2. Caractérisation physicochimique et organoleptique du fromage traditionnel *J'ben***

### **2.1. Etude des caractéristiques du lait cru de vache collecté**

La qualité des laits collectés a été déterminée par étude de plusieurs paramètres physicochimiques :

-Le principe de détermination du pH de lait consiste en la mesure directe juste après la traite et dès l'arrivée des échantillons du lait au laboratoire à une température de +20°C à l'aide d'un pH-mètre (HI 2210 pH meter HANNA Instruments) (Seme et al. 2015).

- Le dosage de l'acidité titrable dans le lait a été réalisé selon la norme NF V 04-206 (AFNOR 1993) : 10ml de lait placé dans un Becher a été titré par une solution de soude Dornic (N/9) placée dans une burette en présence de quelques gouttes de phénol-phtaléine à 1% jusqu'à l'apparition d'une couleur rose très pâle persistante (10 secondes environ). L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) (Aissaoui-Zitoun 2014).

-La densité du lait a été déterminée à l'aide d'un thermo lactodensimètre selon la méthode suivante : le lait a été homogénéisé par transvasement en évitant la formation de la mousse. Il a été par la suite versé dans une éprouvette tenue inclinée. Le thermo lactodensimètre a été plongé doucement dans le lait en le retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre. Il doit flotter librement dans le lait (ne toucher ni le fond ni les parois de l'éprouvette). Dès que l'équilibre a été établi, la lecture de la densité brute a été faite au niveau supérieur du ménisque d'affleurement du lait sur la tige (Aggad et al. 2009).

- La détermination de la matière sèche a été réalisée par dessiccation d'une prise d'essai de 10 ml du lait, à une température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à obtention d'un poids constant de la prise d'essai analysée. Elle est exprimée en gramme par unité de volume (Koussou et al. 2007).

- Le lactose a été dosé par la méthode de Bertrand (1988) (AFNOR 1993) qui est une méthode titrimétrique. Son principe repose sur le titrage à chaud d'une solution de liqueur de Fehling (de couleur bleu en milieu basique) qui englobe des ions de cuivre  $\text{Cu}^{+2}$  en présence d'une solution réductrice. L'apparition d'une couleur rouge révèle la formation d'un précipité d'oxyde de cuivre  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Après défécation au ferrocyanure de zinc, le dosage du lactose a été réalisé sur le filtrat (Hamidi 2015).

---

-Pour la matière minérale, la matière sèche du lait a été incinérée à  $530^{\circ}\text{C}\pm^{\circ}20$  jusqu'à poids constant puis les cendres obtenues ont été pesées. Le résultat est exprimé en grammes de cendres par unité de masse selon la norme française (Siboukeur 2007).

-Concernant la matière grasse, elle est déterminée par la méthode acido-butyrométrique de Gerber à partir d'une prise d'essai de 11 ml du lait homogénéisé. La teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur la graduation du butyromètre et est exprimée en gramme par litre (Abi-Azar 2007).

- L'azote total a été déterminé par la méthode de Kjeldahl selon la norme NF V 04-221-1 (AFNOR 1993). Les molécules organiques sont complètement minéralisées à chaud en présence de l'acide sulfurique concentré et l'ammoniaque obtenue est distillée après alcalinisation. La teneur en protéines totales exprimée en gramme par unité de volume est obtenue en multipliant la teneur en azote total par un facteur de correction égal à 6.38 (Mathieu 1998).

## **2.2. Caractérisation physicochimique du fromage traditionnel *J'ben***

Les échantillons de fromage ont été analysés pour déterminer le pH, la matière sèche, l'humidité, la matière minérale, la matière grasse, les protéines, les acides aminés libres et le rendement fromager. Les résultats sont rapportés en moyenne de trois répétitions  $\pm$  écart-type.

### **2.2.1. Mesure du pH**

La détermination du pH a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre (HI 2210 pH meter HANNA Instruments) préalablement calibré par des solutions tampon (solutions à pH 4.00 et pH 7.00) à 0.01 unités de précision. La mesure a été réalisée par l'introduction des deux sondes de pH et de température directement dans l'échantillon de fromage à une température de 20 à 25°C (Aissaoui-Zitoun 2014).

### **2.2.2. Détermination de l'acidité titrable**

L'acidité titrable exprimée en degré Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ), ou en gramme d'acide lactique pour cent gramme de produit alimentaire a été déterminée après le titrage par une solution de NaOH (N/9) en présence de l'indicateur coloré phénolphtaléine à 1 % (p/v) sachant que 1 ml de la solution de NaOH correspond à 0.01 g d'acide lactique pour cent ou à  $10^{\circ}\text{D}$  (Aissaoui-Zitoun 2014). 10g de fromage ont été additionnés à 90ml d'eau distillée. Puis 10ml de la



---

solution homogénéisée a été titrée par une solution de NaOH (N/9) en présence de phénolphaléine à 1 % (p/v) (Bendimerad 2013).

### 2.2.3. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

La détermination de la matière sèche a été réalisée par un dessiccateur, son principe repose sur l'élimination de toute l'eau à une température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à obtention d'un poids constant de la prise d'essai analysée.

Une prise d'essai de 3 g de fromage (Norme algérienne : NA n° 10.54.14) a été étalée sur toute la surface d'une capsule en aluminium préalablement tarée. Cette préparation présente dans le dessiccateur a été placée dans une étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24 h.

La valeur de la matière sèche du fromage est exprimée en pourcentage (%). Elle est déterminée par la relation suivante :

$$\text{MS}(\%) = \frac{M_{\text{sec}}}{M_{\text{i}}} \times 100$$

Où  $M_{\text{i}}$  : masse de l'échantillon initial (g) ;  $M_{\text{sec}}$  : masse de l'échantillon sec (g) après passage dans l'étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Le taux d'humidité est par la suite calculé par la formule suivante :

$$\text{H}(\%) = 100 - \text{MS}$$

### 2.2.4. Détermination de la matière minérale

La détermination de la matière minérale dans le fromage a été réalisée selon la norme NF ISO 8070 (AFNOR 2004) cité par (Othman 2011) : 5 g de fromage ont été incinérées dans un creuset à une température de  $550^\circ\text{C}$  dans un four à moufle pendant 6 heures, par la suite les cendres contenues dans les creusets ont été transférées dans un dessiccateur puis pesées par une balance de précision. La teneur en cendre est déterminée par la formule suivante:

$$\text{MM}(\%) = \frac{(M_{\text{v}} - M_0)}{P} \times 100$$

Où  $M_{\text{v}}$ : masse à vide du creuset plus celle des cendres (g) ;  $M_0$  : masse à vide du creuset (g) ;  
 $P$  : poids du fromage (g).

---

### **2.2.5. Détermination de la matière grasse**

La matière grasse a été déterminée par la méthode de Gerber ou méthode acido-butyrométrique de VAN GULIK(Rhiat et al. 2011).

D'après la norme algérienne NA n°10.96.14, dans un contenant en verre préalablement taré, 3 g de chaque échantillon de fromage ont été introduits. Par la suite, le gobelet a été introduit dans la panse du butyromètre et le bouchon a été fixé au col. De l'acide sulfurique ( $d=1.22\text{g/mL}$ ,  $v=10\text{mL}$ ) a été ajouté par l'ouverture de la tige jusqu'à ce que le niveau d'acide dépasse le gobelet de 2 mm environ. Après avoir bouché l'ouverture de la tige, le butyromètre a été placé dans un bain d'eau à  $65^{\circ}\text{C}$ . Le butyromètre a été agité de temps en temps dans un plan horizontal jusqu'à dissolution complète de la prise d'essai. Ensuite, de l'acide sulfurique a été ajouté jusqu'au trait 35mL de la graduation en présence de 1mL d'alcool iso-amylque. Le butyromètre a été agité énergiquement dans un agitateur vortex pour rendre le liquide homogène et placé ensuite dans le bain d'eau pendant 5 min. Après centrifugation pendant 10 min le butyromètre a été placé de nouveau dans le bain d'eau pendant 5 min. La teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur la graduation du butyromètre et est exprimée en grammes pour 100 g de fromage.

### **2.2.6. Dosage de l'azote total**

La détermination de l'azote total a été effectuée selon la méthode de Kjeldahl. Dans un matras de Kjeldahl, 1 g de fromage a été introduit avec 2 g du catalyseur (mélange de sulfate de cuivre et sulfate de potassium) et 25mL de d'acide sulfurique concentré à 97%. Le mélange a été porté au chauffage jusqu'à ce que la couleur devienne limpide, à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral. Après refroidissement, le contenu du matras a été transversé dans une fiole de 100mL, le matras a été lavé avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml. 10mL du contenu de la fiole ont été introduits dans un matras avec 20mL d'eau distillée et 30mL de la soude à 35%.En parallèle, une solution d'acide borique à 0,1N avec 10 gouttes d'indicateur de Tashiro (de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin) a été ajoutée. La distillation s'est déroulée dans un appareil spécifique, elle a été arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition. L'excès des anions de borate a été titré avec une solution de HCl à 0.1N jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de Tashiro.

---

L'azote total est calculé selon la formule suivant :

$$\text{Azote total (NT) (\%)} = \frac{14.007 (\text{VE} - \text{VB}) \times \text{M HCl} \times 100}{\text{M} \times 1000}$$

Où VE : Volume en mL d'HCl nécessaire pour le titrage de l'échantillon ; VB : Volume en mL d'HCl nécessaire pour le titrage banc ; M HCl: Molarité de l'acide chlore hydrique utilisé pour le titrage ; 1000 : Facteur de conversion du millilitre vers le litre ; M : masse en g de la prise d'essai.

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

### **2.3. Détermination du rendement fromager**

Le rendement fromager (Rf) représente le pourcentage du poids total du fromage (kg) par rapport au poids initial du lait (kg)(Libouga et al. 2006).Il est calculé comme suit:

$$\text{Rf(\%)} = \frac{\text{poids du fromage}}{\text{poids du lait}} \times 100$$

### **2.4. Analyse sensorielle des fromages fabriqués**

Cette analyse a pour but principale de donner le profil sensoriel globale du fromage traditionnel *J'ben* à l'aide d'un jury de dégustation. Il s'agit d'identifier les caractéristiques organoleptiques des fromages fabriqués et de voir leurs degrés d'acceptabilité. Pour se faire, deux types de tests ont été choisis : le test hédonique et le test de classement.

Les deux séances de dégustation des échantillons de fromages fabriqués se sont déroulées sous des conditions normales dans une salle de laboratoire de recherche de la faculté science de la nature et de la vie Université de Mostaganem pour les échantillons fabriqués traditionnellement et dans une salle de laboratoire pédagogique de la faculté science de la nature et de la vie Université de Jijel pour les échantillons d'optimisation.

#### **2.4.1. Panel de dégustation (sujets)**

Notre panel de dégustation est constitué de 15 sujets recrutés selon leur motivation et leur disponibilité pour participer aux tests. Il est composé d'étudiants en post-graduation, des

---

ingénieurs du laboratoire, des doctorants et des enseignants familiarisés avec les fromages (certains d'entre eux ont fait une formation dans ce sens) et habitués à faire ce genre d'analyse. Les produits à l'odeur prononcée, comme les savons, les lotions et les parfums ont été évités par le panel de dégustation ainsi que de manger, de boire ou de fumer au moins 30 minutes avant l'analyse.

#### **2.4.2. Déroulement du test**

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

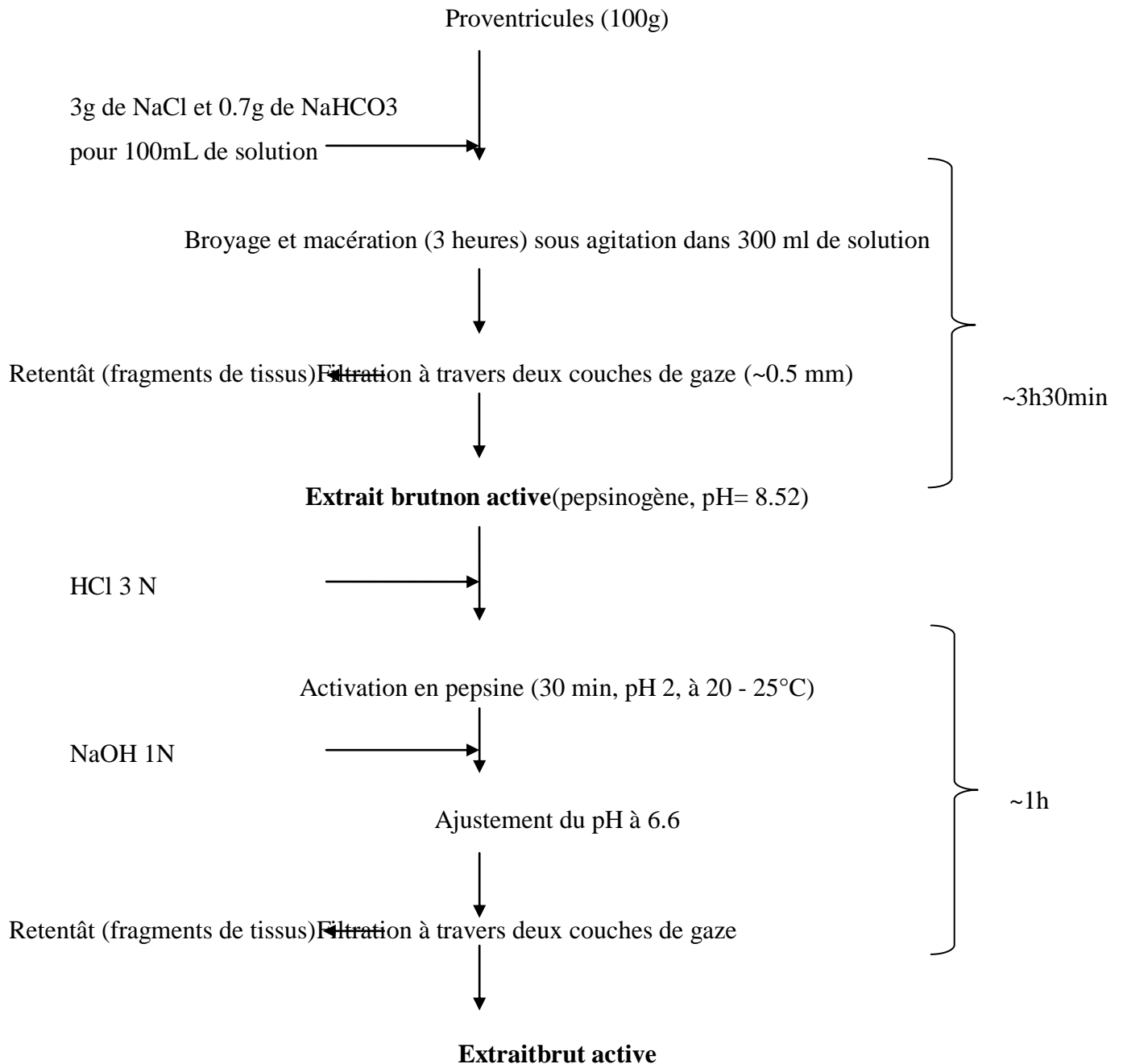
Les échantillons de fromage ont été présentés en même temps dans des contenants identiques et déposés dans un ordre aléatoire. Chaque échantillon de fromage est découpé en portions triangulaires de 10 g et représenté par un code distinct constitué de trois lettres à savoir, JCS (*J'ben* issu de la caillette séchée), JFC (*J'ben* issu de fleurs de chardon), JPP (*J'ben* issu de proventricule de poulet) et JPT (*J'ben* prélevé de la ferme) pour les échantillons de fromage destinés à l'étude comparative et JPA (*J'ben* optimisé), JPB (*J'ben* issu de proventricule de poulet), JPC (*J'ben* issu de fleurs de chardon), JPD (*J'ben* optimisé épicé à la menthe) et JPE (*J'ben* issu de la caillette séchée) pour les échantillons de fromages d'optimisation. Les dégustateurs ont évalué individuellement chaque fromage selon les caractères prédéfinis. Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent mâcher un morceau de pain et rincer la bouche avec de l'eau minérale afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent.

### **3. Extraction et caractérisation de l'enzyme coagulant le lait à partir de proventricule de poulet**

#### **3.1. Extraction d'enzyme**

L'extraction de la pepsine à partir des proventricules de poulet a été réalisée selon la méthode de Bohak (Bohak 1969). Brièvement, après une décongélation partielle au réfrigérateur à 4°C, les proventricules (100 g) ont été coupés, broyés et macérés dans une

solution (300 ml) contenant 9 g de NaCl et 2.1 g de NaHCO<sub>3</sub> dissous dans de l'eau distillée pendant trois heures. Après filtration, l'extrait brut de pepsinogène (filtrat) a été converti en une enzyme active en ajustant le pH à 2,0 avec du HCl 3N et reposé pendant 30 minutes à la température ambiante (20-25°C). Après activation, le pH a été ajusté à 6.6 avec NaOH 1N. La filtration a été répétée pour recueillir le filtrat sous forme d'extrait brut. La figure 8 résume les étapes d'extraction.



**Figure 8:** Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet selon la méthode de Bohak (Bohak 1969).

---

### 3.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction Rt relatif à l'extrait brut de pepsine de poulet est défini comme étant le rapport des unités de présure et de l'unité de masse de proventricules frais (Benyahia 2013). Il est déterminé selon la formule suivante (Boudjenah-Haroun 2012):

$$Rt = \frac{UP}{P}$$

Où UP : unité présure ; P : poids de proventricules frais.

### 3.3. Caractéristique de la présure de référence

Les déterminations effectuées sur l'extrait de proventricule sont en comparaison avec l'enzyme de référence -la présure- présentée sous forme de poudre. La poudre de présure a été reconstituée à 1 g dans 100mL d'eau distillée. Cette solution mère a servi à la préparation de dilutions de l'ordre de 0,1/100mL soit  $10^{-3}$  g de présure/mL d'eau distillée. Ceci est pour donner un temps de floculation compris entre 300 et 360 secondes (Green et al. 1984). Cette dilution sera ensuite servie à l'ensemble des différentes déterminations de notre étude.

### 3.4. Propriétés coagulantes de l'extrait enzymatique

#### 3.4.1. Activité coagulante et force coagulante

L'activité coagulante de l'extrait enzymatique brut a été déterminée par la méthode de Berridge (Berridge 1945) modifiée par Collin (Collin et al. 1977)(Figure 9). L'unité d'activité enzymatique ou unité de présure (UP), exprimée en UAC / ml, correspond au nombre d'unités de volume de lait (substrat de Berridge) coagulées par 1 mL de préparation coagulante en 100 secondes à 30 ° C. L'activité coagulante, donnée en U.A.C/ml, pour un même échantillon est exprimée par la moyenne arithmétique de trois répétitions.

La technique a été appliquée sur le substrat standard de Berridge et consiste à placer 1 ml de l'extrait enzymatique dans 10 ml de substrat de Berridge incubé à 30°C puis noter le temps de coagulation en secondes.

$$UP \text{ (UAC / ml)} = \frac{10 \times V}{T_c \times Q}$$

Où V : volume de substrat de Berridge (ml); Q : volume d'extrait enzymatique brut (ml); Tc: temps de coagulation (secondes).

---

Le substrat de Berridge a été préparé en dissolvant la poudre de lait de type "low heat" (0% de matière grasse) dans une solution de chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$  à 0.01 M et ajustement du pH à 6.5 à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH 0.1 N). Cette préparation a été réalisée à température ambiante avec agitation magnétique pendant 15mn suivi d'un repos pendant 60min. Le substrat standard a été réparti dans des tubes à essais, à raison de 10mL par tube, suivi d'une incubation dans le bain Marie à 30°C pendant 15min.

Lait écrémé en poudre « Low heat » (12 g  $\pm$  0.02 dissous dans 100 mL d'une solution aqueuse de  $\text{CaCl}_2$  0.01M

↓  
Agitation (15 min, agitateur magnétique 500 x g)

↓  
Repos (pendant 60 min à température ambiante)

↓  
Répartition (Dans des tubes à essais à raison de 10ml)

↓  
Incubation (dans un bain marie à 30°C /15min)

↓  
Addition de l'enzyme (1 mL est additionne par une micropipette)

↓  
Homogénéisation (Immédiate par une agitation manuelle rapide)

↓  
Trois retournements

Successifs après 3 s du temps Zéro

↓  
L'observation de l'apparition des  
Premiers flocons correspondant au temps de coagulation

---

**Figure 9 :** Mesure du temps de floculation par méthode de Berridge (Berridge 1945)modifiée par Collin (Collin et al. 1977).

La force coagulante (F), exprimée en unité Soxhlet (US), correspond au nombre d'unités de poids ou de volumes de lait coagulable en 40 min par une unité de poids ou de volume de préparation enzymatique à 35 °C (.Le procédé consiste à ajouter 1 mL d'extrait coagulant à 10 mL de substrat standard préparé, suivi d'une incubation dans le bain Marie à 35°C (Alais 1984). La force mesurée pour un même échantillon est la moyenne issue de trois essais répétés

$$F = \frac{2400 \times V}{T \times v}$$

Où V : volume de lait ; v: volume de l'extrait enzymatique; T: temps de coagulation en secondes ; 2400 : 40 x 60 secondes.

### **3.4.2. Estimation de la dilution coagulante**

Le pouvoir coagulant des protéases est déterminé par mesure de l'activité coagulante. Cette activité s'exprime par la rapidité avec laquelle l'enzyme employé coagule le lait. L'activité coagulante a été testée sur du lait écrémé comme substrat par mesure du temps de floculation à 30°C selon la méthode de Berridge (1945). Le procédé consiste à ajouter 1 mL de chaque extrait coagulant dilué à 10 mL de substrat standard préparé, suivi d'une incubation dans le bain Marie dans les conditions standards de mesure (température 30°C, pH 6.6 et Concentration en CaCl<sub>2</sub> 0.01M). L'extrait enzymatique testé est dilué pour donner un temps de floculation entre 300 sec et 360 sec (Green et al. 1984). Cette dilution sera ensuite servie à l'ensemble des différentes déterminations de notre étude.

### **3.5. Dosages des protéines**

La méthode de Lowry (Lowry et al. 1951) a été utilisée pour déterminer la teneur en protéines totales. Son principe repose sur l'apparition d'une coloration bleue foncé (mesure colorimétrique) dans une solution protéique après l'ajout d'un sel de cuivre en milieu alcalin avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette coloration est le résultat combiné de la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine et de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques. Les composants ainsi réduits absorbent la lumière à la longueur d'onde 750nm et leurs valeurs sont mesurées à l'aide d'un



---

spectrophotomètre visible. Une courbe d'étalonnage de référence établie en employant de l'albumine sérique bovine (BSA) (SIGMA, Allemagne) a été utilisée pour déterminer la concentration en protéines de l'échantillon analysé. Le teneur en protéines mesuré est la moyenne de trois déterminations. La teneur en protéines est exprimée en milligramme de protéines par millilitre d'extrait enzymatique.

### **3.6. Mesure de l'activité spécifique**

L'activité spécifique est exprimée par unités de présures totales rapportées à l'unité de masse de protéines selon la formule (Nouani et al. 2009):

$$\text{Ac spécifique} = \frac{\text{Unité de présure (UP)}}{\text{masse de protéines (mg)}}$$

### **3.7. Conditions optimales de coagulation**

Pour mieux caractériser le profil coagulant de l'extrait enzymatique, nous avons procédé à l'étude de la variation du temps de floculation en fonction des variations des facteurs du milieu réactionnel (pH, température et concentration en CaCl<sub>2</sub> et en poudre) ainsi que la concentration en enzyme. Le temps de floculation le plus court noté pour chaque paramètre offre une activité coagulante plus importante. Pour chaque paramètre étudié, l'activité coagulante a été déterminée en fonction des conditions standards de mesure (température 30°C, pH 6.6 et concentration en CaCl<sub>2</sub> 0.01M). La valeur de l'activité coagulante correspond à la moyenne de trois essais.

#### **3.7.1. Effet du pH sur le temps de floculation**

Le pH a été ajusté pour les valeurs de : 5.4 – 5.6 – 6.2 – 6.4 – 6.6 – 7 – 7.5 et 8 avec des solutions de HCl (0.2N) ou de NaOH (0.2N) dans des tubes contenant chacun 10 mL de substrat de Berridge de même préparation. Le pH final a été mesuré après 20 min d'agitation et 1 h d'incubation à température ambiante. Un volume de 1ml de la dilution enzymatique (extrait de proventricule, présure industrielle) a été rajouté et le temps de floculation a été déterminé (Gordin and Rosenthal 1978).

---

### **3.7.2. Effet de la température sur le temps de floculation**

Des tubes contenant 10 mL de substrat de Berridge ont été incubés dans un bain Marie, où les températures ont été fixées : 30- 35- 40- 45- 50- 55- 60- 65- 70°C (intervalle de 5°C). Après 5 minutes d'incubation, 1 mL de chaque dilution enzymatique (extrait de proventricule, présure industrielle) a été rajouté et le temps de floculation a été déterminé (Gordin and Rosenthal 1978).

### **3.7.3. Effet de la concentration en chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) sur le temps de floculation**

La vérification de la concentration en CaCl<sub>2</sub>, a été réalisée par la dissolution de 12 grammes du lait en poudre écrémé dans 100mL d'eau distillée contenant de 0.008-0.01-0.015-0.02-0.025-0.03-0.04 et 0.05 M de CaCl<sub>2</sub>. Les tubes contenant 10mL de solution à tester ont été mis dans le bain Marie puis 1mL de chaque dilution enzymatique (extrait de proventricule, présure industrielle) a été rajouté et le temps de floculation a été déterminé(Gordin and Rosenthal 1978).

### **3.7.4. Effet de la concentration en enzyme sur le temps de floculation**

La variation du temps de floculation en fonction de la concentration en enzyme a été déterminée en ajoutant au lait reconstitué des quantités d'extraits à des concentrations variables dans les conditions standards de mesure. Le temps de floculation correspondant à chaque concentration en enzyme a été noté.

### **3.8. Activité protéolytique**

La détermination de l'activité protéolytique de l'extrait coagulant se base principalement sur l'évaluation de la protéolyse résultante de l'action d'extrait enzymatique de proventricule sur une solution d'acide trichloracétique (TCA) à 12% (p/v) (Green and Stackpole 1975). Une solution de caséine bovine à 2% (p / v) a été préparée en ajoutant de la caséine bovine à un tampon citrate de sodium 0.1 M (pH 5.2). L'hydrolyse a été initiée par l'addition d'un volume de 1 mL de solution d'enzyme diluée (dilution des extraits enzymatiques avec la solution tampon citrate de sodium 0,1 M pH 5,2 jusqu'au niveau qui permet d'obtenir un même temps de coagulation de 15 minutes) à un volume d'un millilitre de la solution de caséine bovine. Le mélange a été incubé dans un bain Mari à 35 ° C pendant 60 minutes. Cette réaction conduit à la précipitation des protéines non hydrolysées et la libération des peptides de faible poids moléculaire. L'activité protéolytique a été quantifiée en évaluant

---

les peptides solubles dans une solution aqueuse de TCA à 12% (Bensmail et al. 2013; Hamidi 2015).

Le mélange réactionnel a été traité avec 5ml du TCA à 12% et laissé reposer pendant 30 minutes à 4°C. Ensuite, les produits d'hydrolyse ont été séparés par centrifugation à 14 900 g, à 4°C pendant 10 minutes. Un blanc a été préparé de la même manière mais le TCA a été ajouté avant l'addition d'enzyme. L'activité protéolytique a été basée sur la quantité de peptides libérés et elle a été déterminée en surveillant le changement d'absorbance à 280 nm.

Sur les 200µl du surnageant obtenu, on effectue le dosage de la tyrosine en mesurant l'absorbance à 280nm.

### **3.9. Etude de la stabilité enzymatique**

La stabilité d'extrait enzymatique brut a été déterminée en fonction de la température et le pH. L'activité coagulante résiduelle est exprimée en pourcentage par rapport à l'activité initiale, et est déterminée selon les conditions standards de mesure (Bensmail et al. 2013)(température 30°C, pH 6.6 et concentration en CaCl<sub>2</sub> 0.01M du substrat de Berridge).

La stabilité thermique a été étudiée en incubant l'extrait enzymatique à des températures variant de 30 à 90°C dans le tampon citrate de sodium (0.1M ; pH 5.2) pendant 30 min. La stabilité *vis-à-vis* du pH a été déterminée par la mesure de l'activité coagulante résiduelle de l'extrait brut maintenu pendant 24 heures à 4°C dans le tampon citrate de sodium (0.1M) à des pH varient de 2 à 9 (ajustement par HCl 0.1M et NaOH 0.1M) (Fernandez-Lahore et al. 1999; Nouani et al. 2009).

## **4. Optimisation de la fabrication du fromage traditionnel *J'ben***

La fabrication du fromage traditionnel algérien *J'ben* est affectée par plusieurs facteurs. Afin d'avoir les meilleurs performances au cours de la fabrication il est bien évident de déterminer ces facteurs et de les optimisés. Dans cette optique, La méthodologie pour surface de réponse (RSM) qui est une technique statistique efficace largement utilisé dans la modélisation mathématique a été appliquée pour optimiser la fabrication de ce fromage. Un modèle factoriel Plaquett-Burman a été appliqué afin d'évaluer les facteurs affectant significativement la fabrication du fromage *J'ben*. Et à l'aide du modèle Box- Behnken une corrélation mathématique a été développée entre les facteurs sélectionnés pour obtenir une

fabrication maximale du fromage traditionnel algérien J'ben (maximiser le rendement fromager).

#### 4.1. Etude des facteurs et utilisation du modèle Plackett-Burman (PB)

La fabrication du fromage traditionnel algérien *J'ben* passe par trois étapes principales soit : la pré-maturation du lait ; l'emprésurage et la coagulation. Ces différentes étapes sont influencées par plusieurs facteurs. Dans un but de sélectionner les facteurs qui influent significativement le plus la fabrication de ce fromage traditionnel et qui permettent d'obtenir un meilleur rendement fromager, nous avons décidé de faire appel à un plan de criblage. C'est un plan de premier degré permettant d'étudier un nombre élevé de facteurs et de sélectionner parmi ces facteurs ceux ayant une influence optimale sur une réponse en négligeant les interactions entre les facteurs. Nous avons choisi le modèle Plackett-Burman car c'est généralement le plus employé dans les études d'optimisation en raison de son minimisation de nombre d'essais (Plackett and Burman 1946).

Pour ce faire, cinq facteurs ont été étudiés indépendamment où chaque facteur a été représenté par deux niveaux ; le niveau (-1) représente la valeur minimale du facteur étudié et le niveau (+1) représente la valeur maximale. Les valeurs des facteurs examinés lors de cette étude ainsi que le domaine de variation sont précisés dans le tableau 3.

Tableau 3: Plage et niveau des variables codées pour le modèle Plackett-Burman.

Variables	Unités de mesure	Symboles	Niveau -1	Niveau +1
Enrichissement au lait en poudre	g L <sup>-1</sup> de lait cru	X1	0	15
pH du lait	/	X2	5	6.5
Concentration de CaCl <sub>2</sub>	%	X3	0.01	0.075
Dose d'extrait enzymatique	mL	X4	0.08	1
Température d'emprésurage	°C	X5	30	50

---

Le modèle Plackett-Burman est également utile pour évaluer la pertinence d'un modèle mathématique de premier degré (équation 1) :

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i \quad (1)$$

Où Y représente la réponse (le rendement fromager),  $\beta_0$  représente l'erreur du modèle et  $\beta_i$  représente l'estimation des variables. La réponse constitue la moyenne de deux essais du rendement fromager pour chaque expérience. L'effet  $\beta_i$  ayant la plus grande valeur avec un niveau de confiance supérieur à 95% correspond à l'élément le plus significatif  $x_i$  sur le rendement fromager.

#### **4.2. Optimisation des facteurs sélectionnés et utilisation du modèle Box-Behnken (BB)**

Après sélection des facteurs qui affectent la réponse (le rendement fromager) par le modèle Plackett-Burman, le modèle Box-Behnken a été appliqué afin d'optimiser les principales variables. C'est un modèle factoriel fractionnaire à trois niveaux développée par Box et Behnken (Box and Behnken 1960) qui permet non seulement de déterminer les valeurs optimales de chaque facteur mais également d'étudier les interactions entre ces différents facteurs (Chen et al. 2016), et de fournir les informations nécessaires à la conception d'un processus. C'est un bon modèle pour la méthodologie nommée surface de réponse (Ferreira et al. 2007).

Les quatre indépendants facteurs sélectionnés ont été présentés par trois niveaux codés par -1, 0 et +1 pour la valeur minimale, moyenne et maximale respectivement. Ces niveaux ont été établis après des essais préliminaires et à partir des données sur la fabrication du fromage traditionnel algérien *J'ben*. Le tableau 4 regroupe les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux.

**Tableau 4** : Plage et niveau des variables codées pour le modèle Box-Behnken.

<b>Facteur</b>	<b>Unité de mesure</b>	<b>Symboles</b>	<b>Niveau -1</b>	<b>Niveau 0</b>	<b>Niveau +1</b>
<b>Enrichissement au lait en poudre</b>	g L <sup>-1</sup> de lait cru	X1	10	15	20
<b>pH</b>	/	X2	5.75	6.25	6.75
<b>Dose d'extrait enzymatique</b>	mL	X3	0.5	1	1.5
<b>Température d'emprésurage</b>	°C	X4	40	50	60

Le plan Box-Behnken pour quatre facteurs a donné une matrice d'expérience composée de 27 essais. Toutes les expériences de la matrice ont été effectuées en double et les moyennes du rendement fromager forment les réponses.

Afin de prédire le point optimal, une fonction polynomiale de second ordre a été élaborée (équation 2). Cette fonction permet d'étudier la relation entre les variables indépendantes et la réponse (le rendement fromager). La forme générale de l'équation polynomiale du second ordre est la suivante :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 + \beta_{11} X_1 X_1 + \beta_{22} X_2 X_2 + \beta_{33} X_3 X_3 + \beta_{44} X_4 X_4 \quad (2)$$

Où Y est la réponse prédite (rendement fromager) ;  $\beta_0$  est la constante du modèle ;  $X_1, X_2, X_3$  et  $X_4$  sont les variables indépendantes ;  $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  et  $\beta_4$  sont les coefficients linéaires ;  $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}$  et  $\beta_{34}$  sont les coefficients d'interaction ;  $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$  et  $\beta_{44}$  sont les coefficients quadratiques.

#### 4.3. Validation expérimentale des conditions optimales

Les conditions optimales pour la production de fromage ont été déterminées par l'analyse de régression de la méthodologie de l'équation prédite de la surface de réponse. Des

---

essais expérimentaux ont été réalisés dans ces conditions optimales et les valeurs expérimentales obtenues ont été comparées à celles prédites par le logiciel pour déterminer la validité du modèle. Le résultat était la moyenne de trois répétitions.

#### **4.4. Analyse des données expérimentales**

Le logiciel JMP 10 (Statistical Analysis System Inc., SAS) a été utilisé pour faire une analyse de variance (ANOVA) entre les moyennes des résultats. Le niveau de signification a été pris à une probabilité inférieure à 0.05. L'analyse de régression des données expérimentales a été obtenue à l'aide du logiciel JMP 10. L'analyse statistique du modèle a été réalisée à l'aide de l'analyse de variance de Pareto (ANOVA). Cette analyse inclut le test de Fischer (signification du modèle global), sa probabilité associée  $p$  ( $F$ ) et le test de t-student qui détermine la signification statistique des coefficients de régression, le coefficient de corrélation  $R$  ( $R^2$  ajusté) et le coefficient de détermination  $R^2$  qui mesure la qualité de l'ajustement du modèle de régression. Pour chaque variable, les modèles quadratiques ont été représentés par des contours de tracé et des courbes de surfaces de réponse tridimensionnelles. Chaque expérience a été réalisée en double et le rendement moyen en fromage a été considéré comme une réponse ( $Y$ ).

---

# **RESULTATS ET DISCUSSION**



---

La coagulation du lait sous l'action d'enzyme est responsable de multiples changements biochimiques que connaissent les micelles de caséines particulièrement ce qui provoque par conséquent leur déstabilisation et agrégation.

Plusieurs études sont menées sur la coagulation du lait par la présure, cependant, l'étude de la coagulation du lait par la pepsine issue de proventricule de poulet comme substituant de la présure ainsi que la caractérisation du fromage traditionnel algérien *J'ben* semble très peu étudié.

Notre travail a pour but l'optimisation de la fabrication du fromage traditionnel *J'ben*. Pour répondre à cet objectif, nous avons, tout d'abord, commencé par l'étude des caractéristiques physicochimiques du fromage traditionnel algérien *J'ben*. Par la suite, nous avons fait une extraction de la pepsine à partir des proventricules de poulet et une caractérisation de cet extrait enzymatique brut en comparaison avec la présure industrielle (présure de référence). A la fin, nous sommes passés à l'optimisation de la fabrication du fromage par l'utilisation de la méthodologie pour surface de réponse (RSM).

## **1. Caractéristiques physicochimiques du lait cru de vache collecté**

Les résultats des caractéristiques physicochimiques des laits crus de vache collectés utilisés pour la fabrication des différents échantillons de fromage *J'ben* sont donnés dans le tableau 5 (les valeurs correspondent aux moyennes de trois échantillons avec leurs écart-types respectives).

**Tableau 5:** Analyses physico-chimiques des échantillons de lait cru de vache collectés.

	<b>Lait cru de vache</b>			
<b>Paramètres</b>	<b>Lait 1</b>	<b>Lait 2</b>	<b>Lait 3</b>	<b>Lait 4</b>
<b>pH</b>	6.7 <sup>a</sup> ± 0.02	6.68 <sup>a</sup> ± 0.01	6.67 <sup>a</sup> ± 0.003	6.7 <sup>a</sup> ± 0.01
<b>Acidité (°D)</b>	16.43 <sup>a</sup> ± 0.4	17.53 <sup>a,b</sup> ± 0.03	18.16 <sup>b</sup> ± 0.15	17.93 <sup>c</sup> ± 0.11
<b>Densité</b>	1.029 <sup>a</sup> ± 0.0005	1.031 <sup>a,b</sup> ± 0.0005	1.032 <sup>a,b</sup> ± 0.0005	1.031 <sup>b</sup> ± 0.001
<b>Matière sèche (g L<sup>-1</sup>)</b>	126.73 <sup>a</sup> ± 0.23	122.63 <sup>a,b</sup> ± 1.36	130.03 <sup>a,b</sup> ± 5.48	133.26 <sup>b</sup> ± 2.41
<b>Matière minérale (gL<sup>-1</sup>)</b>	5.7 <sup>a</sup> ± 0.3	6.26 <sup>a</sup> ± 0.23	6.53 <sup>a,b</sup> ± 0.25	6.63 <sup>b</sup> ± 0.2
<b>Lactose (gL<sup>-1</sup>)</b>	53.03 <sup>a</sup> ±0.3	44.70 <sup>b</sup> ± 0.2	44.93 <sup>b</sup> ± 0.37	41.53 <sup>c</sup> ± 0.2
<b>Matière grasse (g L<sup>-1</sup>)</b>	29.63 <sup>a</sup> ± 0.3	34.23 <sup>a,b</sup> ± 1.34	39.96 <sup>b</sup> ± 1.9	37.06 <sup>c</sup> ± 2.4
<b>Protéines totales (gL<sup>-1</sup>)</b>	36.03 <sup>a</sup> ± 0.35	31.30 <sup>b</sup> ± 0.9	31.23 <sup>b</sup> ± 1.33	30.50 <sup>b</sup> ± 0.78

Le lait utilisé pour la fabrication des échantillons de fromage destinés à l'étude : comparative de la qualité physicochimique (Lait 1) ; par le modèle statistique Plackett-Burman(Lait 2) ; par le modèle statistique Box Behnken (Lait 3) ; de la qualité organoleptique après optimisation (Lait 4).

Pour chaque paramètre : les moyennes suivies de la même lettre ne présentent aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) ; les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

### 1.1.pH et acidité du lait

Les valeurs du pH des différents échantillons de lait collectés sont proches l'une de l'autre (autour de 6.68). Sur le plan statistique, nous remarquons qu'il n'existe aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) (tableau 5) entre les pH des différents échantillons de lait étudiés. Ceci peut être dû à l'identité de la végétation et du climat dans les régions de collecte. Nous constatons que nos résultats sont globalement similaires à ceux rapportés par Lapointe-

---

Vignola(2002)(entre 6.6 et 6.8) et par Cazet (2007) (6.5 et 6.7 à 20°C). Cependant, nous avons constaté que les valeurs sont légèrement élevés de ceux rapportées par certains auteurs dans d'autres pays tels que (Kra et al. 2013) en Côte d'Ivoire (pH égale à 6.59) et Labioui et al (2009), au Maroc (pH égale à 6.50).

Le lait de vache est plus acide comparativement avec le lait humain qui a un pH égale à 7.01. Par contre, il est moins acide comparativement avec le lait de chamelle qui a un pH égale à 6.31 (Siboukeur 2007). Les variabilités du pH ainsi que le goût du lait peuvent être liées à la nature des fourrages et de la disponibilité de l'eau. Ils sont également liés au stade de lactation, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite (Gorban and Izzeldin 1997).

En ce qui concerne l'acidité titrable, elle diffère d'un échantillon de lait à l'autre. Elles varient entre 16.34 et 18.16 °D. Sur le plan statistique, nous remarquons que les valeurs de l'acidité titrable des différents échantillons de lait étudiés sont significativement différentes ( $p < 0,0001$ ) (tableau 5). Ces valeurs se situent dans la fourchette des travaux menés sur le lait de vache. Labioui et al (2009) rapportent des valeurs proches de nos résultats, soient 16.75 et 17.2°D, respectivement. Alors que les travaux de Kra et al (2013) signalent des tendances plus élevées (les valeurs varient entre 18 et 21°D).

Le lait bovin se caractérise par un effet tampon moins élevé (Abu-Tarboush 1996) ce qui explique la relation directe entre le pH et l'acidité titrable. En fait, le faible abaissement du pH du lait affecte l'équilibre des minéraux (solubles et insolubles) ce que agit sur la stabilité de la suspension colloïdale de caséine. De plus, les variabilités du pH et d'acidité du lait dépendent principalement de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions (Alais 1984). Elles sont également dues à la variation de l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales et à la période de lactation (Abu-Tarboush 1996).

## **1.2.Densité du lait**

Les valeurs de la densité des échantillons de lait varient entre 1.029 et 1.032. Ces valeurs sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) (tableau 5) sur le plan statistique et se situent dans la fourchette des travaux menés sur le lait de vache (1,030 à 1,034) (Florence 2010). Nos résultats concordent également avec ceux rapportés par Kamoun (1991).

---

Cazet (2007) a rapporté que la densité semble dépendre de la richesse en matière sèche du lait. Cette proportion augmente avec la présence des lipides qui sont moins denses que l'eau et donc provoquent la diminution de la densité globale du lait. Dans ce même sens, des valeurs de densité supérieures aux valeurs usuelles peuvent être atteintes dans un lait écrémé. Cependant, un lait écrémé mouillé pourra donc avoir une densité inférieure qui tend vers le 1 (De Oliveira 2007). La variabilité des valeurs de la densité entre les différents échantillons de laits étudiés peut être attribuée à la fréquence d'abreuvement qui influe directement ce paramètre (Siboukeur 2007).

### **1.3. Matière sèche du lait**

La teneur en matière sèche diffère d'un échantillon de lait à l'autre. Elle varie entre 122.63 et 133.26 gL<sup>-1</sup>. L'étude statistique a révélée que les valeurs de la matière sèche des différents échantillons de lait étudiés sont significativement différentes (p<0,05) (tableau 5). Ces résultats se situent dans la fourchette des travaux menés sur le lait de vache (entre 125 et 135gL<sup>-1</sup>) (Lapointe-Vignola 2002; Wolter 1997). Ils semblent du même ordre de grandeur que ceux rapportés par d'autres auteurs, à savoir, 128 gL<sup>-1</sup>(Alais 1984); 132 gL<sup>-1</sup>(De Oliveira 2007) et plus élevée que ceux rapportés par Labioui et al (2009) : 117.5 gL<sup>-1</sup>.

La variabilité des valeurs de la matière sèche entre les différents échantillons de laits étudiés peut être causée par le changement saisonnier (concentration plus élevée pendant l'hiver que pendant l'été) et donc de l'état de déshydratation (augmentation de la teneur en eau avec diminution de la teneur en matière grasse)(Pacholek et al. 2000). Le stade de lactation affecte la teneur en matière sèche du lait(Bengoumi et al. 1994). De plus, cette dernière diminue suivant le vêlage durant le mois et augmente avec l'augmentation de la teneur en matière grasse et en azote (Anonyme 1995).

### **1.4.Matière minérale du lait**

Les échantillons de lait étudiés donnent des valeurs de matière minérale variantes de 5.7 à 6.63 gL<sup>-1</sup>, qui font partie de la fourchette des travaux menés sur le lait de vache (entre 6 et 9 gL<sup>-1</sup>)(Lapointe-Vignola 2002). Ces valeurs paraissent faible que celles rapportées par d'autres auteurs (9 gL<sup>-1</sup>selon Alais 1984); (7.8 gL<sup>-1</sup>selon Kra et al (2013) ; 7.2 gL<sup>-1</sup>selon De Oliveira (2007). L'étude statistique a révélée que les valeurs de la matière minérale des différents échantillons de lait étudiés sont significativement différentes (p<0,05) (tableau 5).

---

Le lait est caractérisé par sa richesse en minéraux (matière minérale) nécessaires pour la croissance. Le calcium, le phosphore, le potassium et le chlore sont les plus représentés en termes de quantité. Les minéraux se trouvent soit en association avec la fraction insoluble colloïdale (tels que calcium, phosphore, soufre et magnésium) soit en solution dans la fraction soluble (tels que sodium, potassium et chlore). Certains minéraux existent à la fois libres dans la fraction soluble (calcium et magnésium ionisés), associés sous forme saline (phosphates et citrates) non dissociée (calcium et magnésium), et sous forme de complexe d'esters phosphoriques et phospholipides (Florence 2010).

### **1.5.Lactose du lait**

Le dosage du lactose nous a permis d'obtenir des valeurs qui varient de 41.53 à 53.03 gL<sup>-1</sup>. Ces valeurs sont significativement différentes (p<0,0001) (tableau 5) sur le plan statistique. Elles se situent dans la fourchette des travaux rapportés par de nombreux auteurs à savoir 43.51 gL<sup>-1</sup>(Labioui et al. 2009), 49.0 gL<sup>-1</sup>(Mathieu 1998) et entre 48 et 50 gL<sup>-1</sup>(Florence 2010). Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Kra et al (2013) qui ont noté une teneur en lactose qui varie de 27.3 à 34.3 gL<sup>-1</sup>.Cependant, ils paraissent similaires à ceux rapportés par Valérie (2007).

Le lactose est l'hydrate de carbone principal du lait. C'est un disaccharide composé de glucose et de galactose qui se caractérise par une faible saveur sucrée. Il est présent dans le lait sous forme libre en quantités importantes. La variation de sa teneur dans le lait est légère en se comparant avec la teneur en matière grasse. Le lactose joue un rôle important dans la fermentation où il est hydrolysé par la lactase et les acides forts. Les oligosaccharides (glucose et galactose) sont souvent présents dans le lait en quantités négligeables (0.1 gL<sup>-1</sup>). Des lait allégés en lactose (90% de lactose en moins) ont été récemment mis sur le marché et sont adressés aux personnes qui développent des signes d'intolérance au lactose (Florence 2010).

### **1.6.Matière grasse du lait**

Les valeurs révélées pour la teneur en matière grasse des échantillons du lait étudiés varient de 29.63 à 39.96 gL<sup>-1</sup>. Sur le plan statistique, nous remarquons une différence très significative (p< 0,05) (tableau 5) entre les valeurs de la teneur en matière grasse des différents échantillons du lait étudiés. Ces valeurs se situent dans la fourchette des travaux menés sur le lait de vache (varie de 28,5 à 32,5 gL<sup>-1</sup>avancé par(AFNOR)(AFNOR 2001). Nos

---

résultats concordent avec ceux rapportés par d'autres auteurs (de 35 à 45 gL<sup>-1</sup> selon Florence (2010); 32.6 gL<sup>-1</sup> selon Kra et al (2013); 31.5 gL<sup>-1</sup> selon Labioui et al (2009)).

La matière grasse du lait appelée taux butyreux est présente sous forme de globules gras suspendus dans l'eau (émulsion). Cette structure est assurée grâce à une couche de phospholipides qui entoure chaque globule gras et empêche leur regroupement. La destruction de cette structure par des moyens mécaniques provoque le regroupement des globules gras à la surface du lait sous forme d'une couche de crème. La matière grasse du lait se caractérise par la présence des acides gras à courtes chaînes (moins de 8 atomes de carbone) (Florence 2010). Elle contient des composés liposolubles encore nommés «substance lipophile» (hydrocarbures, d'alcools et de vitamines liposolubles). Cette fraction insaponifiable représente moins de 1% de la matière grasse du lait (Lupien 1998). Cependant, la fraction saponifiable représente plus de 98% de la matière grasse du lait.

La détermination de la teneur en matière grasse du lait permet d'évaluer sa qualité et d'apprécier la valeur beurrière (Hamidi 2015). La variabilité des valeurs de la matière grasse entre les différents échantillons de laits étudiés dépendent essentiellement des conditions climatiques, du stade de lactation, de la race de la vache, de l'alimentation ainsi que du rang de la traite (Labioui et al. 2009). Dans ce même sens, un lait issu de la traite du matin est relativement pauvre en matière grasse par rapport à celui issu des autres traites, tandis que quantitativement plus important (Kamoun 1994).

### **1.7. Protéines totales du lait**

Les résultats consignés dans le tableau V indiquent des teneurs en protéines totales variantes de 30.50 à 36.03 gL<sup>-1</sup>. Sur le plan statistique, nous remarquons une différence très significative ( $p < 0,05$ ) (tableau 5) entre les valeurs de la teneur en protéines totales des différents échantillons du lait étudiés. Ces valeurs semblent beaucoup plus élevées en comparaison avec le lait humain (12 gL<sup>-1</sup>) (Boudjenah-Haroun 2012). Les résultats que nous avons relevé lors de la présente étude se rapprochent des résultats des travaux cités par Kra et al (2013) et Florence (2010) à savoir de 36.1 à 37.8 gL<sup>-1</sup> et de 34 à 35 gL<sup>-1</sup>, respectivement.

Il est important de rappeler que les protéines (taux protéique) sont les constituants majoritaires de la matière azotée totale du lait avec un pourcentage de 90% contre 10% de l'azote non protéique. La valeur élevée du taux protéique favorise le rendement de transformation fromagère. Les protéines du lait comportent les caséines avec un pourcentage

de 80% et les protéines solubles (lactalbumines, lactoglobulines, sérum albumines, immunoglobulines...) avec un pourcentage de 20%(Florence 2010).

Les variations de la teneur en protéines dépendent de la race de vache et de la teneur en matière grasse. En effet, ces deux paramètres sont étroitement liés dans le lait. Plus la teneur en matière grasse est élevée, plus la teneur en protéines totales est élevée (Florence 2010).

## 2. Caractérisation de l'enzyme coagulant le lait extrait à partir de proventricule de poulet

Les caractéristiques de l'extrait brut de pepsine de poulet obtenu après extraction, ainsi que celles de la présure sont regroupées au tableau 6.

**Tableau 6:** Activités enzymatiques de l'extrait brut de pepsine de poulet par comparaison à la présure.

Caractéristiques	Extrait brut de pepsine de poulet (moyenne ± écart-type)	Présure industrielle (moyenne ± écart-type)
Activité coagulante (UAC mL <sup>-1</sup> )	3.06 <sup>b</sup> ± 0.05	3.53 <sup>a</sup> ± 0.07
Force coagulante (US)	1638 <sup>b</sup> ± 65.98	4533 <sup>a</sup> ± 461.88
Activité protéolytique (µg mL <sup>-1</sup> )	5.41 <sup>a</sup> ± 0.13	3.49 <sup>b</sup> ± 0.13
Protéines (mg mL <sup>-1</sup> )	28.62 ± 0.49	-
Activité spécifique (UP mg <sup>-1</sup> )	0.10 ± 0.0005	-

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes (p<0,05)

### 2.1. Rendement d'extraction

La détermination du rendement d'extraction est très nécessaire pour juger l'adoption de la méthode d'extraction dans un but d'évaluer à la fois le coût et l'efficacité de la méthode utilisée (Hamidi 2015).

Le protocole appliqué pour l'extraction de l'enzyme coagulant le lait (pepsine) à partir du proventricule de poulet consiste en une macération des proventricules (pendant 3 heures)

---

dans une solution saline (de concentration 3.7%) suivi d'une activation du pepsinogène en pepsine après ajustement du pH (à 6.6). ces conditions d'extraction concordent avec les résultats obtenus par Tavares et al (1997) qui ont déterminés les conditions optimales d'extraction. Il s'agit d'une solution de NaCl de 2.5-3.0%, un temps de macération de 3 heures et un ajustement de pH des extraits enzymatiques à 6-6.9.

A partir de 100g de proventricules, et pour une solution d'extraction de 300mL nous avons récupéré 280mL d'extrait enzymatique brut. 1g de proventricules est macéré dans 3mL de la solution d'extraction soit un rapport de 1:3.

Le rendement d'extraction rapporté au volume d'extrait et à l'unité de masse de proventricules frais est de 857.08 unités présure totales et 8,57 unités présure totales par gramme de proventricules frais respectivement. Environ 1638 litres de lait pourrait être coagulé par un litre de cet extrait brut. Cependant, 0.361 litres de présure de force coagulante 4533US selon nos résultats pourrait coaguler cette même quantité de lait. Sachant que le rendement obtenu (1638US) et la force de présure utilisée comme référence (4533US) constituent un rapport d'environ 1/2.8

Ces résultats obtenus nous permettent de valider les conditions d'extraction adaptées. Mais il semble nécessaire d'optimiser les conditions d'extraction pour augmenter le rendement. La valeur du rendement d'extraction obtenue est intéressante mais inférieure de celle obtenue par Benyahia (2013) qui a obtenu un rendement de 168,168 unités présure totales par gramme de proventricules frais.

Dans ce même sens et à titre de comparaison des activités coagulantes, le rendement d'extraction de la présure d'agneau non sevré (56.713 unités présure totales) est relativement élevé que celui de la présure d'agneau nourri uniquement d'herbes (30.308 unités présure totales). Ainsi le rendement d'extraction (481.4 unités présure totales par gramme de présure) rapporté à la masse de présure d'agneau non sevré de 261,4g est significativement élevée ( $p < 0,05$ ) par rapport à celui obtenu de la masse de présure d'agneau après sevrage 245.7g (269.3 unités présure totales par gramme de présure). Le type d'alimentation des animaux (au lait ou aux herbes) est responsable de cette différence (Moschopoulou et al. 2009).

Cependant, Moschopoulou et al(2004) rapporte que la force coagulante d'un extrait de présure d'agneau obtenue après macération dans une solution d'extraction à un rapport de 1:3, pendant 24 h est de 3340US alors que nous avons obtenu une force de 1638US après 3 heures



---

de macération. A des rapports de 1 :5 et 1 :7, il a obtenu un extrait de présure de force 2260US et 1540US, respectivement.

Il serait intéressant d'étudier la croissance du proventricule selon l'âge du poulet, le type d'alimentation ainsi, d'autres solutions de macération ainsi que les conditions d'extraction dans un but d'optimiser le rendement d'extraction.

## **2.2. Activité coagulante**

D'après les résultats illustrés dans le tableau 6, l'extrait brut de pepsine de poulet renferme une activité coagulante exprimée en unités d'activité coagulante (UAC mL<sup>-1</sup>) égale à 3.06 et une force coagulante correspondante exprimée en unité Soxhlet (US) égale à 1638. Ces résultats sont proches de celles obtenues dans ces mêmes conditions de la présure de référence qui possède une activité coagulante égale à 3.53UAC mL<sup>-1</sup> et une force coagulante correspondante égale à 4533US. Nous remarquons sur le plan statistique, une différence très significative ( $p < 0,0001$ ) (tableau 6) entre les activités enzymatiques de l'extrait enzymatique brut de pepsine de poulet étudiée et celles de la présure.

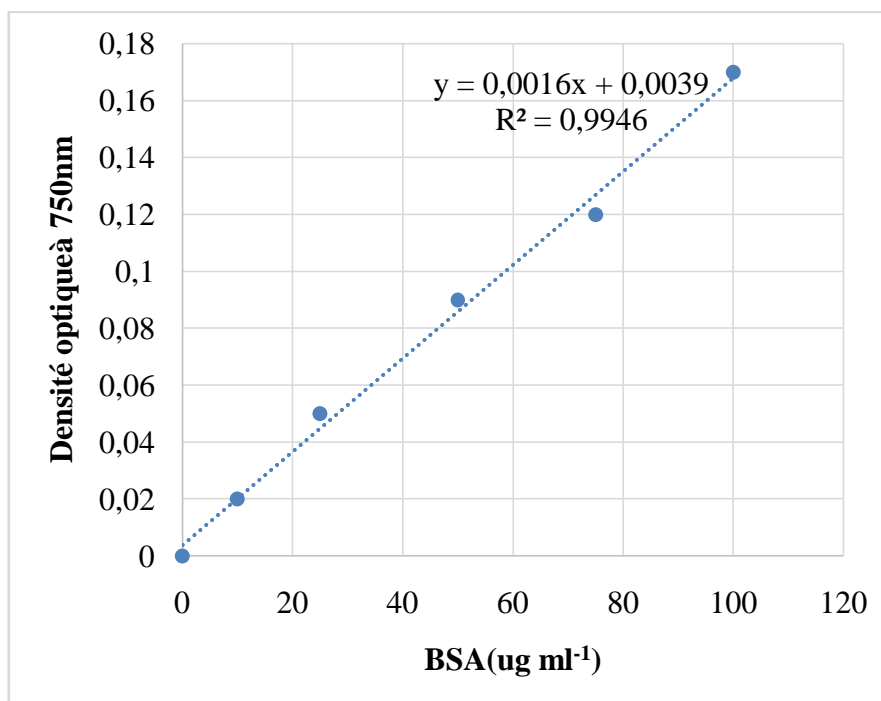
Nos résultats sont inférieurs de ceux rapportés par Benyahia (2013) qui a obtenu un extrait brut de pepsine de poulet avec une activité coagulante égale à 60.06UAC mL<sup>-1</sup> et une force coagulante correspondante égale à 13142US contre une activité coagulante égale à 323.62UAC mL<sup>-1</sup> et une force coagulante correspondante égale à 70815US de la présure de référence.

Cependant, Hamidi (2015) qui a travaillé sur la coagulation du lait du dromadaire par un extrait enzymatique brut issu de la couche de kaolin du gésier des poules rapporte que l'activité coagulante de cet extrait égale à 0.27UAC mL<sup>-1</sup> et que la force coagulante correspondante égale à 60.71US. Ces valeurs sont inférieures à nos résultats.

## **2.3. Teneur en protéines de l'extrait enzymatique brut**

Le protocole d'extraction d'enzyme adopté permet la précipitation des protéines présentes dans cet extrait enzymatique sous l'effet de la solution d'extraction. Cette solution saline de force ionique élevée (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) provoque une diminution de la solubilité des protéines et favorise les interactions entre ces dernières. Ce phénomène appelé le salting-out ou le relargage, aboutit à la précipitation des protéines en préservant la stabilité de leur structure native (sans dénaturation) (Cohn and Edsall 1943). La méthode de Lowry et al (1951) est utilisée pour doser les fractions protéiques précipitées par le spectrophotomètre.

Cette méthode repose sur l'apparition d'une coloration bleue foncé (mesure colorimétrique) est le résultat combiné de la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine et de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques (Delobette et al. 1991). Les composants ainsi réduits absorbent la lumière à la longueur d'onde 750 nm. La teneur en protéine est déterminée grâce à une courbe d'étalonnage de référence établie en employant de l'albumine sérique bovine (figure 10) et est présentée dans le tableau 6.



**Figure 10:** Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines par la méthode de Lowry et al(1951).

D'après la figure 10, la teneur en protéines de notre extrait enzymatique brut est de 28.62mg mL<sup>-1</sup>. Cette valeur est faiblement inférieure de celle obtenue par Benyahia (2013) qui rapporte une teneur en protéines de 35.40mg mL<sup>-1</sup> d'extrait brut de pepsine de poulet. Par ailleurs, l'extrait enzymatique issu de la couche du kaolin possède une faible teneur en protéines égale à 10.51mg mL<sup>-1</sup> (Hamidi 2015).

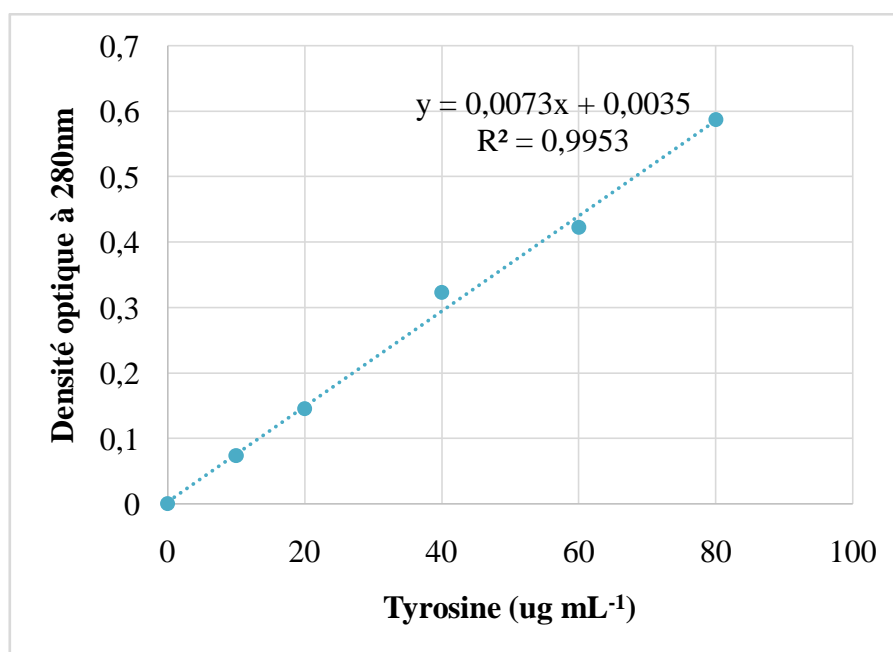
#### 2.4. Activité protéolytique

L'extrait brut à pH 8,5 issu de proventricules de poulet renferme le broyats de glandes sécrétrices d'enzymes appelées glandes à mucus. Cet enzyme sous forme inactive appelé pepsinogène (Alamargot 1982)est activé (pepsine) après acidification à pH 2 et détachement

du site actif. La pepsine constitue l'unique protéase présente dans le suc gastrique du proventricule de poulet (Larbier and Leclercq 1992).

En industrie fromagère, les coagulases de différentes origines (animales, végétales ou microbiennes) sont utilisées pour l'hydrolyse de la caséine et par conséquent la coagulation du lait (Alais 1984). Cependant et du fait d'apparition de certains défauts de goût et de texture liés à une activité protéolytique élevée dans les enzymes coagulantes, il est préférable d'utiliser les enzymes ayant une activité coagulante élevée et une activité protéolytique faible (Ramet 1997).

Pour cela, nous avons étudié l'activité protéolytique de l'extrait brut de pepsine de poulet avec la présure de référence comme témoin, en utilisant la méthode décrite par Green and Stackpoole (1975). Les résultats de l'activité protéolytiques sont obtenus grâce à une courbe d'étalonnage de référence (figure 11) établie en employant de tyrosine et sont portés sur le tableau 6.



**Figure 11:** Courbe d'étalonnage pour la détermination de l'activité protéolytique par la méthode de Green and Stackpoole (1975).

En se basant sur nos résultats nous constatons que l'activité protéolytique de l'extrait brut est presque le double de celle de la présure animale, en effet, nous avons obtenu des valeurs de  $5.41 \mu\text{g mL}^{-1}$  pour l'extrait brut de pepsine de poulet contre uniquement  $3049 \mu\text{g mL}^{-1}$  pour la présure de référence. Cette différence est due de l'origine et de la nature des

---

protéases présentes. Ces résultats concordent avec celles obtenues par des auteurs qui ont confirmé que l'activité protéolytique de la pepsine de poulet est plus élevée que celle de la présure (Benyahia 2013; Gordin and Rosenthal 1978).

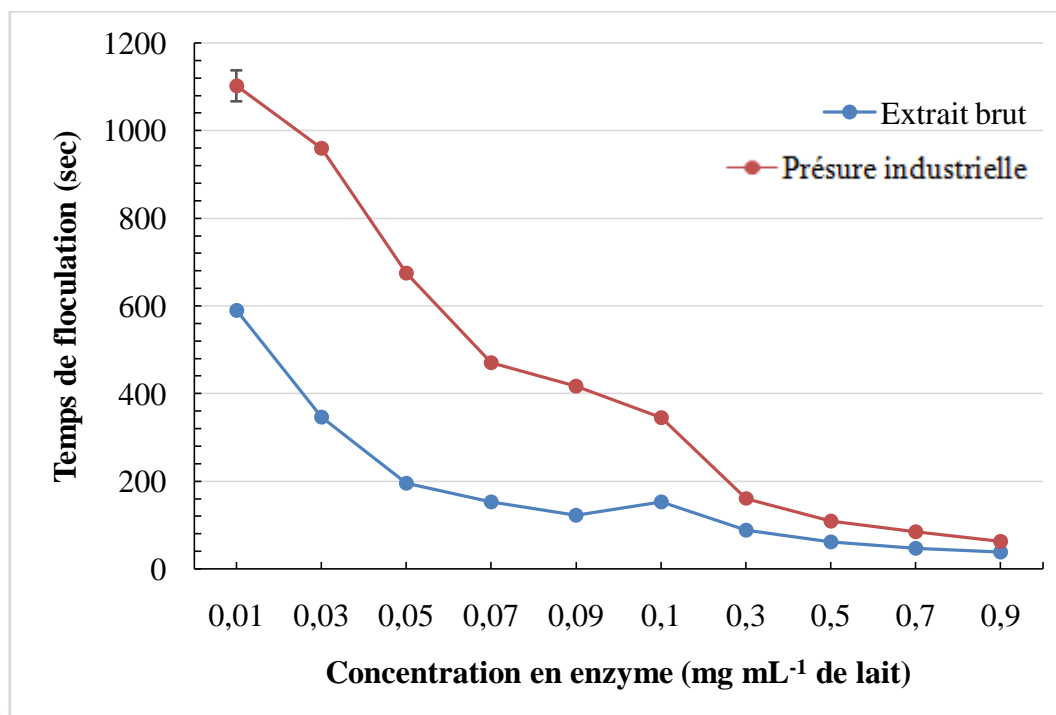
En effet, Gouda et al (1988), ont montré que l'activité protéolytique de la pepsine de poulet après standardisation du temps de floculation à 4 minutes, est de  $14,36 \mu\text{g mL}^{-1}$  contre  $0,63 \mu\text{g mL}^{-1}$  pour la présure. D'autre part, Moschopoulou et al (2007) ont indiqué que l'activité protéolytique de la pepsine porcine est la plus élevée comparativement à celles des pepsines ovines bovines. Dans ce même sens, Baudys and tKostka (1983) ont trouvé une grande similitude dans l'activité protéolytique entre la pepsine de poulet et la pepsine porcine. En se basant sur ces résultats, nous pouvons constater que l'activité protéolytique de la pepsine de poulet est assez élevée comparativement aux pepsines des autres espèces.

La pepsine de poulet pourrait être utilisée comme substituant de chymosine dans la fabrication de fromage et son activité coagulante pourrait être contrôlée et suivie par l'utilisation de pepstatine A, un hexapeptide qui a un effet inhibiteur pour la plupart des protéases aspartique du à son association au site actif de la protéase de façon non covalente (Fusek and Vetvicka 2005).

## **2.5. Conditions optimales de coagulation**

### **2.5.1. Effet de la concentration en enzyme sur le temps de floculation**

L'effet de la concentration en enzyme sur le temps de floculation est étudié en ajoutant au lait reconstitué (substrat de Berridge) des quantités d'extrait enzymatique brut à des concentrations variables de  $0.01$  à  $0.9 \text{ mg mL}^{-1}$  de lait dans les conditions standards de mesure (température  $30^\circ\text{C}$ , pH 6.6 et concentration en  $\text{CaCl}_2$   $0.01\text{M}$ ). Cela donne une diminution du temps de floculation de 589 à 38 secondes. Pour le même intervalle de concentration étudié, l'étude de l'effet de concentration en présure montre une diminution du temps de floculation de 1102 à 62 secondes. La figure 12 illustre les variations du temps de floculation en fonction de la concentration en pepsine de poulet et en présure.



**Figure 12:** variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la concentration en extrait brut de pepsine et de présure.

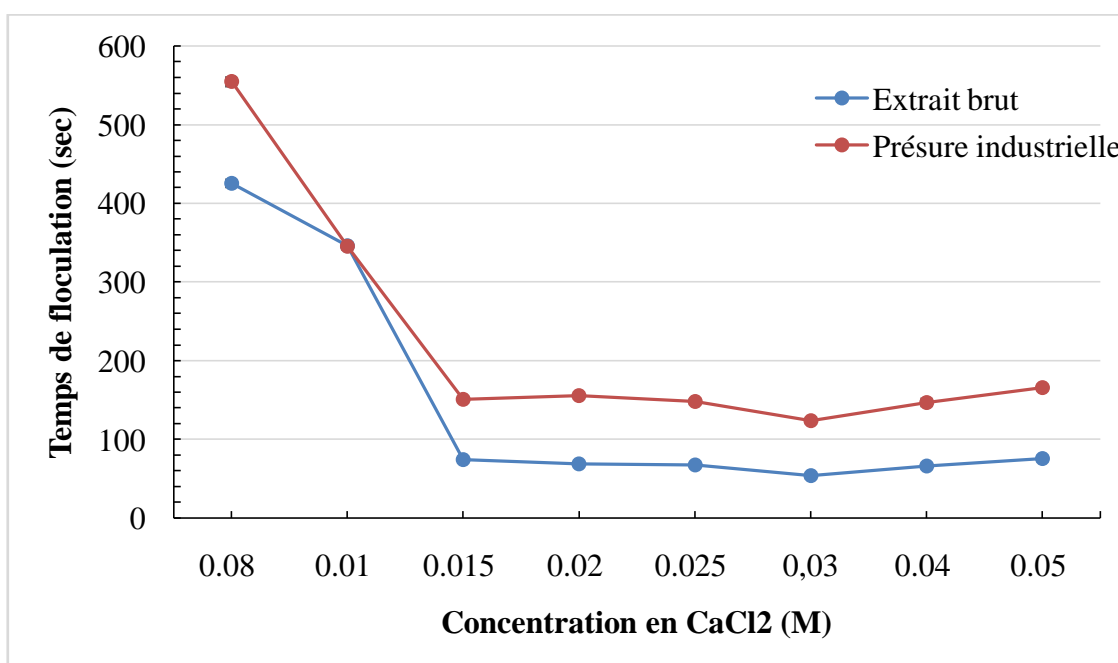
L'apparence des courbes montre que le temps de floculation est inversement proportionnel aux concentrations en pepsine de poulet comprises entre 0.01 à 0.05mg mL<sup>-1</sup> de lait. Pour le reste des concentrations comprises entre 0.05 à 0.9mg mL<sup>-1</sup> de lait, le temps de floculation diminue de plus en plus et délie vers une valeur constante.

Concernant la concentration en présure, l'apparence des courbes de la figure 12 montre qu'elle suit presque la même tendance, où le temps de floculation diminue à l'inverse des concentrations en présure comprises entre 1102.33 et 160.66mg mL<sup>-1</sup> de lait. Pour les concentrations en présure comprises entre 160.66et62.66 mg mL<sup>-1</sup> de lait, le temps de floculation est de plus en plus court et tend vers une valeur constante.

Les résultats représentés montrent que les protéases acides semblent exercer le même effet de concentration en enzyme sur le temps de floculation. Ces observations sont confirmées par Silva and Malcata (2005) qui ont étudié l'effet de la concentration en enzyme d'extrait de plantes sur le temps de floculation dans les conditions standards de mesure (température 30°C, pH 6.4 et concentration en CaCl<sub>2</sub> 0.01M).

### 2.5.2. Effet de la concentration en CaCl<sub>2</sub> sur le temps de floculation

L'effet de la concentration en CaCl<sub>2</sub> sur le temps de floculation est étudié sur le lait reconstitué (substrat de Berridge) à différentes concentrations de CaCl<sub>2</sub> (de 0.08 M à 0.05M) dans les conditions standards de mesure (température 30°C, pH 6.6 et concentration en pepsine de poulet 0.03mg mL<sup>-1</sup> de lait et en présure 0.1mg mL<sup>-1</sup> de lait). La figure 13 illustre les variations du temps de floculation en fonction de la concentration en CaCl<sub>2</sub> pour pepsine de poulet et pour la présure.



**Figure 13:** variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la concentration en CaCl<sub>2</sub> pour l'extrait brut de pepsine et de présure.

La courbe montre trois zones distinctes. La première zone se caractérise par une diminution progressive du temps de floculation notée de 425 à 74 secondes pour l'extrait de pepsine et de 554 à 151 secondes pour la présure à des concentrations en CaCl<sub>2</sub> allant de 0.08 à 0.015M. La deuxième zone délimitée par l'intervalle de concentration en CaCl<sub>2</sub> allant de 0.015 à 0.03M se caractérise par une diminution modérée du temps de floculation notée de 74 à 54 secondes et de 151 à 125 secondes pour l'extrait de pepsine et pour la présure, respectivement. La troisième zone délimitée par l'intervalle de concentration en CaCl<sub>2</sub> allant de 0.03 à 0.05M est cependant marquée par une augmentation dans le temps de floculation pour les deux enzymes. Le temps de floculation le plus court est atteint à une concentration en CaCl<sub>2</sub> du substrat de Berridge égale à 0.03M pour l'extrait de pepsine et la présure. Nos

---

résultats concordent à ceux rapportés par Boudjenah-Haroun (2012) qui a trouvé une concentration optimale de  $\text{CaCl}_2$  égale à 0.03M pour le lait de chamelle et de vache. Gordin and Rosenthal (1978) ont trouvé que l'activité coagulante de la pepsine de poulet et de la présure était relativement accrue pour des concentrations élevées en  $\text{CaCl}_2$  (de 0.015 à 0.025M). Il a été montré que l'addition de  $\text{CaCl}_2$  joue un rôle sur la teneur en eau du fromage. La diminution de la concentration en  $\text{CaCl}_2$  provoque une inhibition de l'activité coagulante de la pepsine de poulet plus que celle de la présure.

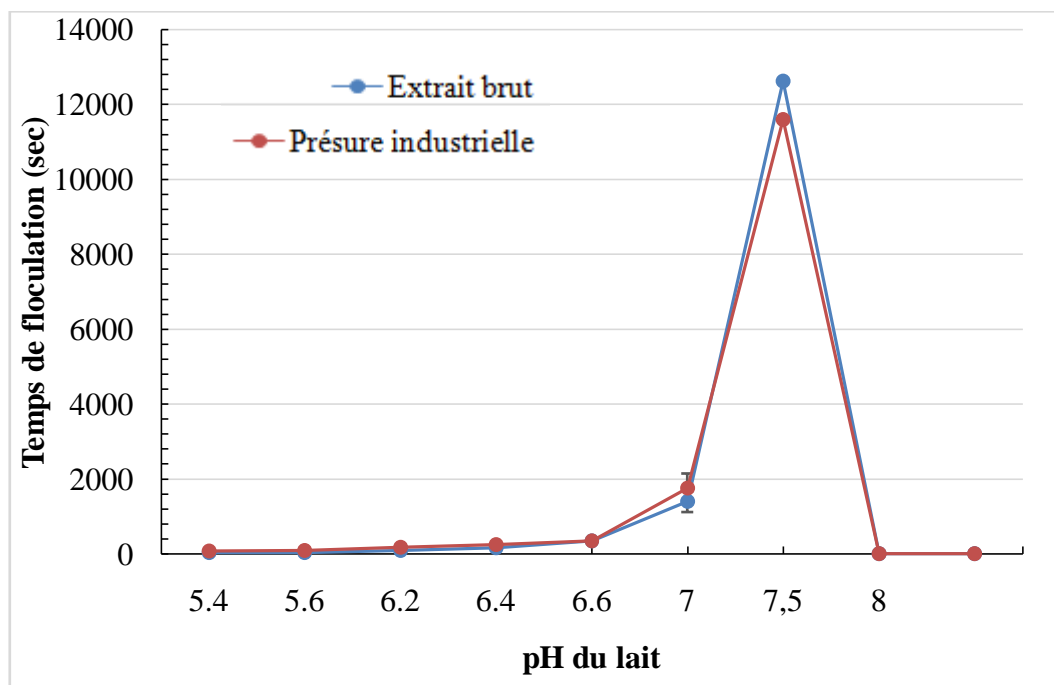
La coagulation du lait nécessite la présence de calcium ionisé qui joue un rôle important dans l'accomplissement de la phase secondaire de coagulation ce qui provoque l'apparition de la floculation une très basse hydrolyse de la caséine Kappa(Ramet 1994).

Le temps de coagulation accélère et la fermeté du gel présure augmente avec l'addition du calcium du fait de la neutralisation de la charge négative de la surface des micelles après formation des ponts calciques (Lagaude et al. 2004; Nájera et al. 2003; Ramet 1991).

En fromagerie, dans certaines régions et à certaines saisons, le chlorure de calcium est additionné au lait afin de corriger les insuffisances en coagulation que peuvent présenter des laits frais (Lenoir et al. 1997).

### **2.5.3. Effet du pH d'emprésurage sur le temps de floculation**

Il est bien reconnu depuis longtemps que l'acidité du lait constitue un paramètre critique de la fabrication du fromage. L'effet du pH du lait sur le temps de floculation est étudié en ajustant le lait reconstitué (substrat de Berridge) à des valeurs de pH différentes comprises entre 5.4 et 7.5 dans les conditions standards de mesure (température 30°C, concentration en  $\text{CaCl}_2$  0.01M et concentration en pepsine de poulet 0.03mg mL<sup>-1</sup> de lait et en présure 0.1mg mL<sup>-1</sup> de lait). Les données obtenues sont portées sur la figure 14.



**Figure 14:** variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction du pH pour l'extrait brut de pepsine et de présure.

L'augmentation de l'acidité du lait s'accompagne de la diminution du temps de floculation, obtenue en utilisant l'extrait de pepsine de poulet dans l'intervalle de pH étudié. La variation du temps de floculation en fonction de l'utilisation de la présure suit la même tendance (Figure 14), pour le même intervalle de pH. En effet, l'évolution du temps de floculation en fonction de l'utilisation de la présure est représentée par une courbe présentant une allure comparable à celle obtenue en utilisant l'extrait de pepsine de poulet.

A pH 5.4, le plus faible temps de floculation est enregistré à 24 secondes et à 66 secondes environ pour l'extrait de pepsine et la présure, respectivement. Le temps de floculation de l'extrait de pepsine mesuré à cette valeur de pH est 14.23 fois élevé de celui obtenu à pH 6.6 (pH du lait), contre 5.21 fois élevé pour la présure. En effet les résultats rapportés par Green et al (1984) confirment ce rapport entre l'abaissement du pH et la diminution du temps de floculation pour la pepsine de poulet.

Aux valeurs de pH comprises entre 5.6 et 7 nous notons une augmentation modérée du temps de floculation d'une manière identique passant de 29 à 1391 secondes pour l'extrait de pepsine et de 79 à 1749 secondes pour la présure. Au-delà de la valeur de pH 7, nous remarquons une haute augmentation du temps de floculation à 12629 secondes et 11160



---

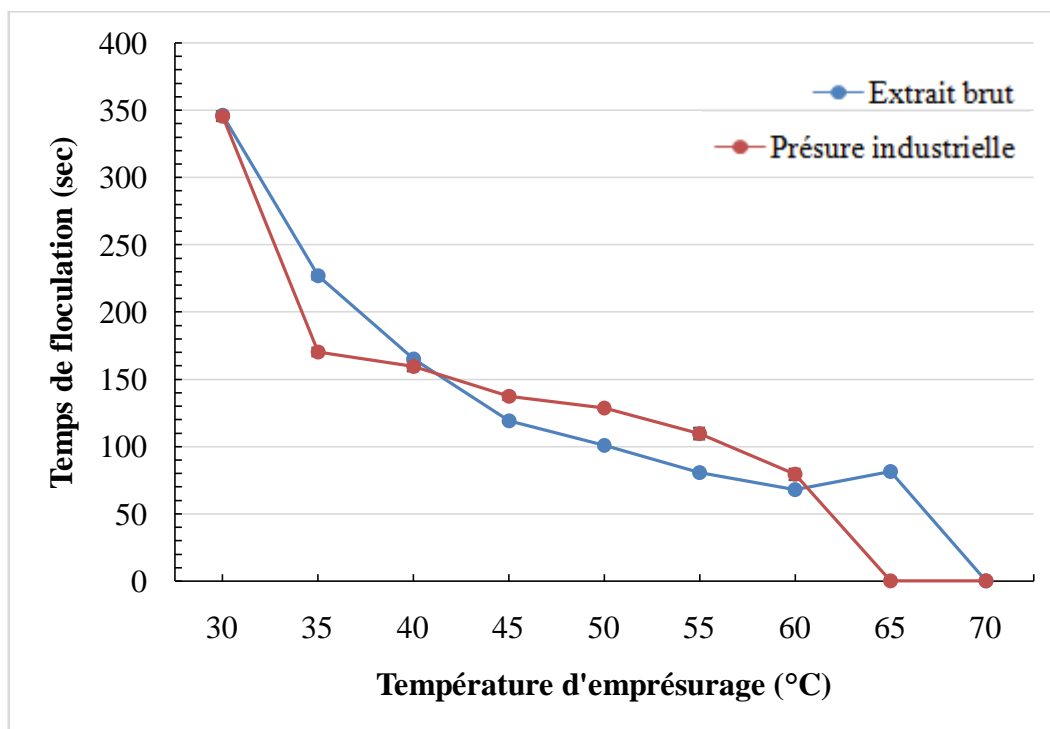
secondes pour l'extrait de pepsine de poulet et pour la présure, respectivement. L'optimum de pH est noté à des valeurs variantes de 5.4 à 5.6 pour l'extrait de pepsine et la présure.

En industrie fromagère, le choix des enzymes coagulants se base sur leur capacité à coaguler le lait aux valeurs de pH proches de son pH naturel (environ 6,7) afin de réduire la quantité d'enzyme utilisée (Green et al. 1984). A cette valeur de pH, la fermeté du gel présure augmente (Larsson and Andréon 1997).

L'abaissement du temps de floculation suite à l'acidification du lait résulte de l'effet de l'activité d'enzyme sur la caséine Kappa qui s'hydrolyse à pH 5.1 - 5.3 (Nájera et al. 2003) ce qui provoque une réduction de la répulsion électrostatique entre micelles liée à la neutralisation des charges négatives, à l'augmentation de la concentration des ions  $\text{Ca}^{++}$  à partir des complexes dissous et colloïdaux (Larsson and Andréon 1997; Ramet 1997).

#### **2.5.4. Effet de la température d'emprésurage sur le temps de floculation**

L'effet de la température d'emprésurage du lait sur le temps de floculation est étudié sur le lait reconstitué (substrat de Berridge) par mesure du temps de floculation à différentes températures d'emprésurage (de 30 à 70°C) dans les conditions standards de mesure (pH 6.6, concentration en  $\text{CaCl}_2$  0.01M et concentration en pepsine de poulet  $0.03\text{mg mL}^{-1}$  de lait et en présure  $0.1\text{mg mL}^{-1}$  de lait). La figure 15 présente les variations du temps de floculation en fonction de la température.



**Figure 15:** variations du temps de floculation du substrat de Berridge en fonction de la température pour l'extrait brut de pepsine et de présure.

En général, plus la température d'emprésurage du lait est grande, plus le temps de floculation est court. Dans l'intervalle de température allant de 30°C à 40°C, une diminution progressive du temps de floculation passant de 346 à 165 secondes pour l'extrait de pepsine de poulet et de 345 à 159 secondes pour la présure.

La réponse des deux enzymes aux changements de température comprises dans l'intervalle de température allant de 45 à 60°C était la même. Cette deuxième zone se caractérise par un temps de floculation noté de 118 à 62 secondes et de 137 à 79 secondes pour l'extrait de pepsine et la présure, respectivement. Au-dessus de cette valeur, l'activité de présure a fortement diminué par rapport à celle de la pepsine de poulet. Il est à noter que la pepsine de poulet et la présure sont inactives à des valeurs de températures supérieures à 65 °C et 60°C, respectivement. Dans nos conditions de travail, l'optimum de température est compris entre 55 et 60 °C pour les deux enzymes. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Cogan et al (1982) ayant rapporté que la température optimale pour la coagulation du lait par la pepsine de poulet est atteinte à 55°C. Ceci peut résulter de l'augmentation de l'activité enzymatique du fait du changement de la structure

---

tridimensionnelle du substrat ce qui facilite l'accès à l'enzyme et accélère la phase enzymatique de la coagulation(Benyahia 2013).

Les travaux de Moschopoulou et al (2007) montrent qu'à des températures avoisinantes 46°C la pepsine de chevreau, la pepsine de veau et celle de l'agneau restent actives. La pepsine de chevreau est inactive au-delà de cette température. Cependant, la chymosine du chevreau et celle de veau restent encore active jusqu'à 62°C à pH 6,2. Les enzymes coagulantes purifiés sont plus sensibles et moins résistantes aux températures élevées. C'est pour cette raison qu'il est recommandé d'utiliser des protéases ovines et bovines sous formes brutes dans la fabrication des fromages(Benyahia 2013).

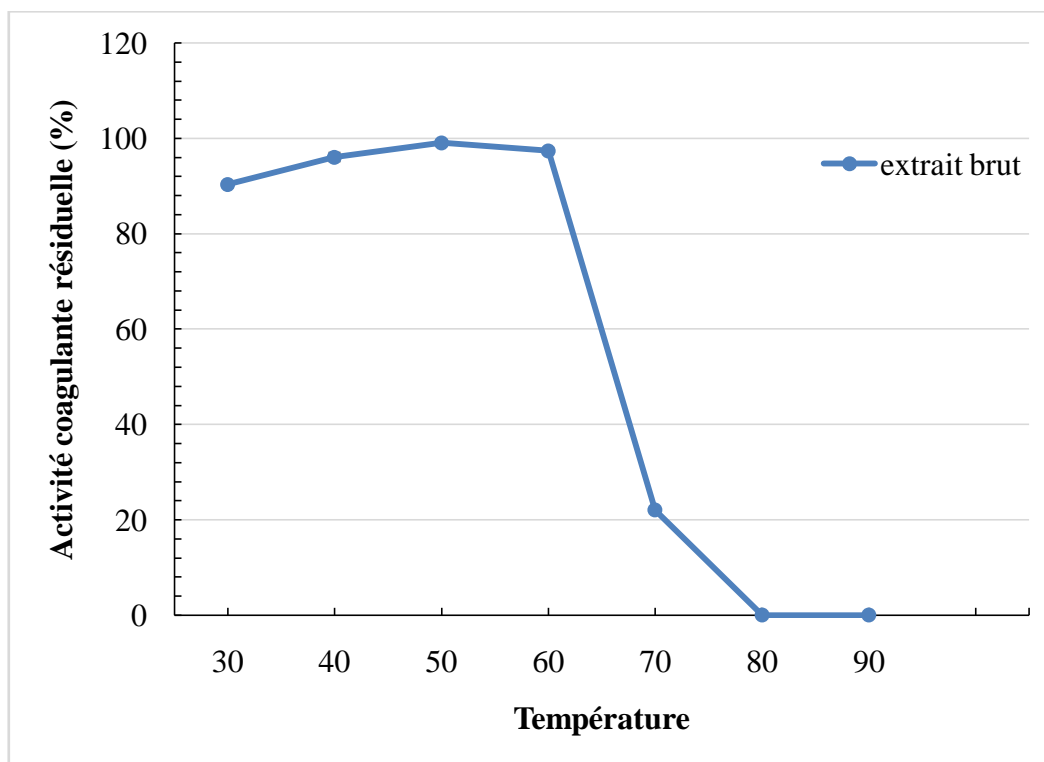
Il est à noter que la coagulation du lait ne peut être atteinte qu'à des températures supérieures ou égales à 18°C suite à l'effet important des interactions hydrophobes dans l'agrégation des micelles hydrolysées(Lucey 2002a).

D'autres travaux réalisés par Lucey (2002b) montrent que la coagulation du lait par la présure est optimale à une température de 45°C. La fermeté du gel est obtenue à une température optimale comprise entre 30 à 35°C. Au-dessous de 15°C, la fermeté du gel devient très faible du fait de la séparation de la caséine Beta des autres micelles(Benyahia 2013).

## **2.6. Stabilité enzymatique**

### **2.6.1. Stabilité thermique**

L'effet de la température sur la stabilité de l'extrait de pepsine de poulet est présenté dans la figure 16.

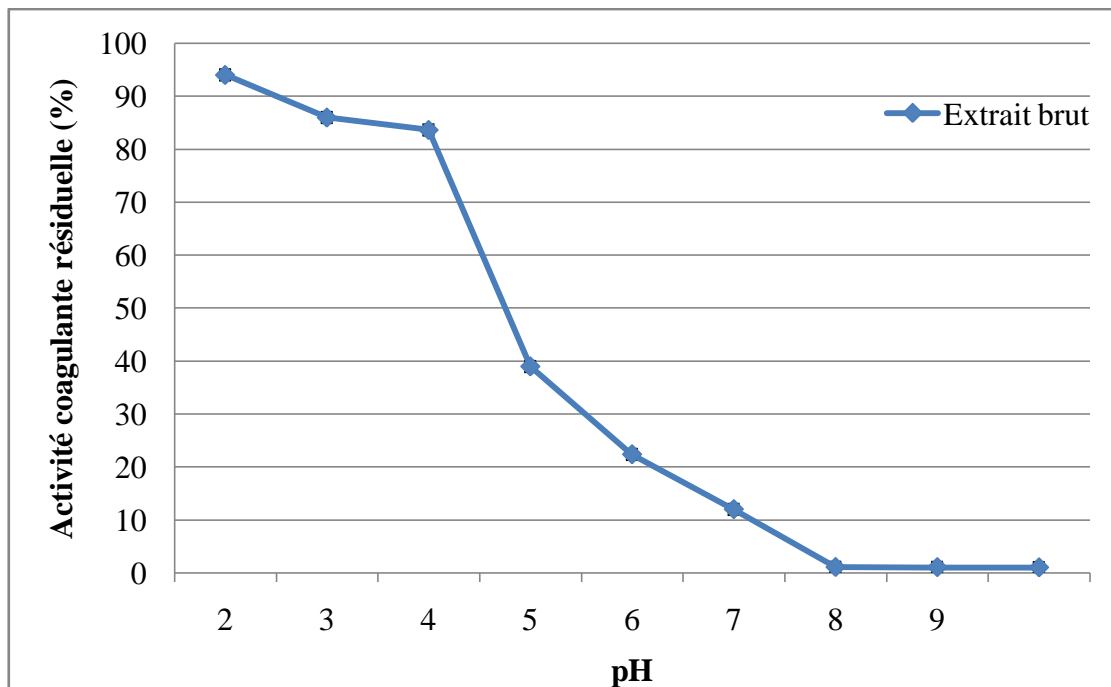


**Figure 16:** Stabilité thermique de l'extrait enzymatique brut de pepsine de poulet après 30 minutes d'incubation.

Nos résultats montrent que l'activité coagulante résiduelle de l'extrait de pepsine de poulet augmente de 90.37 à 96.07% à l'intervalle de température compris entre 30°C à 40°C après incubation de l'extrait de pepsine dans le tampon citrate de sodium (0,1M) pendant 30 minutes. A une température de 60°C, l'extrait de pepsine est thermiquement stable et conserve 97.45% de son activité coagulante résiduelle. Au-delà de cette température, l'extrait de pepsine de poulet retient seulement 22.05% de son activité coagulante résiduelle. Nous notons que l'extrait de pepsine de poulet est sensible aux températures élevées du milieu réactionnel et il perd complètement son activité coagulante résiduelle à une température de 80°C. Cette inhibition totale est le résultat de la dénaturation de la structure moléculaire de l'enzyme. La même gamme de stabilité (30 et 60°C) est indiquée par (Merheb et al. 2007; Singh et al. 1994) concernant les protéases d'*Aspergillus. niger* F2078 et celle du *Thermoascus auranticus*. Cependant, les résultats rapportés par Bensmail et al (2013) montrent que l'extrait brut d'*Aspergillus. niger* est thermiquement stable jusqu'à une température de 45°C. Au-delà de cette température, l'extrait brut perd son activité coagulante résiduelle.

### 2.6.2. Stabilité vis-à-vis du pH

Les résultats de l'étude de la stabilité d'extrait pepsine de poulet vis-à-vis le pH du milieu réactionnel (figure 17) montrent que l'extrait de pepsine garde son activité coagulante résiduelle stable (entre 94.06 et 83.66%) dans la plage de pH comprise entre 2 à 4 après incubation pendant 24 heures à 4°C dans le tampon citrate de sodium (0,1M). Au-delà de cet intervalle, l'activité coagulante résiduelle se réduit de manière drastique (11.99%) à pH 7 et elle est inhibée à pH 8. Les résultats rapportés par Nouani et al (2009) concernant l'activité coagulante résiduelle des extraits d'artichaut et du latex de figuier après 24h d'incubation à 4°C montrent une stabilité (70-100%) de ces extraits dans la plage de pH comprise entre 3 à 7. Au-delà de cette valeur de pH, les extraits sont inhibés. Des résultats similaires ont été rapportés par Sidrah et al (2005) après 60 heures d'incubation des extraits enzymatiques à 25°C. D'autre part, Bensmail et al (2013) ont montré que l'enzyme coagulante d'*Aspergillus niger* reste stable dans l'intervalle du pH compris entre 3 à 5, après incubation dans le tampon citrate de sodium (0,1M) pendant 24 heures à 4°C.



**Figure 17:** Stabilité vis-à-vis du pH de l'extrait enzymatique brut de pepsine de poulet après 24 heures d'incubation à 4°C.

---

### **3. Optimisation de la fabrication du fromage traditionnel *J'ben***

Des approches d'optimisation séquentielles ont été appliquées pour améliorer le rendement du fromage (production de fromage). Le premier concernait la recherche des facteurs affectant la fabrication et le rendement en fromage *J'ben*. La seconde consistait à optimiser les facteurs permettant d'obtenir un meilleur rendement fromager.

#### **3.1. Evaluation des facteurs affectant le rendement fromager**

Cette partie est basée sur l'utilisation du modèle statistique Plackett-Burman (impliquant un modèle de premier ordre) afin de sélectionner des facteurs ayant un effet significatif sur le rendement en fromage *J'ben*. Au cours de cette recherche, 5 facteurs sont sélectionnés dans ce processus d'optimisation et chaque facteur est représenté par deux niveaux. Les variables indépendantes étudiées, ainsi que leurs niveaux bas et élevés, sont présentés dans le tableau 3. La matrice développée par le modèle statistique (modèle de plan) et les moyennes du rendement fromager (%) des différentes expériences sont présentées au tableau 7. L'effet de chaque variable est estimé comme étant la différence entre les deux moyennes de mesures effectuées au niveau haut (+1) et au niveau bas (-1) de ce facteur.

En fait, les données du tableau 7 montrent une grande variation, le rendement fromager varie de 13.84 à 38.48%. Cette variation a permis d'optimiser les conditions de fabrication afin d'obtenir un rendement plus élevé. Suite à l'analyse des données obtenues, le niveau de confiance et l'effet des facteurs étudiés sur le rendement fromager sont présentés au tableau 8 et illustrés par la figure 18.

**Tableau 7 :** Modèle expérimental Plackett–Burman pour l'évaluation des facteurs affectant le rendement fromager Rf (%).

Essai	Variables					Rf(%)
	Enrichissement au lait en poudre (g <sup>L</sup> <sup>-1</sup> )	pH du lait	Concentration en CaCl <sub>2</sub> (%)	Dose d'extrait enzymatique( mL)	Température d'emprésurage (°C)	
<b>01</b>	15	6.5	0.075	1	50	38.48
<b>02</b>	0	6.5	0.01	1	50	19.08
<b>03</b>	0	5	0.075	0.08	50	18.62
<b>04</b>	15	5	0.01	1	30	31.7
<b>05</b>	0	6.5	0.01	0.08	50	17.16
<b>06</b>	0	5	0.075	0.08	30	13.84
<b>07</b>	0	5	0.01	1	30	18.64
<b>08</b>	15	5	0.01	0.08	50	31.84
<b>09</b>	15	6.5	0.01	0.08	30	33.84
<b>10</b>	15	6.5	0.075	0.08	30	32.84
<b>11</b>	0	6.5	0.075	1	30	15.56
<b>12</b>	15	5	0.075	1	50	33.48

**Tableau 8 :** Coefficient de régression, erreur standard et résultats du test t-student du modèle statistique Plackett Burman pour le rendement fromager (%).

Paramètres	Estimation	Erreur standard	Rapport $t$	Prob.> $ t $	Niveau de confiance (%)
Constante	25.423	6.149	41.34	<.0001*	<99.99
Enrichissement au lait en poudre (X1)	8.273	6.149	13.45	<.0001*	<99.99
pH du lait (X2)	0.736	6.149	1.20	0.2761	72.39
Concentration en CaCl <sub>2</sub> (X3)	0.046	6.149	0.08	0.9420	5.8
Dose d'extrait enzymatique (X4)	0.733	6.149	1.19	0.2781	72.19
Température d'emprésurage (X5)	1.02	6.149	1.66	0.1483	85.17

L'analyse des coefficients de régression des 5 variables montre que: L'enrichissement au lait en poudre (low heat à 0% de matière grasse) est considéré comme l'élément le plus important qui affecte le rendement fromager avec un niveau de confiance de 99.99%. Le pH du lait, la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage ont un effet positif sur



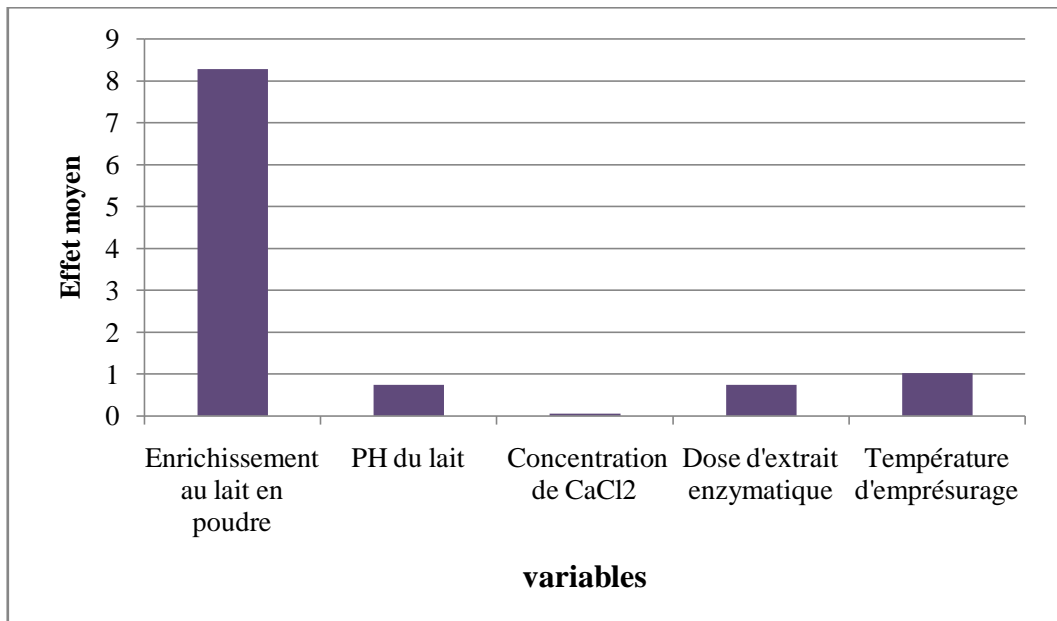
---

le rendement fromager avec un niveau de confiance de 72.39%, 72.19% et 85.17% respectivement. Cependant, la concentration en CaCl<sub>2</sub> a un très léger effet sur le rendement fromager. Le graphique de Pareto de la figure 19 montre le classement des estimations des facteurs avec la magnitude appropriée de chaque estimation. La corrélation entre les 05 facteurs et le rendement fromager est décrite par le modèle polynomial et pourrait être présentée comme suit (équation 3):

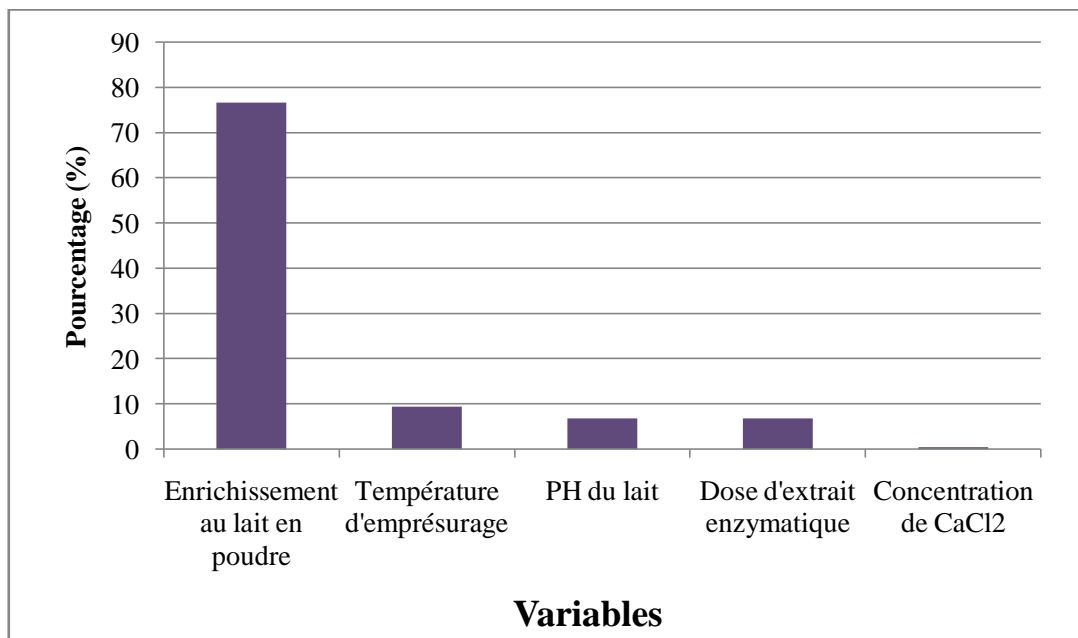
$$Y_{Rf} = 25.423 + 8.273 X1 + 0.736 X2 + 0.046 X3 + 0.733 X4 + 1.02 X5 \quad (3)$$

Les valeurs de t--student calculées et le niveau de confiance (%) (tableau 8) indiquent que l'enrichissement au lait en poudre, le pH du lait, la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage sont les variables les plus importantes pour le rendement fromager. Ces facteurs sont choisis pour être optimisés. Alors que la concentration de CaCl<sub>2</sub> a un effet presque négligeable sur le rendement fromager. Pour cela, ce facteur est éliminé des expériences d'optimisation suivantes. Il est utilisé à son niveau (+1).

En raison du modèle Plackett-Burman, les résultats du criblage statistique des conditions de fabrication du fromage *J'ben* se sont révélés utiles pour le choix de facteurs importants qui influent à la fois sur la fabrication du fromage et sur le rendement fromager.



**Figure 19:** Effet de différents facteurs sur le rendement fromager (%) tel que défini par le modèle statistique de Plackett – Burman.



**Figure 20:** Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement fromager (%).

### 3.2. Application du modèle Box-Behnken et analyse de données

L'optimisation du rendement en fromage *J'ben* est basée sur l'optimisation de la production de fromage. Quatre facteurs sont sélectionnés dans l'expérience préliminaire (enrichissement au lait en poudre, pH du lait, dose d'extrait enzymatique et température d'emprésurage) en utilisant le modèle statistique Plackett-Burman et sont optimisés davantage par la méthodologie pour surface de réponse en utilisant le modèle Box-Behnken. Les expériences sont réalisées pour obtenir un modèle quadratique composé de 54 expériences.

Le tableau 9 montre la matrice de conception de cette expérience comprenant les résultats prévus et expérimentaux avec un rendement fromager allant de 26.28 à 49.2%. Ces résultats indiquent une forte corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales. Cette corrélation est également approuvée dans le graphique des résultats observés en fonction des résultats prévues (figure 20) où les valeurs du modèle sont en concordance avec les valeurs de réponses mesurées et appartiennent à l'intervalle de confiance sans oublier la faible valeur de la racine du carré moyen des résidus (RMSE).

**Tableau 9 :** Matrice du modèle expérimental Box-Behnken, les valeurs expérimentales et prédites pour les quatre variables indépendantes utilisées.

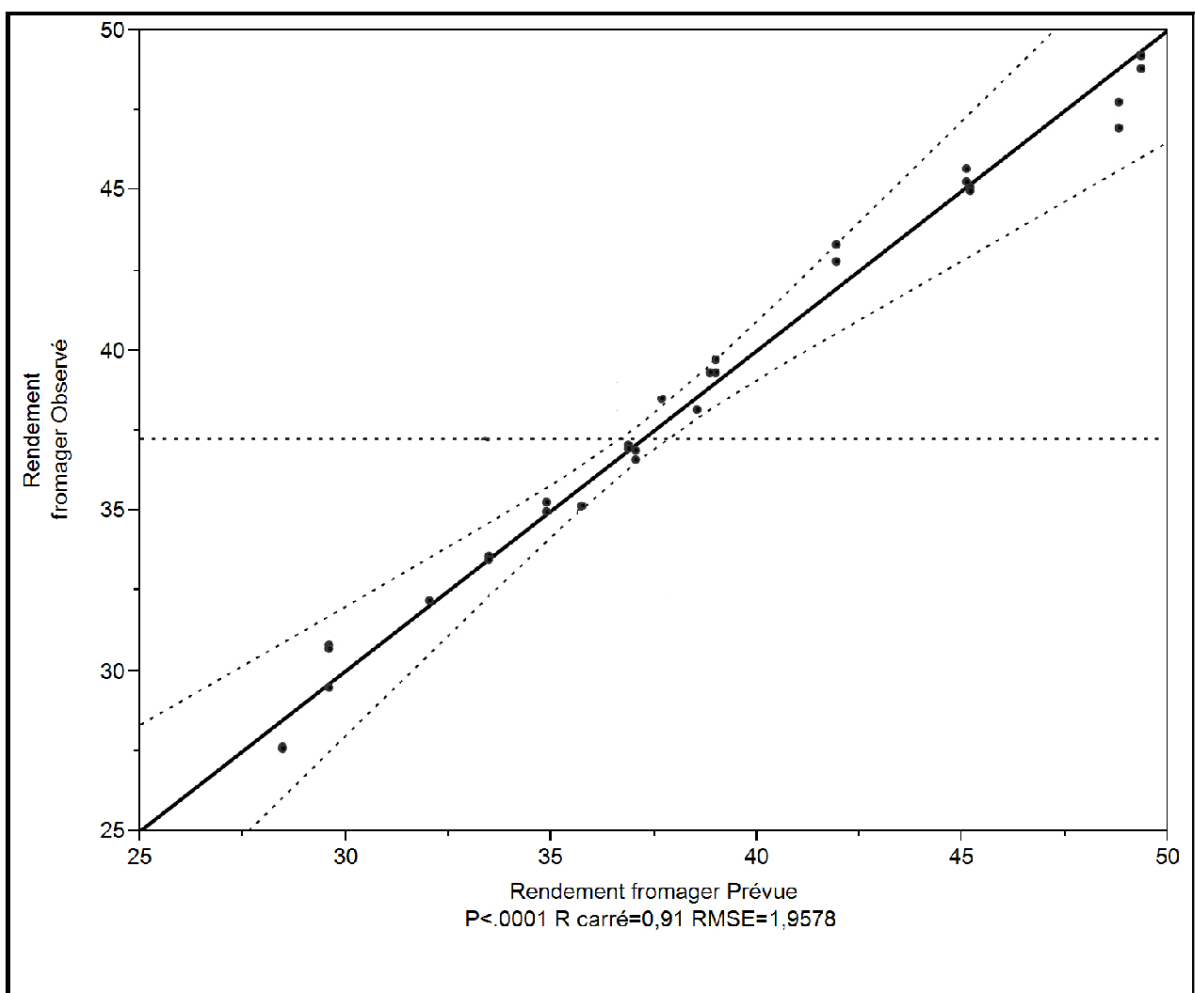
Essai	Variables				Rf (%)	
	Enrichissement au lait en poudre (gL <sup>-1</sup> )	pH du lait	Dose d'extrait enzymatique (mL)	Température d'emprésurage (°C)	Valeurs mesurées	Valeurs prédites
1	10	5.75	1	50	27.56	28.47
2	10	6.75	1	50	32.16	32.03
3	20	5.75	1	50	49.2	49.36
4	20	6.75	1	50	39.76	38.89
5	15	6.25	0.5	40	34.98	35.76
6	15	6.25	0.5	60	37.04	36.87
7	15	6.25	1.5	40	36.56	37.08

8	15	6.25	1.5	60	39.68	39.02
9	10	6.25	1	40	37.01	33.40
10	10	6.25	1	60	30.8	29.59
11	20	6.25	1	40	42.78	41.94
12	20	6.25	1	60	47.76	48.80
13	15	5.75	0.5	50	38.23	36.63
14	15	5.75	1.5	50	40.53	38.70
15	15	6.75	0.5	50	33.56	33.51
16	15	6.75	1.5	50	34.96	34.91
17	10	6.25	0.5	50	26.28	29.61
18	10	6.25	1.5	50	30.96	32.99
19	20	6.25	0.5	50	45.24	45.13
20	20	6.25	1.5	50	44.96	45.22
21	15	5.75	1	40	34.74	37.17
22	15	5.75	1	60	37.74	38.55
23	15	6.75	1	40	32.15	33.57
24	15	6.75	1	60	32.6	35.24
25	15	6.25	1	50	38.5	37.71
26	15	6.25	1	50	38.84	37.71
27	15	6.25	1	50	38.75	37.71
28	10	5.75	1	50	27.6	28.47
29	10	6.75	1	50	32.16	32.03

30	20	5.75	1	50	48.77	49.36
31	20	6.75	1	50	39.32	38.89
32	15	6.25	0.5	40	35.12	35.76
33	15	6.25	0.5	60	36.92	36.87
34	15	6.25	1.5	40	36.88	37.08
35	15	6.25	1.5	60	39.29	39.02
36	10	6.25	1	40	37.16	33.40
37	10	6.25	1	60	30.68	29.59
38	20	6.25	1	40	43.28	41.94
39	20	6.25	1	60	46.93	48.80
40	15	5.75	0.5	50	39.12	36.63
41	15	5.75	1.5	50	41.32	38.70
42	15	6.75	0.5	50	33.47	33.51
43	15	6.75	1.5	50	35.24	34.91
44	10	6.25	0.5	50	29.44	29.61
45	10	6.25	1.5	50	30.43	32.99
46	20	6.25	0.5	50	45.68	45.13
47	20	6.25	1.5	50	45.08	45.22
48	15	5.75	1	40	34.92	37.17
49	15	5.75	1	60	38.12	38.55
50	15	6.75	1	40	32.32	33.57
51	15	6.75	1	60	38.64	35.24

---

52	15	6.25	1	50	39	37.71
53	15	6.25	1	50	38.66	37.71
54	15	6.25	1	50	32.51	37.71



**Figure 21:** Graphique des résultats observés en fonction des résultats prévus.

*RMSE : Root Mean Square Error ; racine du carré moyen des résidus*

---

L'analyse statistique de régression est effectuée par le test F et l'analyse de variance (ANOVA) (tableau 10). La signifiante des termes du modèle est indiquée avec des valeurs de “ Prob. > F ” inférieures à 0.05. L'insignifiante des termes du modèle est indiquée avec des valeurs supérieures à 0.10 (Amenaghawon et al. 2013). La valeur F du modèle (27.28) et la valeur de probabilité très faible (inférieure à 0.0001) indiquent que la contribution du modèle est hautement significative. La qualité de l'ajustement du modèle est attestée par le coefficient de détermination  $R^2$  et le coefficient  $R^2$  corrigé (coefficient de corrélation multiple R).  $R^2$  signifie la proportion de variation totale de la réponse expliquée par le modèle.

Le test ANOVA montre que la valeur de  $R^2$  pour le rendement fromager est de 0.9073, ce qui indique qu'une variation totale de 90.73% peut être expliquée par le modèle et qu'environ 9.27% seulement de la variation totale ne peut pas être expliquée par le modèle. La valeur élevée de  $R^2$  ( $R^2 > 0.76$ ) confirme la capacité du modèle et lui donne un ajustement satisfaisant. L'adéquation du modèle est vérifiée par le  $R^2$  ajusté, qui corrige la valeur de  $R^2$  non seulement pour la taille de l'échantillon, mais également pour le nombre de termes du modèle (Nagar et al. 2010; Swamy et al. 2014). La valeur  $R^2$  ajustée doit être comprise entre 0 et 1. Le modèle prédit mieux la réponse avec l'augmentation de la valeur de  $R^2$  ajustée (Mannan et al. 2007). Le coefficient de détermination  $R^2$  (0.9073) et le  $R^2$  ajusté (0.8741) sont en accord raisonnable. Ces résultats prouvent le succès du modèle polynomial quadratique développé, ce qui a permis d'approcher les surfaces de réponse. Une forte corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales est confirmée par la valeur élevée de  $R^2$  ajusté.



**Tableau 10:** Analyse de la variance (ANOVA) pour l'effet de l'enrichissement au lait en poudre, pH du lait, dose d'extrait enzymatique et température d'emprésurage sur le rendement fromager.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport $F$	Prob $>F$
Enrichissement au lait en poudre	1	1155.371	301.418	<0.0001***
pH du lait	1	71.795	18.730	0.0001***
Dose d'extrait enzymatique	1	18.044	4.707	0.0362*
Température d'emprésurage	1	13.953	3.640	0.0638
Enrichissement au lait en poudre × pH du lait	1	98.350	25.658	<.0001***
Enrichissement au lait en poudre × Dose d'extrait enzymatique	1	5.362	1.399	0.2440
pH du lait × Dose d'extrait enzymatique	1	0.221	0.057	0.8115
Enrichissement au lait en poudre × Température d'emprésurage	1	56.817	14.822	0.0004***
pH du lait × Température d'emprésurage	1	0.040	0.010	0.9185
Dose d'extrait enzymatique × Température d'emprésurage	1	0.348	0.090	0.7645
Enrichissement au lait en poudre × Enrichissement au lait en poudre	1	21.799	5.687	0.1447
pH du lait × pH du lait	1	20.888	5.449	0.0240*
Dose d'extrait enzymatique × Dose d'extrait enzymatique	1	1.115	0.291	0.5521
Température d'emprésurage ×	1	0.286	0.074	0.7859

Température d'emprésurage				
<b>Modèle</b>	14	1464.395	27.28	<0.0001***
<b>Erreur pure</b>	29	57.743		
<b>Modèle totale</b>	53	1613.887		
<b>R<sup>2</sup>=0.9073</b>				
<b>R<sup>2</sup> Ajusté =0.8741</b>				

\* Effet Significatif ( $P < 0.05$ ). \*\*\* Effet hautement significatif ( $P < 0.001$ ).

### 3.3. Effets des facteurs

L'analyse statistique du modèle montre que les trois variables, l'enrichissement au lait en poudre, le pH du lait et la dose d'extrait enzymatique ont un effet significatif sur la production de fromage. Parmi les variables de test, l'enrichissement au lait en poudre a l'effet le plus significatif sur le rendement fromager. De plus, les termes d'interaction entre cette variable –le pH du lait et la température d'emprésurage sont significatifs, ce qui indique l'importance de ces coefficients. Les termes d'interaction entre l'enrichissement au lait en poudre - le pH du lait et l'effet quadratique du pH du lait ont une influence négative sur la réponse (rendement fromager). D'autre part, les termes d'interaction entre l'enrichissement au lait en poudre- la dose d'extrait enzymatique, le pH du lait - la dose d'extrait enzymatique, le pH du lait - la température d'emprésurage et la dose d'extrait enzymatique - la température d'emprésurage et l'effet quadratique de l'enrichissement au lait en poudre, la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage n'ont aucun effet.

L'analyse de régression est réalisée sur les données expérimentales et la relation entre les résultats indépendants et expérimentaux est exprimée par une équation polynomiale du second ordre. Les coefficients de régression des termes d'interception, linéaire, quadratique et d'interaction du modèle et les valeurs de probabilité correspondantes (P) sont résumés dans le tableau 11.

Les termes linéaires (enrichissement en lait en poudre, PH du lait et dose d'extrait enzymatique), les termes quadratiques du pH du lait et les interactions entre l'enrichissement au lait en poudre –le pH du lait et l'enrichissement au lait en poudre - la température

---

d'emprésurage sont significatives ( $p < 0,05$ ). Le modèle quadratique ajusté du rendement fromager est donné par l'équation (4).

$$Y = 37,71 + 6,938 X_1 - 1,729 X_2 + 0,867 X_3 + 0,762 X_4 + 0,892 X_1^2 - 1,408 X_2^2 - 0,359 X_3^2 - 0,163 X_4^2 - 3,506 X_1X_2 - 0,818 X_1X_3 - 0,166 X_2X_3 + 2,665 X_1X_4 + 0,071 X_2X_4 + 0,208 X_3X_4 \quad (4)$$

Où Y est le rendement fromager prévu et X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> et X<sub>4</sub> sont les valeurs codées pour l'enrichissement au lait en poudre, le pH du lait, la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage, respectivement.

**Tableau 11:** Coefficient de régression, erreur standard et résultats du test t-student de surface de réponse pour le rendement fromager (%).

<b>Paramètres</b>	<b>Estimatiton</b>	<b>Erreur standard</b>	<b>Rapport <i>t</i></b>	<b>Prob &gt; t </b>
Constante	37.71	0.799	47.18	<0.0001***
Enrichissement au lait en poudre	6.938	3.996	17.36	<0.0001***
pH du lait	-1.729	3.996	-4.33	0.0001***
Dose d'extrait enzymatique	0.867	3.996	2.17	0.0362*
Température d'emprésurage	0.762	3.996	1.91	0.0638
Enrichissement au lait en poudre × pH du lait	-3.506	6.921	-5.07	<.0001***
Enrichissement au lait en poudre × Dose d'extrait enzymatique	-0.818	6.921	-1.18	0.2440
pH du lait × Dose d'extrait enzymatique	-0.166	6.921	-0.24	0.8115
Enrichissement au lait en poudre × Température d'emprésurage	2.665	6.921	3.85	0.0004***
pH du lait × Température d'emprésurage	0.071	6.921	0.10	0.9185
Dose d'extrait enzymatique × Température d'emprésurage	0.208	6.921	0.30	0.7645
Enrichissement au lait en poudre × Enrichissement au lait en poudre	0.892	5.994	1.49	0.1447
pH du lait × pH du lait	-1.408	5.994	-2.35	0.0240*
Dose d'extrait enzymatique × Dose d'extrait enzymatique	-0.359	5.994	-0.60	0.5521

---

Température d'emprésurage × Température d'emprésurage	-0.163	5.994	-0.27	0.7859
--	--------	-------	-------	--------

\* Effet Significatif ( $P < 0.05$ ). \*\*\* Effet hautement significatif ( $P < 0.001$ ).

---

### 3.4. Représentations tridimensionnelles et analyse des surfaces de réponses

Les figures 21a à 26a illustrent la surface spécifique du rendement fromager par rapport aux variables de procédé représentées par les tracés en surface. Le type d'interactions mutuelles (signification) entre les variables est indiqué par la forme des contours plot (circulaire ou elliptique). Les interactions entre les variables correspondantes sont notées négligeables avec un tracé de contour circulaire. Avec un tracé de contour elliptique, les interactions entre les variables correspondantes sont notées significatives. Dans ce cas, au point d'intersection des lignes, les valeurs optimales sont obtenues (Murthy et al. 2000). Les figures 21b à 26b illustrent les contours plot de la surface de réponse de variables correspondantes.

La figure 21 représente le graphique de surface tridimensionnel et les graphiques de contour correspondants présentant l'effet d'interaction entre l'enrichissement au lait en poudre et le pH du lait sur le rendement fromager. On peut constater qu'une augmentation de l'enrichissement au lait en poudre accompagnée d'une diminution du pH du lait entraîne une augmentation de la production de fromage (rendement fromager). Ces deux facteurs ont un effet significatif sur le rendement fromager. Les figures 21, 22 et 23 montrent que l'enrichissement au lait en poudre a une influence plus grande sur le rendement en fromage (effet linéaire et interaction) que le pH du lait, la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage. L'estimation du coefficient pour la forme linéaire de l'enrichissement au lait en poudre est statistiquement significative dans le rendement fromager (Tableau 11). Avec la valeur de F la plus élevée (tableau 10) de 301.418, cette variable est considérée comme le facteur le plus important.

La figure 22 indique que l'enrichissement au lait en poudre et la dose d'extrait enzymatique affectent fortement le rendement fromager. Une augmentation de ces deux facteurs entraîne une augmentation du rendement fromager. L'estimation du coefficient pour la forme linéaire de la dose d'extrait enzymatique est statistiquement significative dans le rendement fromager (tableau 11). Les résultats de test ANOVA corroborent également ces résultats (tableau 10).

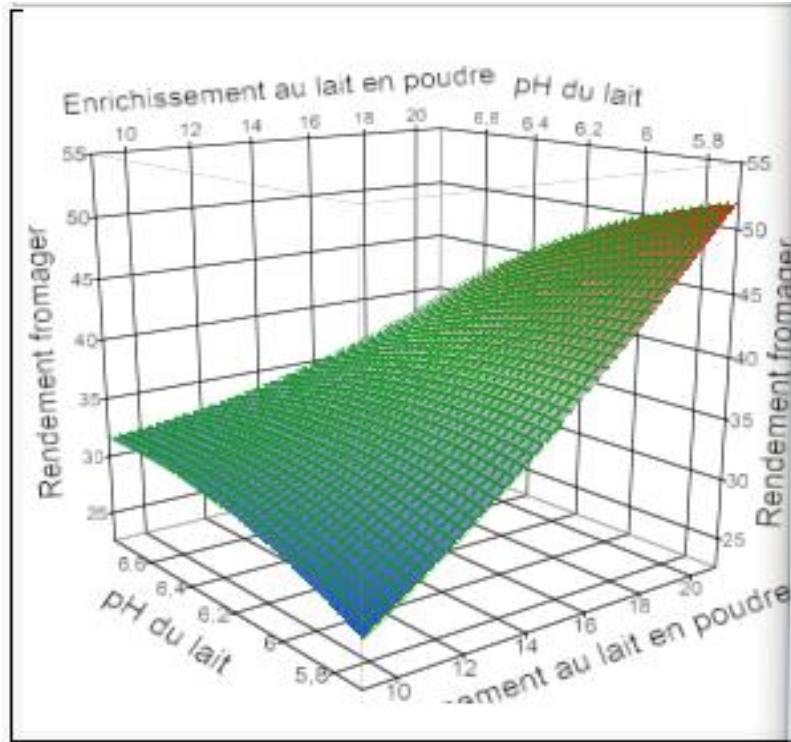
D'après les figures 24 et 25, on peut constater que le pH du lait exerce un effet très significatif sur le rendement fromager. L'examen de ces courbes (plots) a montré qu'il existe un niveau optimal de rendement fromager. Ceci est dû à l'effet quadratique du pH du lait tel qu'il est présenté par les résultats du tableau 11. Les estimations des coefficients pour la

---

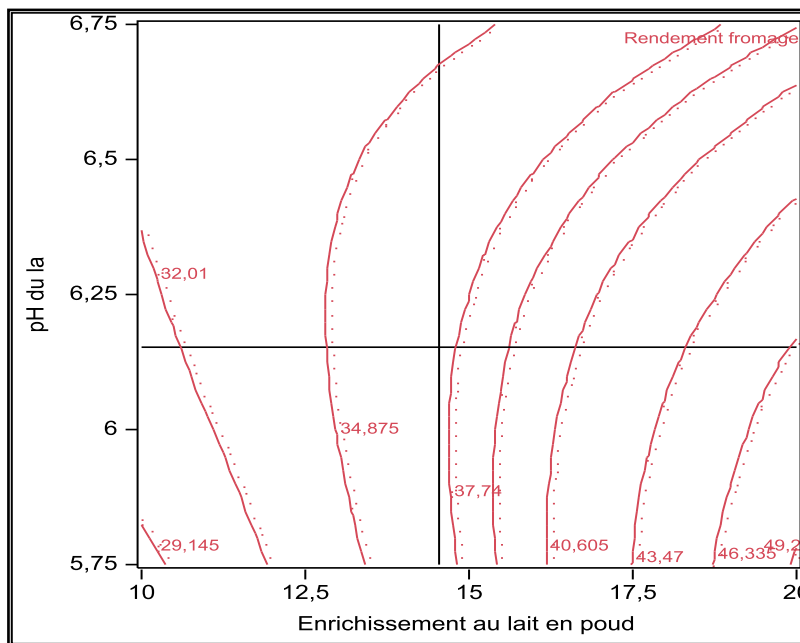
forme quadratique et linéaire du pH du lait sont statistiquement significatives pour le rendement fromager. Ces résultats sont également prouvés par les résultats de l'ANOVA, comme indiqué dans le tableau 10.

L'effet d'interaction entre la dose d'extrait enzymatique et la température d'emprésurage sur le rendement fromager est illustré par la figure 26. Une augmentation de la dose d'extrait enzymatique avec une diminution correspondante de la température d'emprésurage entraîne une augmentation du rendement fromager. L'effet linéaire de la dose d'extrait enzymatique est clairement illustré. Néanmoins, l'interaction entre les deux facteurs (dose d'extrait enzymatique et température d'emprésurage) n'a aucun effet significatif, ce qui indique que les deux facteurs réagissent indépendamment sur le rendement fromager.

(a)



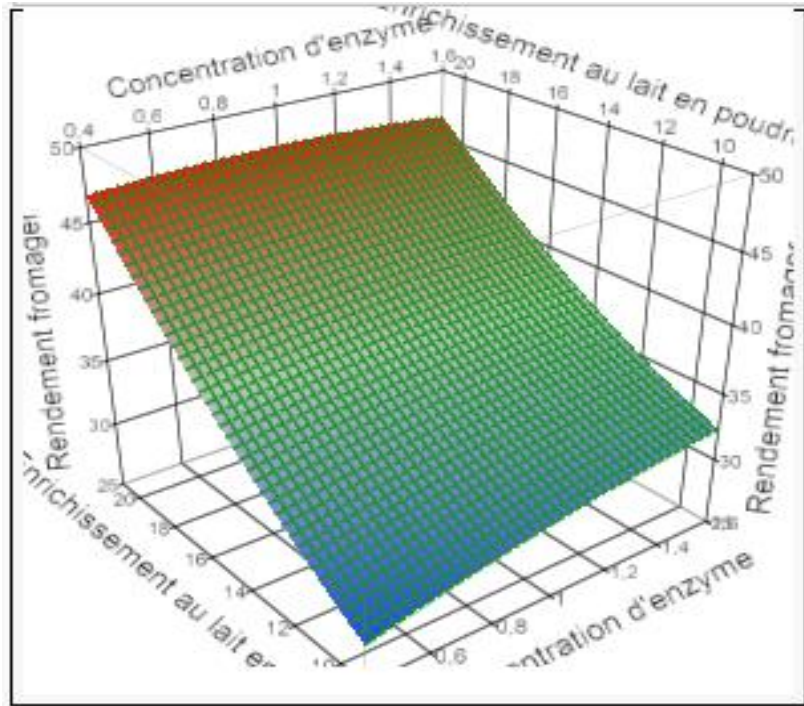
(b)



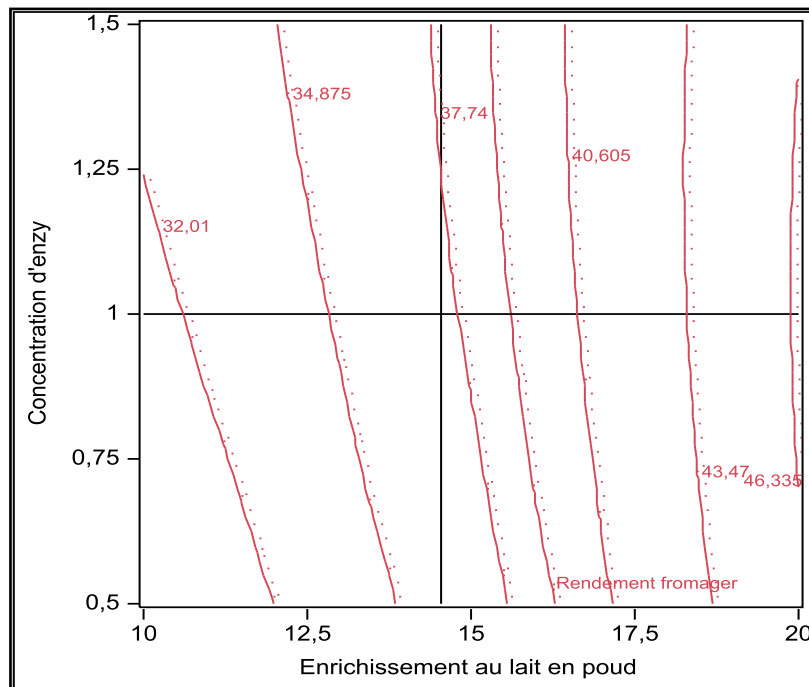
**Figure 21:** Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et le pH du lait sur le rendement fromager.

(a)



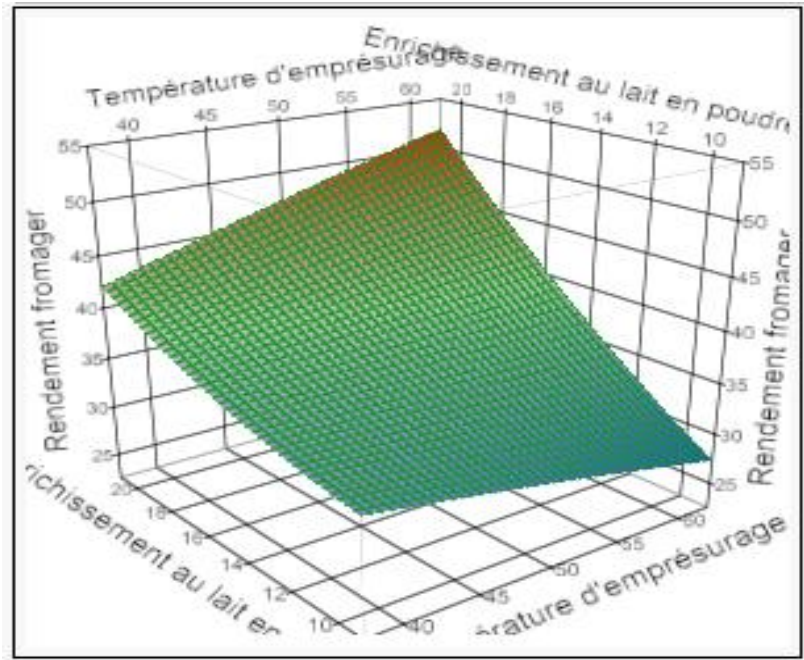


(b)

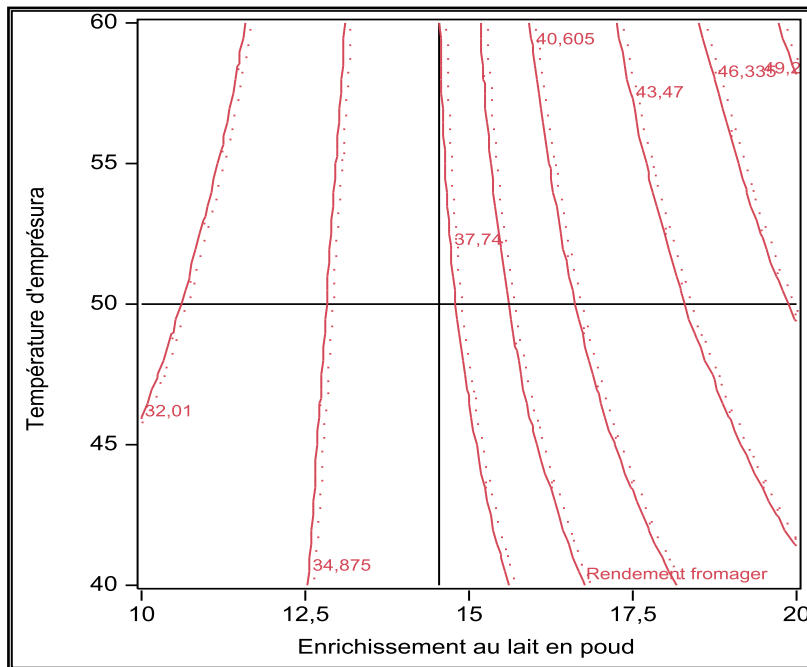


**Figure 22:**Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et la dose d'extrait enzymatique sur le rendement fromager.

(a)

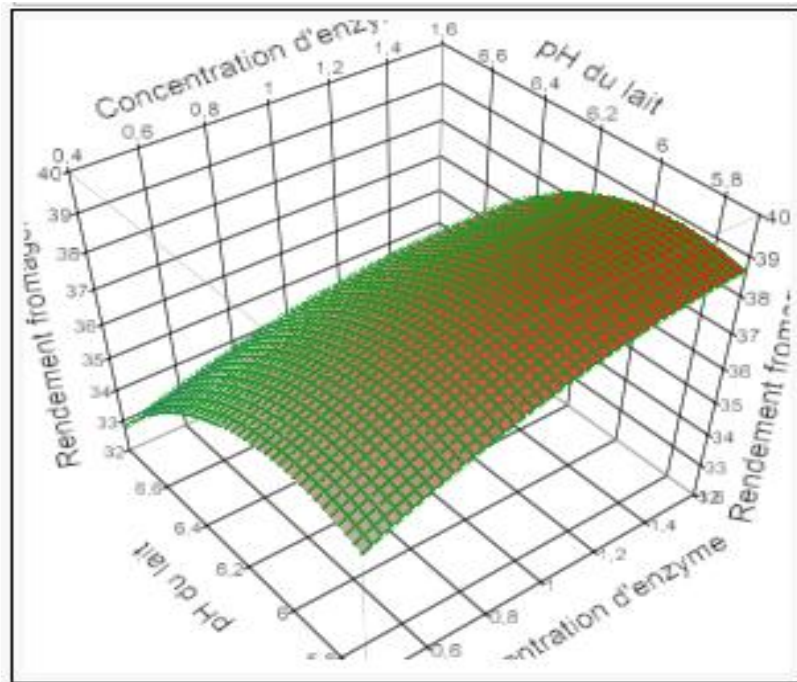


(b)

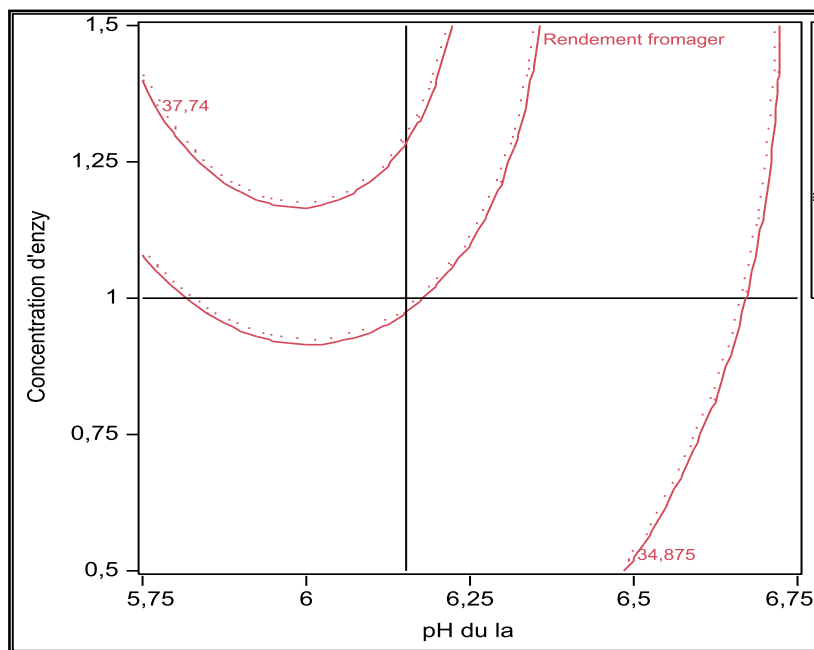


**Figure 23:** Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de l'enrichissement au lait en poudre et la température d'empresurage sur le rendement fromager.

(a)

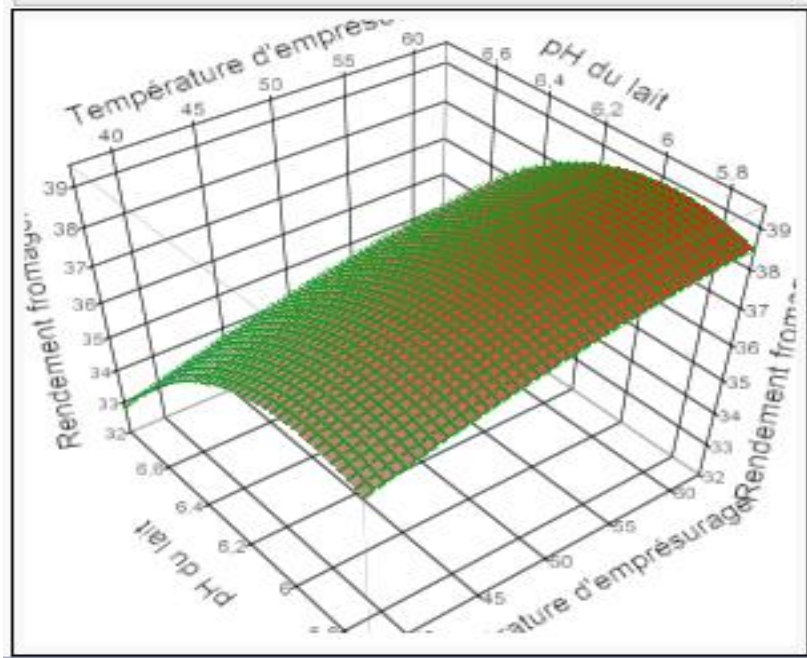


(b)

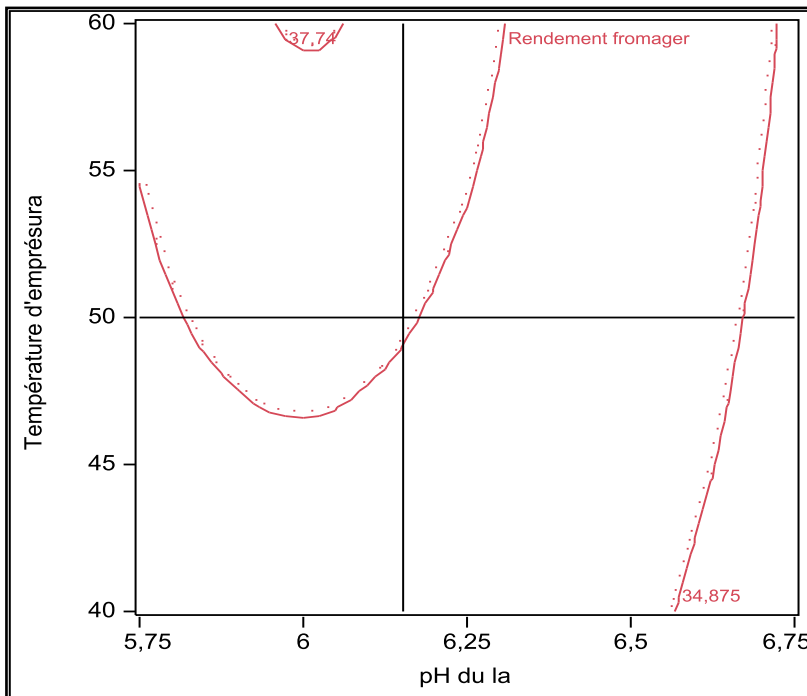


**Figure 24:** Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de pH du lait et la dose d'extrait enzymatique sur le rendement fromager.

(a)

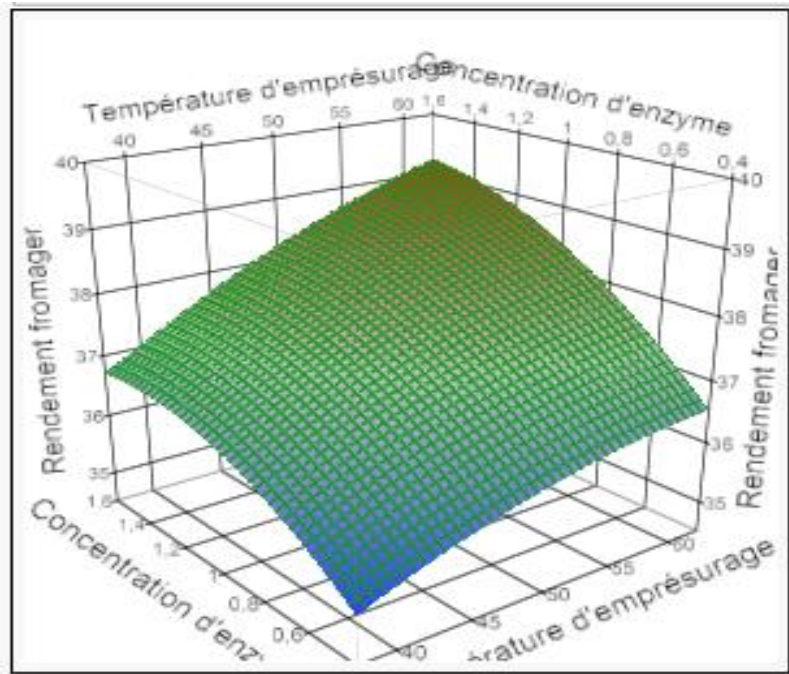


(b)

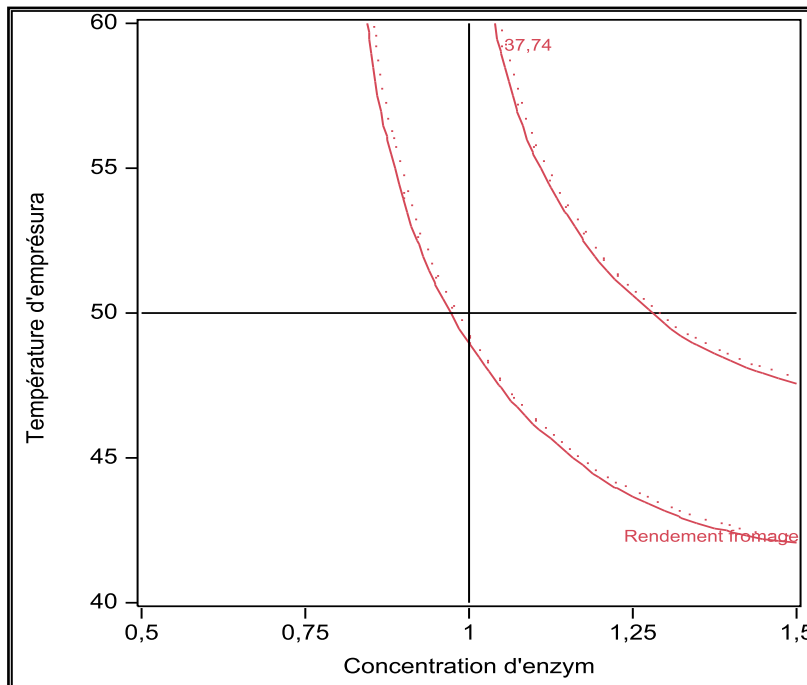


**Figure 25:**Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de pH du lait et la température d'empresurage sur le rendement fromager.

(a)



(b)



**Figure 26:** Le tracé de surface tridimensionnel (a) et le contour plot correspondant (b) illustrant les effets de la dose d'extrait enzymatique et de la température de coagulation sur le rendement fromager.

### 3.5. Détermination des conditions optimales et validation expérimentale

La fitness du modèle est vérifiée par une expérience supplémentaire utilisant les conditions optimales prédites. Pour obtenir le maximal du rendement fromager, les conditions optimales prédites (Enrichissement au lait en poudre à 20 gL<sup>-1</sup>; pH du lait à 5.75; dose d'extrait enzymatique à 1.29 mL et température d'emprésurage à 60 °C) sont déterminées à l'aide du profileur de prédiction JMP après maximisation de la désirabilité (Tableau 12). La réponse prévue pour un rendement maximal en fromage est de 52.68%.

Dans les conditions optimales, des expériences sont réalisées en triple exemplaire et les résultats montrent que le rendement maximal du fromage est de 49.46%. La validité du modèle de réponse est confirmée par l'excellente corrélation entre les résultats expérimentaux et les valeurs prédites (environ 93.88% des valeurs prédites).

**Tableau 12:** Conditions et valeurs théoriques et expérimentales optimales pour le rendement fromager.

Valeurs optimales des paramètres	Rendement fromager (%)	
	Valeur optimale	Valeur expérimentale
Enrichissement au lait en poudre : 20 gL <sup>-1</sup> PH du lait : 5.75 Dose d'extrait enzymatique : 1.29 mL Température d'emprésurage : 60 °C	52.68	49.46±0.63

Grace à la méthodologie pour surface de réponse, le modèle établi dans l'étude de l'optimisation de la production du fromage traditionnel algérien *J'ben* possède une forte puissance d'explication des résultats expérimentaux. Les variables étudiées sont validées expérimentalement après détermination des valeurs optimales.

## 4. Caractérisation physicochimique et organoleptique du fromage traditionnel *J'ben*

### 4.1. Composition physicochimique

Dans ce qui suit, tous les échantillons de fromage de ferme et de laboratoire ont fait l'objet de caractérisation physicochimique. Le tableau 13 indique les résultats de la caractérisation physicochimique comparative des échantillons de fromage *J'ben* prélevés de la région d'*Ain Sefra* (fromages témoins) et ceux préparés au laboratoire (fromages contrôles). Les résultats de la composition physicochimique des échantillons de fromage *J'ben* préparés selon le plan de criblage (Plackett-Burman) et ceux préparés selon le plan d'optimisation (Box-Behnken) sont illustrés par les figures de 27 à 40. De plus, le tableau 14 regroupe les caractéristiques des échantillons de fromages optimisés.

**Tableau 13 :** Caractéristiques de composition des échantillons de fromage *J'ben* de ferme et ceux fabriqués au laboratoire.

	Fromages contrôles					Fromages témoins
	JCS (n=5)	JFC (n=5)	JKG (n=5)	JPP (n=5)	JPI (n=5)	JTP (n=5)
<b>Rendement fromager %</b>	18.10 <sup>ab</sup> ± 0.42	17.21 <sup>ab</sup> ± 0.69	17.97 <sup>ab</sup> ± 0.32	18.05 <sup>ab</sup> ± 0.26	18.87 <sup>a</sup> ± 0.31	16.56 <sup>b</sup> ± 2.45
<b>pH</b>	5.79 <sup>d</sup> ± 0.03	6.59 <sup>b</sup> ± 0.06	5.99 <sup>c</sup> ± 0.09	5.96 <sup>cd</sup> ± 0.03	6.90 <sup>a</sup> ± 0.06	5.40 <sup>e</sup> ± 0.19
<b>Acidité °D</b>	21.8 <sup>b</sup> ± 0.45	15.61 <sup>e</sup> ± 0.88	19.60 <sup>c</sup> ± 0.54	21.50 <sup>b</sup> ± 0.5	17.60 <sup>d</sup> ± 0.65	26.50 <sup>a</sup> ± 0.5
<b>Matière sèche %</b>	43.80 <sup>b</sup> ± 0.92	46.63 <sup>ab</sup> ± 0.78	49.26 <sup>a</sup> ± 1.32	47.05 <sup>ab</sup> ± 0.54	44.83 <sup>b</sup> ± 0.54	30.23 <sup>c</sup> ± 4.38
<b>Humidité %</b>	56.19 <sup>b</sup> ± 0.92	53.16 <sup>bc</sup> ± 0.78	50.73 <sup>c</sup> ± 1.32	52.94 <sup>bc</sup> ± 0.54	55.17 <sup>b</sup> ± 0.54	69.77 <sup>a</sup> ± 4.38
<b>Matière minérale %</b>	2.73 <sup>ab</sup> ± 0.21	2.05 <sup>c</sup> ± 0.07	2.35 <sup>bc</sup> ± 0.33	3.02 <sup>a</sup> ± 0.05	2.85 <sup>a</sup> ± 0.2	2.19 <sup>c</sup> ± 0.27
<b>Matière grasse %</b>	11.60 <sup>bc</sup> ± 1.86	7.63 <sup>d</sup> ± 0.51	9.19 <sup>cd</sup> ± 0.85	9.61 <sup>bcd</sup> ± 1.17	12.32 <sup>b</sup> ± 0.76	15.70 <sup>a</sup> ± 2.9

JCS : *J'ben* issu de la caillette séchée ; JFC : *J'ben* issu de fleurs de chardon, JKG : *J'ben* issu de la couche kaolin du gésier de poulet, JPP : *J'ben* issu de proventricule de poulet, JPI : *J'ben* issu de la présure industrielle et JPT : *J'ben* de ferme. (n=5): moyenne de 5 échantillons de fromage *J'ben*.  
La différence de moyenne est significative (p <0,0001).

D'après les résultats enregistrés dans le tableau 13, nous constatons qu'il existe une certaine homogénéité de la composition physicochimique dans les échantillons de fromage préparés au laboratoire par rapport à ceux prélevés de la ferme. D'importants écart-types (2.45% pour le rendement fromager, 0.19% pour le pH, 4.38% pour la matière sèche et l'humidité et 2.9% pour la matière grasse) sont enregistrés dans ces derniers. Par contre, les échantillons préparés au laboratoire se caractérisent par des écart-types comprises entre 0.26 et 0.42% pour le rendement fromager, entre 0.03 et 0.09 pour le pH, entre 0.54 et 1.32% pour la matière sèche et l'humidité et entre 0.51 et 1.86% pour la matière grasse.

**Tableau 14** : Composition physicochimique du fromage *J'ben* de fabrication optimisée

	Fromages témoins			Fromages optimisés	
	JPA (n=3)	JPB (n=3)	JPC (n=3)	JPD (n=3)	JPE (n=3)
<b>pH</b>	5.35 <sup>c</sup> ± 0.005	5.14 <sup>d</sup> ± 0.005	5.61 <sup>a</sup> ± 0.005	5.40 <sup>b</sup> ± 0.005	5.40 <sup>b</sup> ± 0.005
<b>Acidité</b>	32.41 <sup>b</sup> ± 0.72	36.13 <sup>a</sup> ± 0.7	23.70 <sup>d</sup> ± 0.81	28.90 <sup>c</sup> ± 0.1	28.80 <sup>c</sup> ± 0.1
<b>Matière sèche %</b>	43.00 <sup>c</sup> ± 0.33	42.39 <sup>c</sup> ± 0.34	53.02 <sup>a</sup> ± 0.9	46.92 <sup>b</sup> ± 0.28	47.66 <sup>b</sup> ± 0.33
<b>Humidité %</b>	57.00 <sup>a</sup> ± 0.33	57.61 <sup>a</sup> ± 0.34	46.97 <sup>c</sup> ± 0.9	53.07 <sup>b</sup> ± 0.28	52.33 <sup>b</sup> ± 0.33
<b>Matière minérale %</b>	2.43 <sup>b</sup> ± 0.05	1.29 <sup>d</sup> ± 0.03	1.46 <sup>c</sup> ± 0.03	2.59 <sup>a</sup> ± 0.04	0.99 <sup>e</sup> ± 0.02
<b>Matière grasse %</b>	15.13 <sup>e</sup> ± 0.32	21.41 <sup>c</sup> ± 0.52	31.00 <sup>a</sup> ± 1.32	17.79 <sup>d</sup> ± 0.82	26.91 <sup>b</sup> ± 0.38

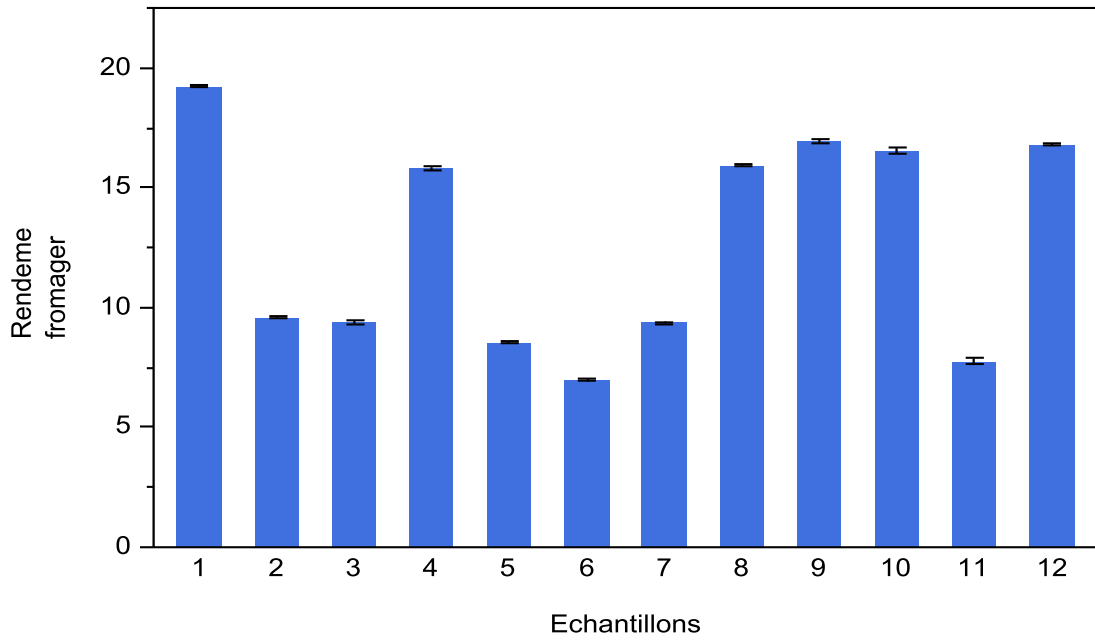


<b>Protéines %</b>	10.33 <sup>c</sup> ± 0.15	15.4 <sup>a</sup> ± 1.49	14.6 <sup>a</sup> ± 0.55	13.26 <sup>ab</sup> ± 0.55	12.23 <sup>bc</sup> ± 0.61
--------------------	------------------------------	--------------------------	--------------------------	-------------------------------	-------------------------------

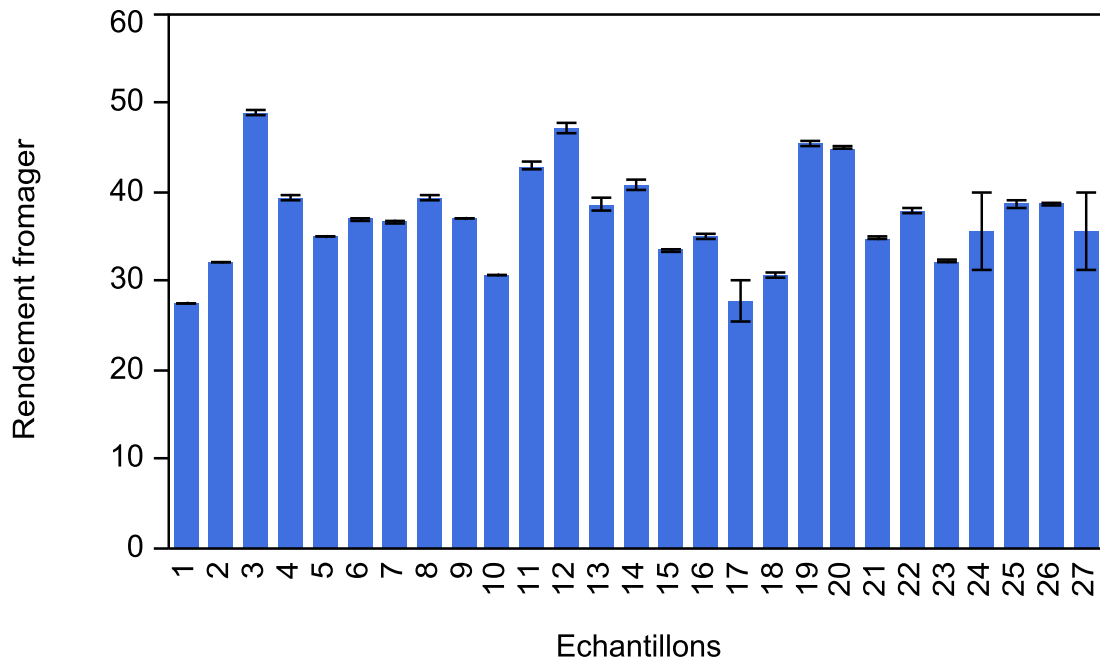
JPA : *J'ben* optimisé ; JPB : *J'ben* issu de proventricule de poulet, JPC : *J'ben* issu des fleurs de chardon ; JPD : *J'ben* optimisé épicé à la menthe et JPE : *J'ben* issu de la caillette séchée. (n=3): moyenne de 3 échantillons de fromage *J'ben*. La différence de moyenne est significative (p < 0,0001).

#### 4.1.1. Rendement fromager

Le rendement fromager (Rf) a été mesuré à partir d'un litre de lait. Les résultats démontrés dans les figures 26 et 27 montrent que sa valeur varie de 13.84 à 38.48% pour les échantillons de fromage préparés selon le plan de criblage (modèle statistique de Plackett-Burman) et de 26.28 à 49.2% pour les échantillons de fromage préparés selon le plan d'optimisation (modèle statistique de Box- Behnken). Les échantillons de fromage témoin renferment une valeur moyenne (16.56%) proche de celles des échantillons de fromage contrôles (de 17.2 à 18.87%). L'étude statistique a révélée que ces valeurs sont significativement différentes (p<0.05). L'analyse des résultats montre une large variation en Rf des échantillons de fromage préparés selon le plan de criblage. Afin de remédier à cette contrainte nous avons appliqué un plan d'optimisation qui nous a permis d'optimiser les valeurs du Rf (Rf plus élevé) dont on a obtenu un Rf égale à 49.46% (tableau 12). Nos résultats sont satisfaisants et sont supérieurs de ceux rapportés par d'autres auteurs à savoir Boudjenah-Haroun (2012) (24%) et Kouniba et al (2007) (23.8%).



**Figure 27 :** Rendement fromager des échantillons de fromage du plan de criblage.



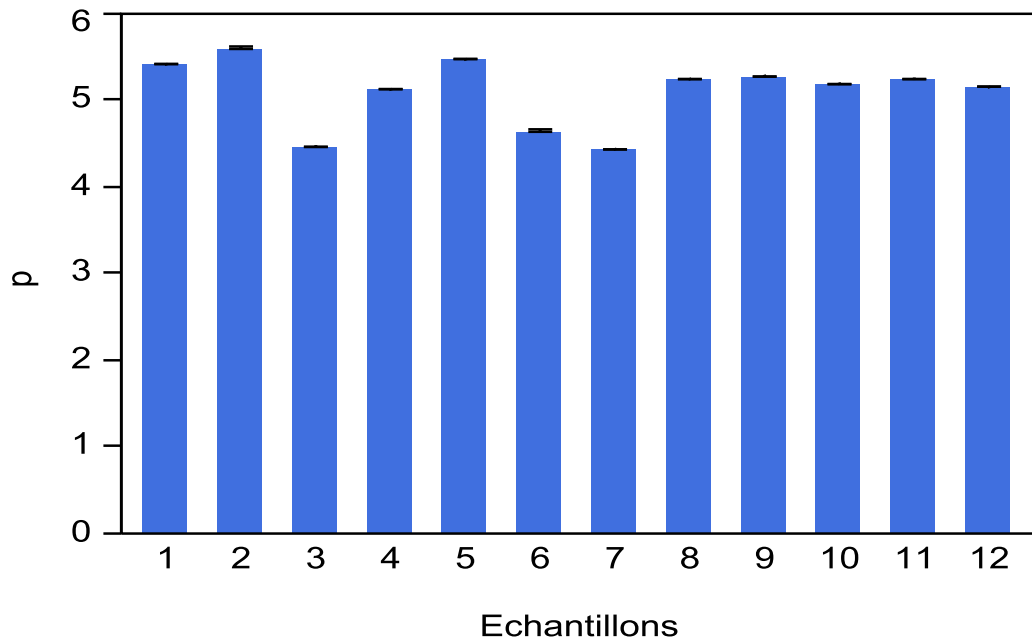
**Figure 28 :** Rendement fromager des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

---

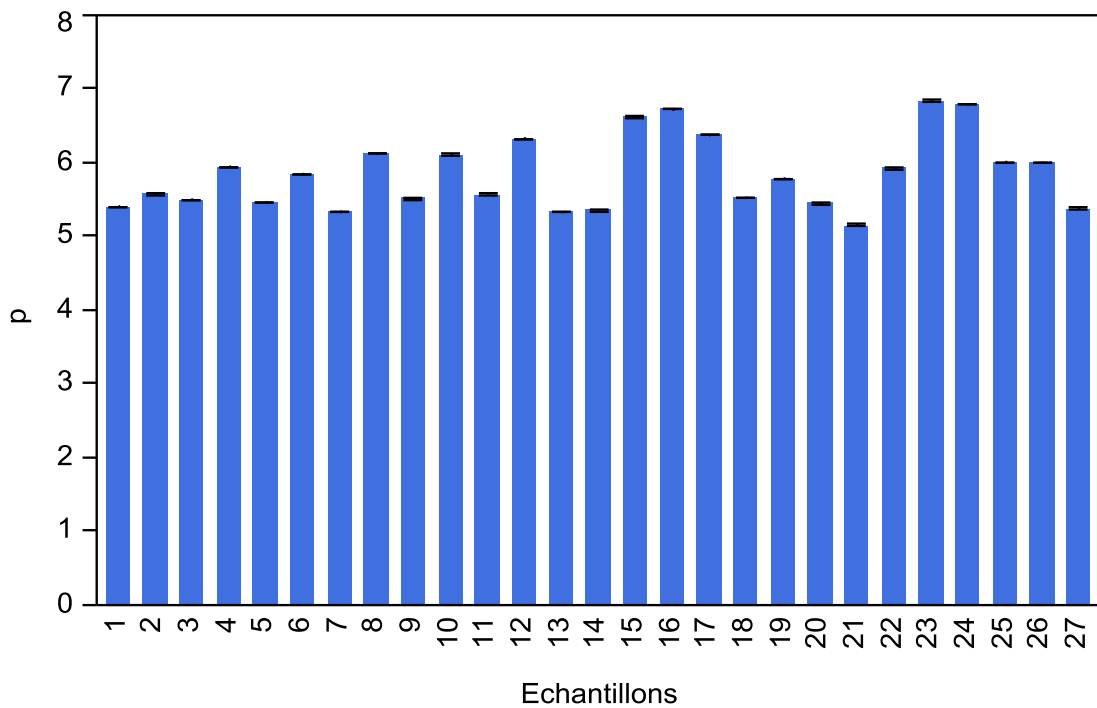
La variabilité des valeurs du Rf entre les différents échantillons de fromage étudiés peut être attribuée à la race de vache et à la composition du lait utilisé. En effet, le Rf dépend de la teneur en protéines et en matière grasse du lait (Bensmail et al. 2013). Plusieurs études menées sur des fromages fabriqués à partir du lait de chèvre ont prouvé cette relation avec les composants du lait utilisé (Portmann et al. 1968; Ricordeau et al. 1967). Elle est particulièrement signalée pour les fromages frais (Maubois and Mocquot 1971). Selon Bensmail et al (2013), les faibles Rf résultent des pertes de protéines et de la matière grasse suite à l'activité protéolytique de l'extrait enzymatique fongique au cours de l'affinage. Les résultats rapportés par Colin et al (1992) montrent que 77% des variations du rendement fromager frais sont expliqués par les taux protéiques et taux butyreux. Ces derniers constituent des critères pertinents de la détermination du Rf. Ricordeau et al(1967) et Portmann et al(1968) ont rapporté des résultats similaires.

#### **4.1.2. pH des fromages**

Les échantillons de fromage étudiés se caractérisent par un pH légèrement acide. Sa valeur moyenne varie de 5.4 à 6.9 pour les échantillons destinés à l'étude comparative (tableau 13) et de 4.43 à 5.6 pour les échantillons du plan de criblage (figure 28). Les résultats démontrés dans la figure 29 et le tableau 14 montrent que les valeurs moyennes de pH dans les échantillons du plan d'optimisation et ceux optimisés varient de 5.15 à 6.83 et de 5.14 à 5.61, respectivement. Statistiquement, les échantillons du plan de criblage ne présente aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) contrairement aux échantillons destinés à l'étude comparative ( $p < 0,0001$ , tableau 13), les échantillons du plan d'optimisation ( $p < 0.05$ ) et ceux optimisés ( $p < 0,0001$ , tableau 14).



**Figure 29 :** pH des échantillons de fromage du plan de criblage.



**Figure 30 :** pH des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

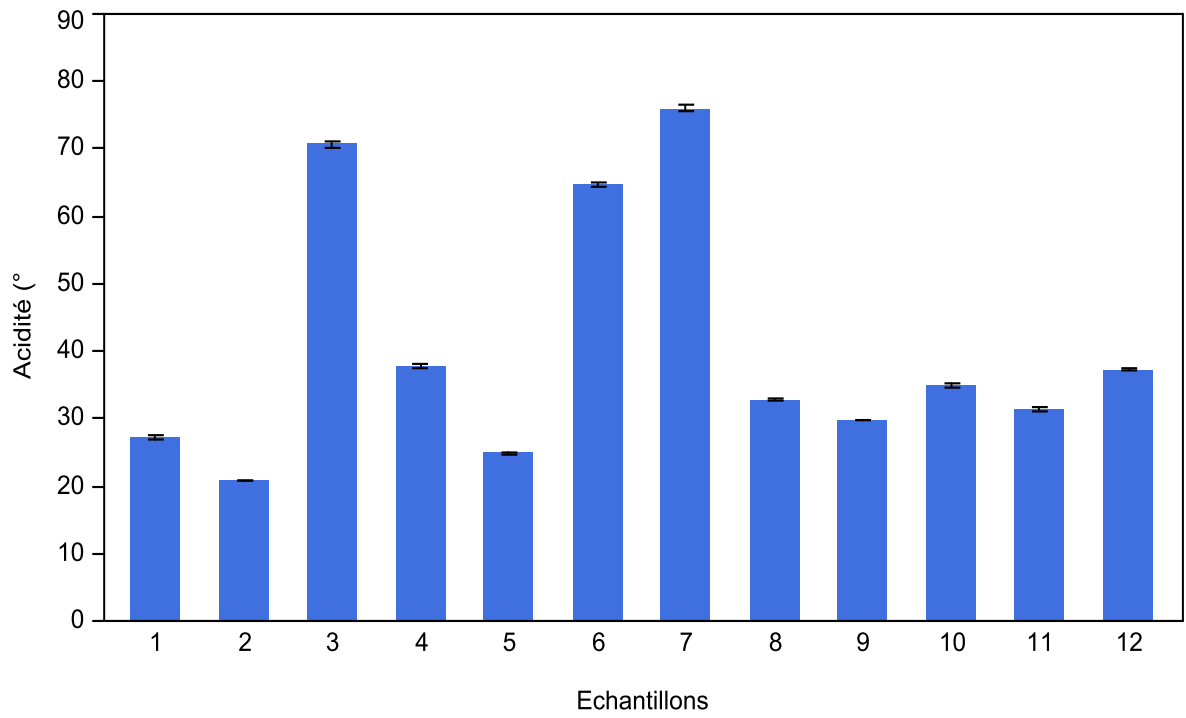
---

Nos résultats sont globalement similaires à ceux rapportés par Bensmail et al (2013) (6.33), par Møller et al (2012) (6.32), par Mucchetti et al (2009) (5.61), et par Othman (2011) (5.23). Cependant, ils sont élevés de ceux rapportés par certains auteurs du Maroc lors de l'étude du fromage *J'ben* à savoir 4.2 (Hamama et al. 1995), entre 3.89 et 4.26 (Rhiat et al. 2013), 4.1 (Hamama and Bayi 1991) et 4.08 (Kouniba et al. 2007). Des résultats similaires ont été rapportés par Bendimerad (2013) sur le fromage *J'ben* algérien (4.3). Cette augmentation enregistrée dans la valeur moyenne du pH des échantillons étudiés est liée principalement au mécanisme de coagulation utilisé (coagulation par action présure dominante) en comparaison avec les résultats rapportés par d'autres auteurs dont la coagulation avait lieu par acidification.

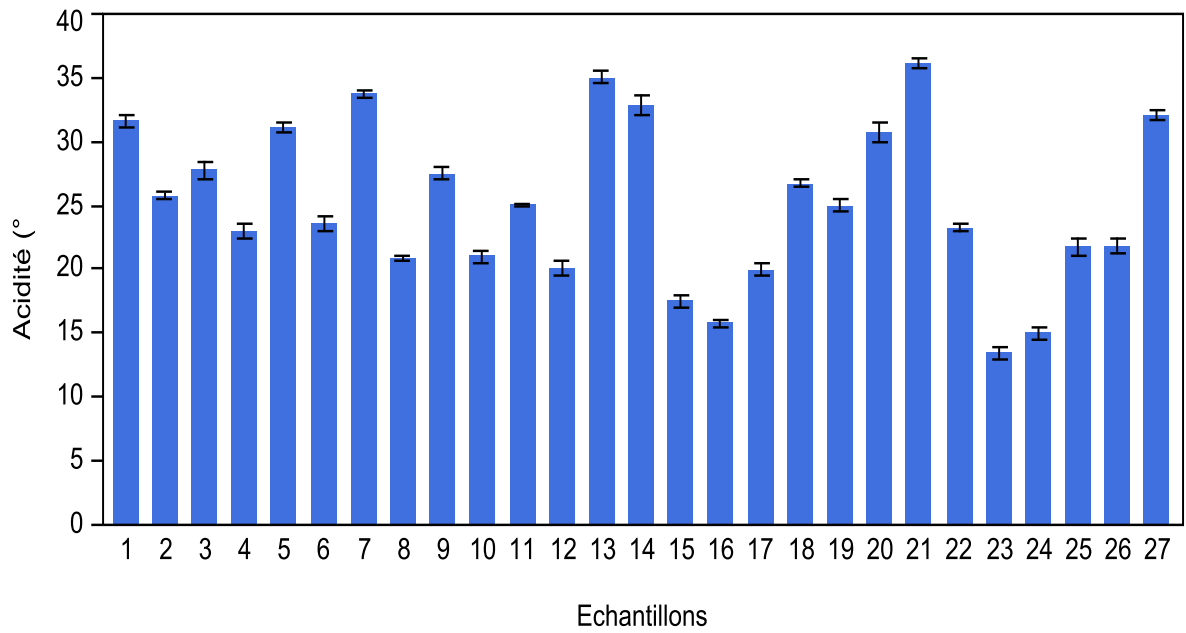
Généralement, la coagulation des fromages frais se base sur l'acidification du lait sous l'action de bactéries acidifiantes ou par des composés chimiques d'action acidifiante. Le caillé ainsi obtenu se caractérise par une valeur de pH faible. Plusieurs méthodes sont utilisées en Algérie pour la fabrication du fromage traditionnel *J'ben*. La méthode la plus utilisée adoptée dans cette étude se base sur la coagulation du lait par action présure dominante. Le coagulum issu de cette coagulation se caractérise par un pH moins faible.

#### **4.1.3. Acidité titrable**

En ce qui concerne l'acidité titrable, une large variation a été enregistrée dans les valeurs moyennes des différents échantillons analysés. Les résultats démontrés dans les tableaux 13 et 14 montrent qu'elle varie de 15.61 à 26.5°D pour les échantillons de fromage destinés à l'étude comparative et de 23.7 à 36.13% pour les échantillons de fromage optimisés. Les échantillons du plan de criblage et ceux du plan d'optimisation renferment une valeur moyenne qui varie de 20.76 à 76°D (figure 30) et de 13.45 à 36.1°D (figure 31), respectivement. Sur le plan statistique, des différences significatives sont enregistrées dans les échantillons destinés à l'étude comparative ( $p < 0,0001$ , tableau 13) et ceux optimisés ( $p < 0,0001$ , tableau 14) contrairement aux échantillons du plan de criblage et ceux du plan d'optimisation, où aucune différence significative n'est enregistrée ( $p > 0.05$ ).



**Figure 31 :**Acidité titrable des échantillons de fromage du plan de criblage.



**Figure 32 :**Acidité titrable des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

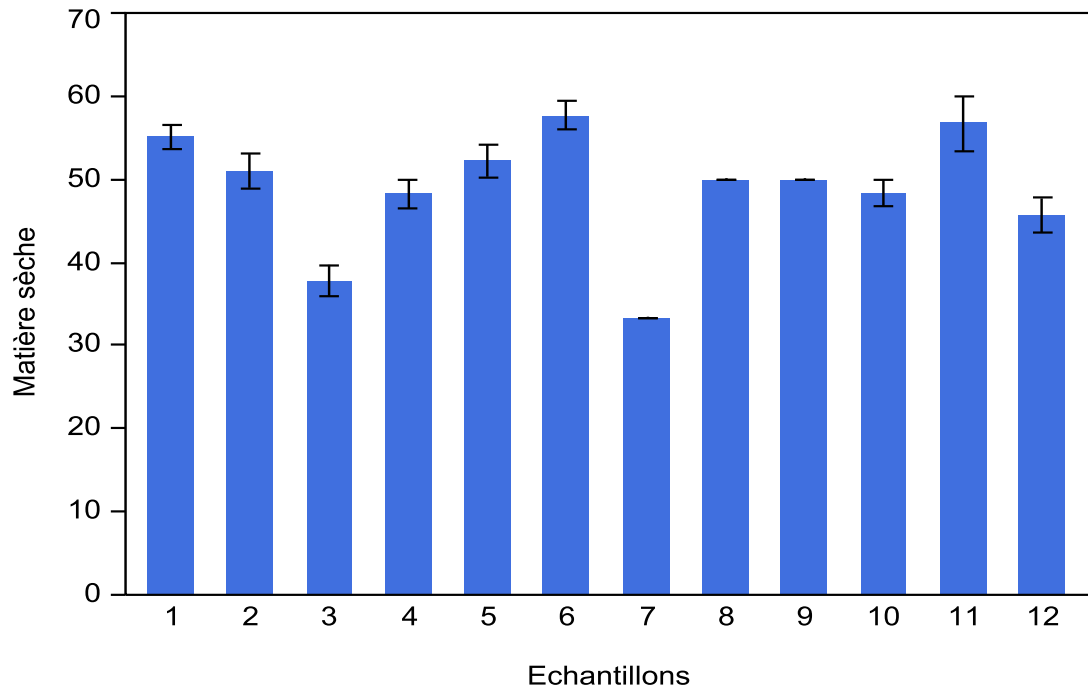
---

Nos résultats sont largement inférieurs à ceux rapportés par d'autres auteurs à savoir, de 76 à 97°D (Rhiat et al. 2013), 87.4°D(Rhiat et al. 2011), 95°D (El Marnissi et al. 2013), 99°D (Préparation *du J'ben* pasteurisé), 104°D (Hamama and Bayi 1991) et 124(Kouniba et al. 2007)lors de l'étude du fromage marocain *J'ben*. Bendimerad (2013) a également enregistrée une valeur moyenne qui varie de 88.25 à 88.5°D dans le fromage *J'ben* algérien.

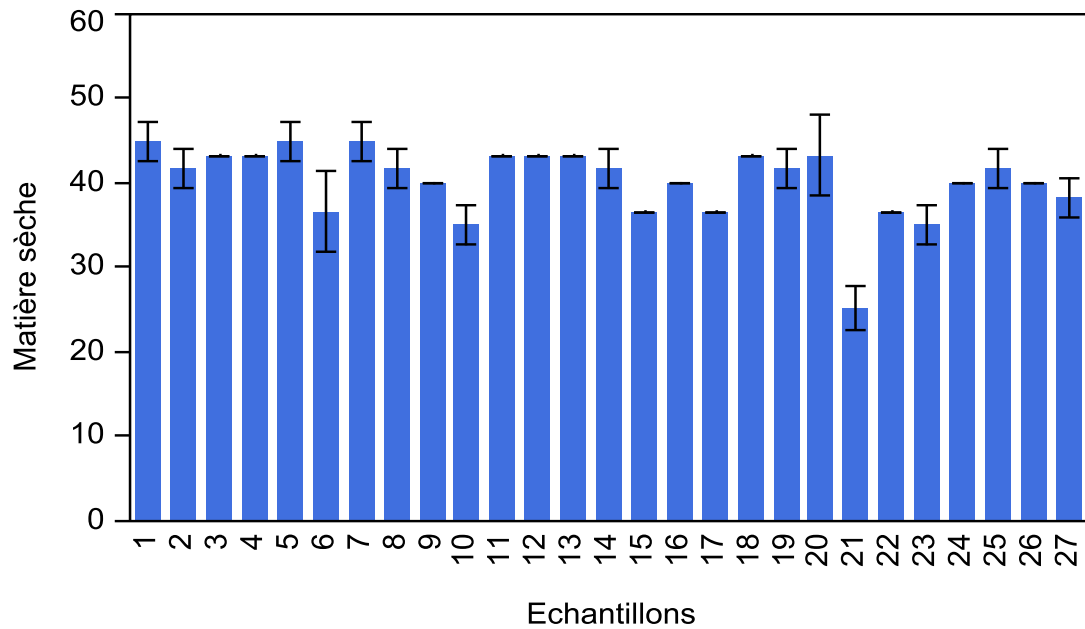
L'acidité développée dans le fromage résulte de la transformation du lactose en acide lactique. Elle est mesurée par titration (El Marnissi et al. 2013). Les faibles valeurs d'acidité titrable enregistrées dans nos résultats reflètent une faible fermentation lactique dans les échantillons de fromage. En effet la préparation de ce fromage se basait sur la coagulation enzymatique après une faible fermentation lactique.

#### **4.1.4. Matière sèche**

La teneur moyenne en matière sèche diffère d'un échantillon de fromage à l'autre. Nous avons enregistrés des valeurs élevés dans les échantillons de fromage préparés à partir de différents agents coagulants autochtones (fromages contrôles) qui varient entre 43.80 et 49.26% contre 30.23% dans les échantillons de fromage prélevés (fromages témoins) (tableau 13). Cette différence est due à la technique d'égouttage utilisée lors de la préparation des fromages contrôles. Elle dépend aussi de la composition de la matière première utilisée. Les échantillons de fromage préparés selon le plan de criblage représentent une large variation en matière sèche qui passe de 33.33 à 57.66% (figure 32). Pour les échantillons de fromage préparés selon le plan d'optimisation, la teneur moyenne en matière sèche varie entre 25.16 et 44.99% (figure 33). Cependant, elle passe de 42.39 à 53.02 % dans les échantillons optimisés (tableau 14). L'analyse de la variance de tout les résultats obtenus sur la teneur en matière sèche montre qu'aucune différence significative n'est observée dans les échantillons du plan de criblage ( $p > 0.05$ ); Cependant, des différences significatives sont observées dans les échantillons destinés à l'étude comparative ( $p < 0,0001$ , tableau 13), les échantillons du plan d'optimisation ( $p < 0,05$ ) et les échantillons optimisés ( $p < 0,0001$ , tableau 14).



**Figure 33 :** Matière sèche des échantillons de fromage du plan de criblage.



**Figure 34 :** Matière sèche des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

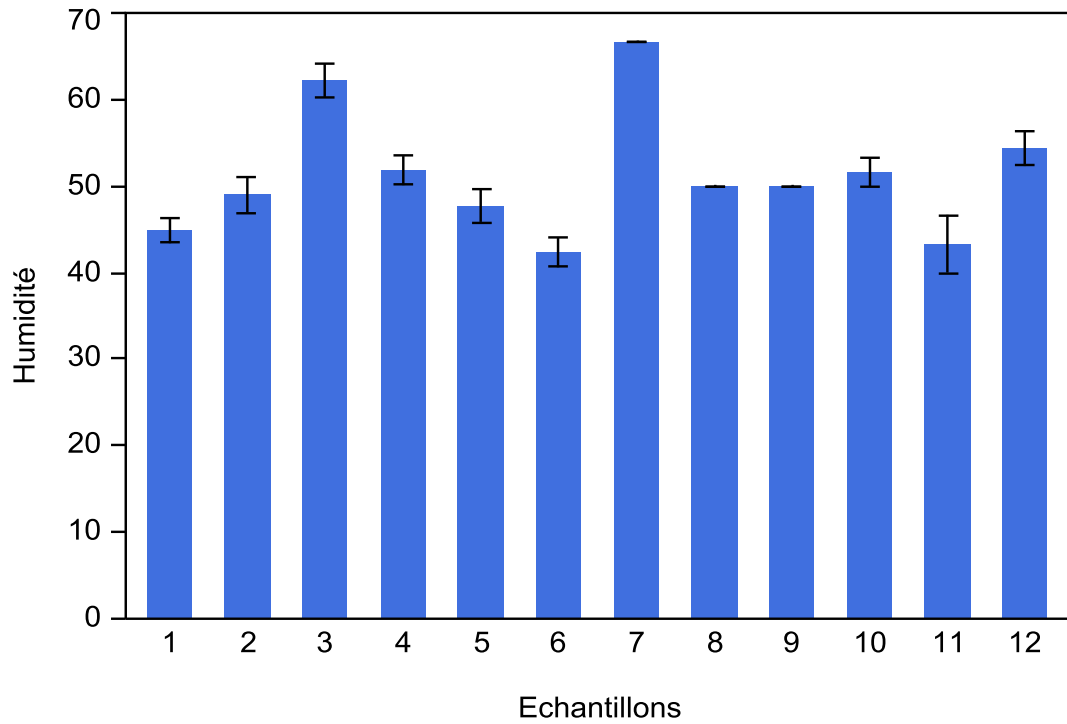


---

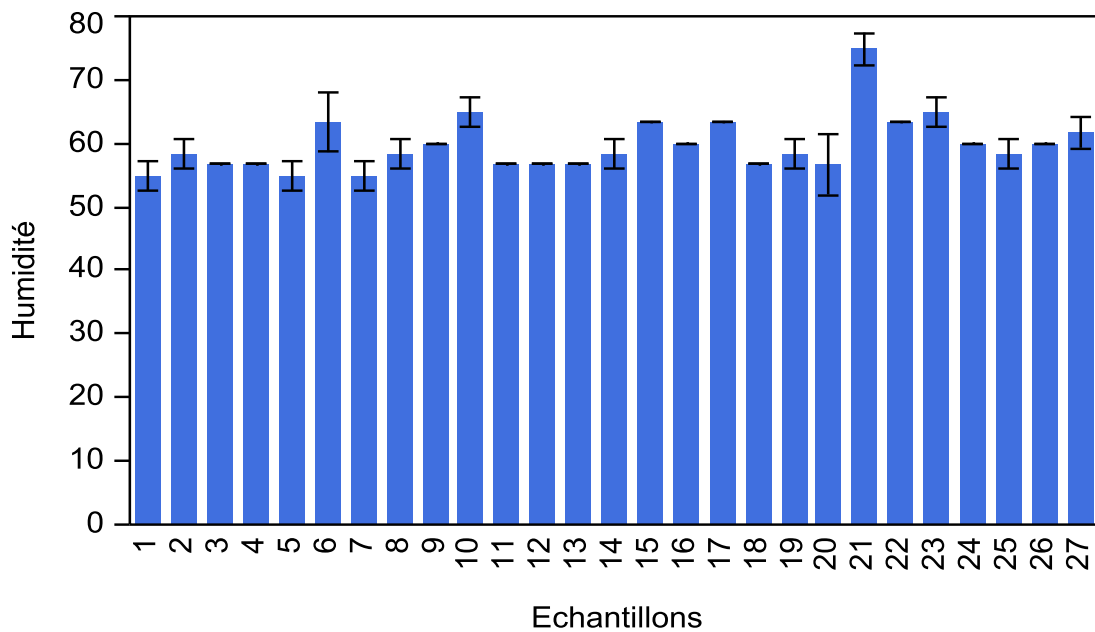
Nos résultats concordent avec ceux rapportés par d'autres auteurs à savoir 47.9% (Bensmail et al. 2013) et de 39.8 à 48.2% (Dib et al. 2010). Selon Hamama and Bayi (1991), la teneur en matière sèche du fromage marocain *J'ben* est de 37.5%. Cependant, nos résultats sont supérieurs de ceux rapportés par Vassal et al (1994) (entre 24.4 et 31.9 % pour un fromage frais), par Bendimerad (2013) (28.5 et 29.3%) et par Hamama et al (1995) (35.5% pour le fromage *J'ben*). Selon Aissaoui-Zitoun (2014), la teneur en matière sèche du fromage traditionnel *Bouhezza* augmente de 24,97 jusqu'à 35.15% au cours de l'affinage.

#### **4.1.5. Humidité**

Les résultats enregistrés montrent que la teneur moyenne en humidité diffère d'un échantillon de fromage à l'autre. Elle varie de 50.73 à 56.19% dans les échantillons de fromage contrôles. Une valeur supérieure a été enregistrée dans les échantillons de fromage témoins (69.77%) (tableau 13). Les échantillons du plan de criblage renferment une teneur moyenne en humidité qui varie entre 42.34 et 66.67% (figure 34). Pour les échantillons du plan d'optimisation et ceux optimisés, elle passe de 55 à 74.83% (figure 35) et de 46.91 à 57.61% (tableau 14), respectivement. Sur le plan statistique, nous avons observés des différences significatives dans les échantillons destinés à l'étude comparative ( $p < 0,0001$ , tableau 13), les échantillons de plan d'optimisation ( $p < 0,05$ ) et les échantillons optimisés ( $p < 0,0001$ , tableau 14). Cependant, aucune différence significative n'a été remarquée dans les échantillons du plan de criblage ( $p > 0,05$ ).



**Figure 35 :** Humidité des échantillons de fromage du plan de criblage.



**Figure 36 :** Humidité des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

---

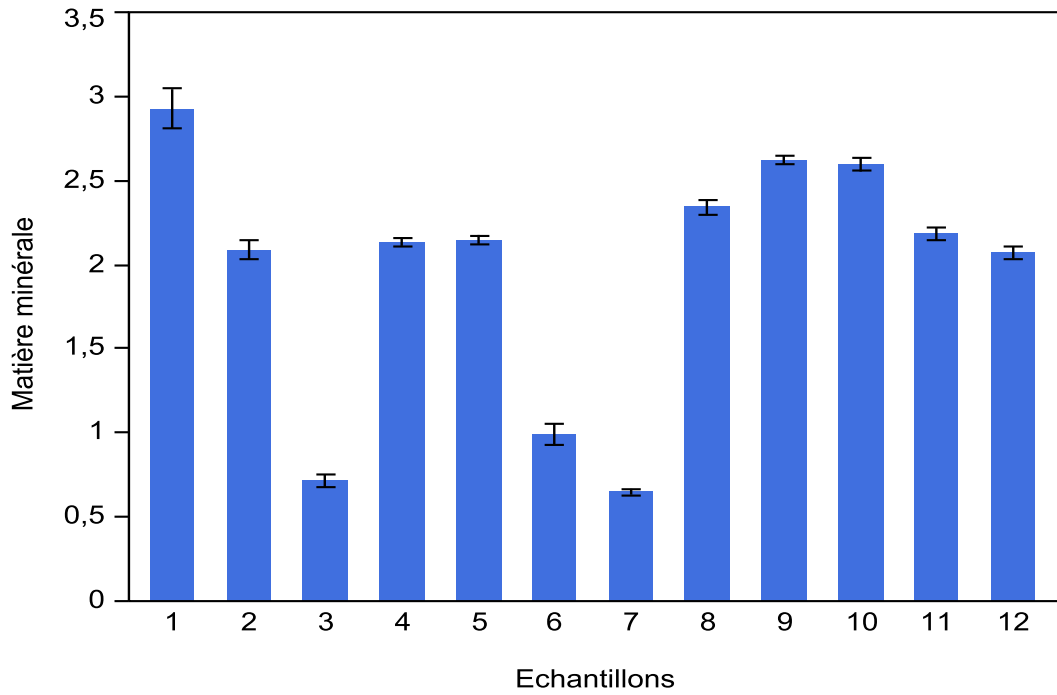
Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Bendimerad (2013) (entre 70.8 et 71.5%) lors de l'étude du fromage *J'ben* algérien. Le fromage coagulé par l'extrait d'enzyme *cynara. humilis* renferme une valeur moyenne de l'humidité égale à 51.41% (Vioque et al. 2000) après 2 jours d'affinage. Cependant, des valeurs supérieures ont été enregistrées par Vassal et al (1994) (entre 79.5 et 80.2%). Nos résultats sont légèrement supérieurs de ceux rapportés par Kurultay et al (2000) (entre 43 et 49.4%).

L'humidité est le composant principal responsable de l'élasticité du fromage. Par son rôle de plastifiant ou de lubrifiant dans la matrice protéique, le fromage devient moins élastique et plus facile de se briser au cours de la compression (Fox et al. 2000). Le traitement thermique du lait destiné à la fabrication du fromage affecte la teneur en humidité dans le produit fini. Les études menées par Othman (2011) montrent qu'un fromage préparé à partir d'un lait frais possède une teneur en humidité inférieure par rapport à celui préparé à partir du lait pasteurisé.

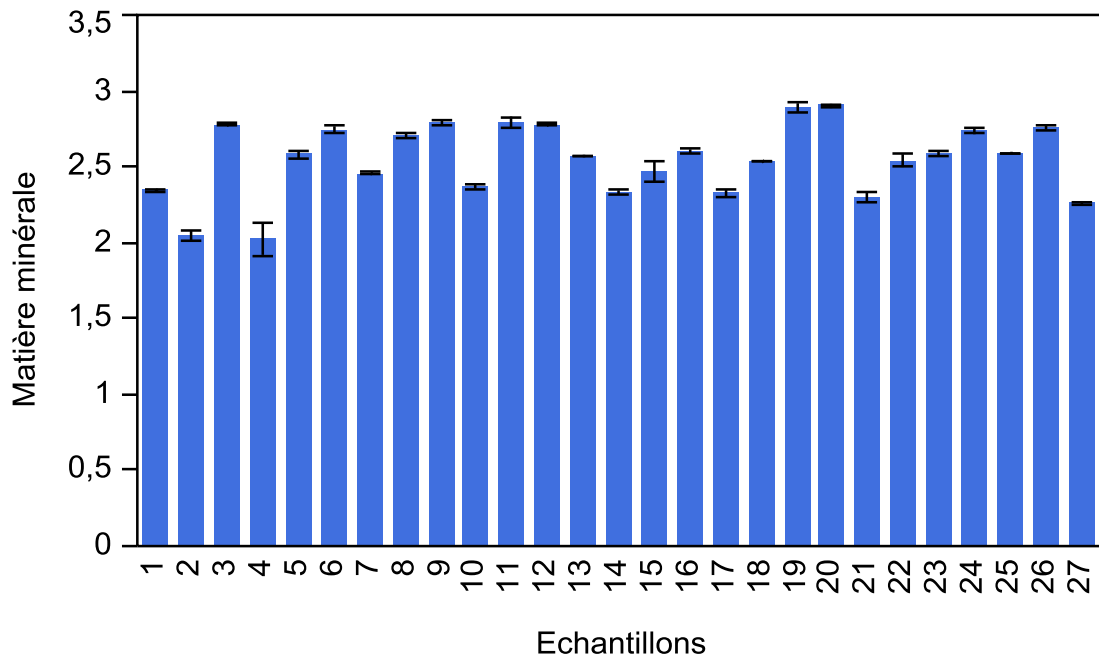
#### **4.1.6. Matière minérale**

Dans un produit alimentaire, la matière minérale constitue les matières inorganiques restantes après l'incinération des matières organiques (Othman 2011).

La détermination de la teneur en matière minérale nous a permis d'obtenir des valeurs moyennes qui sont proches l'une de l'autre dans les échantillons destinés à l'étude comparative (entre 2.05 et 3.02%) (tableau 13). Les résultats illustrés sur la figure 36 montrent une large variation de la teneur en matière minérale entre les différents échantillons de fromage du plan de criblage (entre 0.65 et 2.92%). Elle varie entre 2.02 et 2.9% et entre 0.99 et 2.59% dans les échantillons du plan d'optimisation (figure 37) et ceux optimisés (tableau 14), respectivement. L'étude statistique a révélé que les valeurs moyennes de la teneur en matière minérale dans l'ensemble des échantillons de fromage destinés à la comparaison et ceux optimisés sont significativement différentes ( $p < 0,0001$ , tableaux 13 et 14). Cependant, aucune différence significative n'a été remarquée dans les échantillons du plan de criblage et ceux du plan d'optimisation ( $p > 0,05$ ).



**Figure 37 :** Matière minérale des échantillons de fromage du plan de criblage.



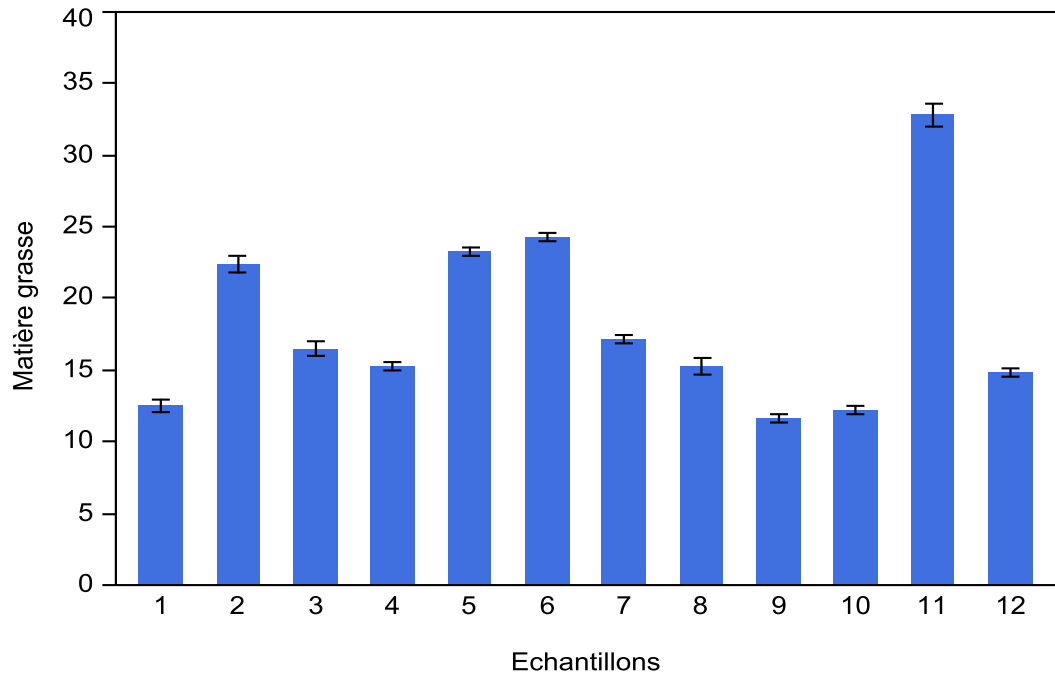
**Figure 38 :** Matière minérale des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

---

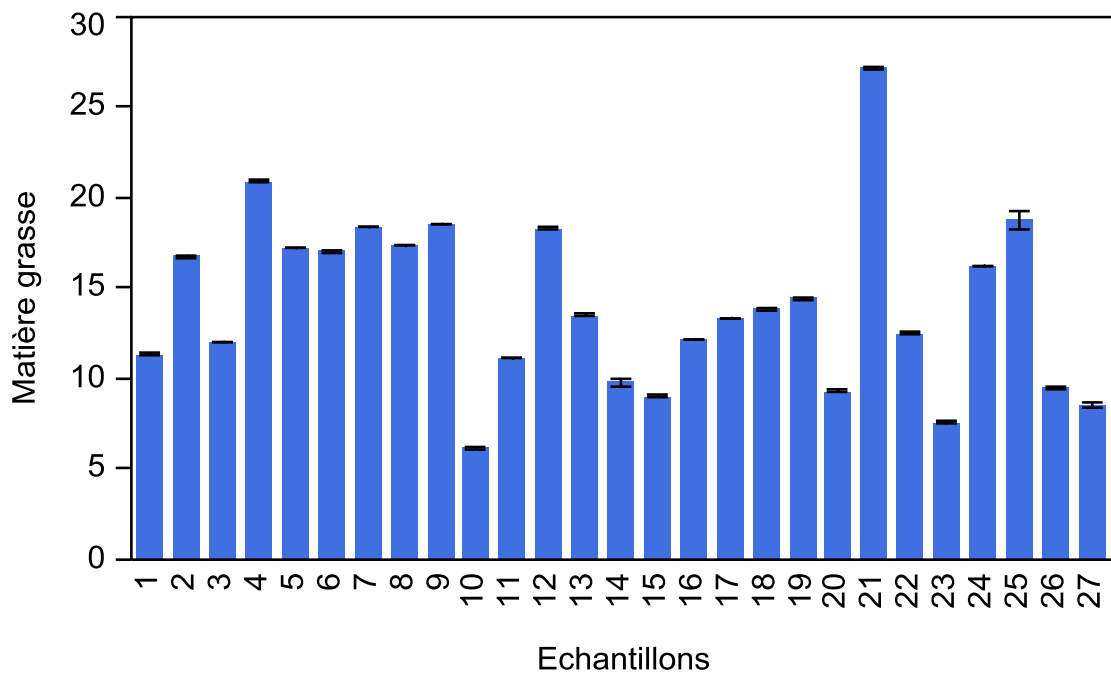
Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Mucchetti et al (2009) (2.26%) lors de l'étude du fromage traditionnel italien *Pannerone*. Cependant, nos résultats sont faible par rapport à ceux rapportés par Othman (2011)(4.25%) lors de la fabrication à petite échelle de fromage de type *Cantal* à partir du lait cru concentré en protéines. Boivin-Piché (2014) a rapporté des résultats similaires (4%). D'après Hamama and Bayi (1991), une valeur moyenne inférieure à été enregistré (0.54%) dans le fromage *J'ben* marocain.

#### **4.1.7. Matière grasse**

En ce qui concerne la teneur en matière grasse, nous pouvons remarquer une large variation dans les valeurs moyennes des différents échantillons analysés. Les échantillons de fromage contrôles sont pauvre en matière grasse par rapport aux échantillons de fromages témoins (tableau 13), à savoir entre 7.63 et 12.32% (fromages contrôles) et 15.70% (fromages témoins). Pour les échantillons de fromage du plan de criblage et du plan d'optimisation, la valeur moyenne passe de 11.66 à 32.86% et de 6.18 à 27.18%, respectivement (figure 38 et 39). Elle varie de 15.13 à 31% dans les échantillons optimisés (tableau 14). Sur le plan statistique, nous remarquons qu'il n'existe aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les pH des différents échantillons de fromage du plan de criblage et ceux du plan d'optimisation. Cependant, les différences significatives sont enregistrées pour les échantillons destinés à la comparaison et ceux optimisés ( $p < 0,0001$ , tableaux 13 et 14).



**Figure 39:** Matière grasse des échantillons de fromage du plan de criblage.



**Figure 40 :** Matière grasse des échantillons de fromage du plan d'optimisation.

---

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par d'autres auteurs (de 21.6 à 28% selon Kurultay et al (2000), 28.57% selon Boivin-Piché (2014) et de 24.75 à 29% selon Vioque et al (2000)). Des résultats proches ont été rapportés par Aissaoui-Zitoun (2014) lors de l'étude du fromage traditionnel *Bouhezza* (entre 7.34 et 12.57%) et par Dib et al (2010) lors de l'étude du fromage *Halloum* (entre 1 et 17.5%). Dans le fromage *J'ben* marocain, la valeur moyenne en matière grasse égale à 16.47 (Hamama and Bayi 1991) et à 18.3% (Hamama et al. 1995). Cependant, Bendimerad (2013) a enregistré une valeur moyenne qui varie de 8.9 à 10.2% dans le fromage *J'ben* algérien. Bensmail et al (2013) ont enregistré une valeur moyenne en matière grasse égale à 19% dans le fromage coagulé par l'enzyme extrait d'*Aspergillus niger* FFB1.

La teneur en matière grasse est un constituant très important pour la texture, la tendreté et l'élasticité du fromage (Dib et al. 2010; Othman 2011). Les teneurs élevées en matière grasse augmente la tendreté du fromage ce qui diminue son degré de mastication et par conséquence, diminue sa consistance caoutchouteuse (Dib et al. 2010). La matière grasse des fromages est composée d'une large variété d'acides gras (74 acides gras identifiés). Cette composition dépend particulièrement de la composition en acides gras du lait (Lagriffoul et al. 2008).

#### **4.1.8. Protéines**

Les valeurs moyennes révélées pour la teneur en protéines des échantillons de fromage optimisés varient entre 10.33 et 15.4%. L'analyse de la variance montre que ces valeurs sont significativement différentes ( $p < 0,0001$ , tableau 14).

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Hamama and Bayi (1991) et par Hamama et al (1995) qui ont enregistrés une valeur moyenne égale à 15.2% et 15.8 %, respectivement dans le fromage *J'ben* marocain. Le fromage *Bouhezza* se caractérise par une teneur en protéines qui varie de 12.22 à 15.88 (Aissaoui-Zitoun 2014). Cependant, des valeurs supérieures ont été rapportées par d'autres auteurs, à savoir entre 21.39 et 23.98% (Vioque et al. 2000), 23.56% dans le fromage traditionnel italien *Pannerone* (Mucchetti et al. 2009), 24.48% dans le fromage type *Cantal* préparé à partir du lait cru (Othman 2011) et entre 23.5 et 28.8% (Kurultay et al. 2000) dans le fromage traditionnel turc *Kashar*.

Les protéines jouent un rôle très important dans la texture du fromage (Othman 2011). Leur valeur augmente progressivement avec la diminution de la teneur en matières grasses et

---

celle de l'humidité du fromage. En revanche, il existe une relation proportionnelle entre la teneur en protéines et celle en matière sèche du fromage (Bulca et al. 2004; Guinee et al. 2006).

#### **4.2. Analyse sensorielle**

En industrie fromagère, la perception sensorielle constitue un élément important de la détermination de la qualité des fromages. C'est une méthode complexe qui dépend de nombreux facteurs à savoir la texture, l'apparence et la présence des composés aromatiques...etc.(Edima 2007).

La richesse de la matière première (lait cru) en protéines et en matière grasse a également un effet sur les propriétés sensorielles d'un fromage. Pour cela, dans notre étude nous avons préparés les fromages de la même étude à partir du même lait (pour chaque étude les fromages préparés possèdent les mêmes caractéristiques premières).

Les tableaux 15 et 16 rassemblent les résultats des tests de dégustation pour les échantillons de fromage destinés à l'étude comparative (JCS, JFC, JPP et JPT) et ceux de fabrication optimisée (JPA, JPB, JPC, JPD et JPE), respectivement. Les résultats présentés dans les tableaux 15 et 16 montrent que les dégustateurs ont donné une appréciation quasi-unanime à la majorité des fromages étudiés. Sur le plan statistique, il n'y a aucune différence significative ( $P > 0.05$ ) entre l'ensemble des fromages étudiés.

A partir du tableau 15, nous pouvons constater que les fromages JCS, JPP et JFC (fromages contrôles) se caractérisent par une croûte lisse, régulière et de couleur blanc et blanc crème contrairement au fromage JPT (fromage témoin) qui se caractérise par une croûte rugueuse, irrégulière et de couleur blanc. La texture des fromages contrôles est notée ferme, homogène (sauf pour le fromage JPP qui est avec ouverture) et de couleur blanc crème. Cependant, pour le fromage JTP elle est notée cassante, avec ouverture et de couleur blanc. Au niveau de tous les fromages l'odeur et l'arôme ont pris les caractéristiques lactiques (petit lait pour les fromages JCS, JFC et JPP et lait frais pour le fromage JTP). Les dégustateurs ont attribué une saveur acide aux fromages JCS et JTP, fade au fromage JPP, et des défauts d'amertume au fromage JFC. Les fromages étudiés se caractérisent par une sensation douceur (fromages JFC et JPP) et acre (fromages JCS et JPT). Le fromage JPP est jugé agréable par la description finale en bouche par rapport au fromage JFC qui se caractérise par un goût plutôt court et aux fromages JCS et JPT qui se caractérisent par un goût intense.



---

Au point de vue sensoriel, la fabrication du fromage *J'ben* par l'utilisation du proventricule de poulet constitue le meilleur agent coagulant autochtone en raison de la première position obtenue par le classement donné par les dégustateurs pour le fromage JPP. Le fromage JFC est classé en deuxième position suivi du fromage JCS en troisième position. Le fromage JPT présenté à titre de comparaison est classé en dernière position et se caractérise par une qualité sensorielle variable par rapport aux fromages préparés au laboratoire (tableau 15). Cette variation peut être expliquée par le fait que ces fromages sont issus de producteurs différents et donc sont préparés par différentes techniques de fabrication.

Il ressort du tableau 16 que la croûte de la majorité des fromages étudiés est jugée lisse, régulière et de couleur blanc crème. Pour la texture, elle est jugée ferme, homogène et de couleur jaune pâle dans la majorité des fromages. Les dégustateurs ont remarqué une certaine saveur caractéristique de ces fromages. Une odeur et un arôme lactique ont été appréciés dans les fromages JPA, JPB, JPC et JPE avec une odeur et un arôme végétal dans le fromage JPD. Aucune distinction n'a été relevée entre les fromages JPA, JPB, JPC et JPD du point de vue saveur (fade). Une sensation douceur est appréciée dans les fromages JPA et JPE et acre dans le fromage JPD. Par la description finale en bouche, nous pouvons constater que le fromage JPD se caractérise par un goût intense par rapport aux autres fromages JPA, JPB, JPC et JPE qui se caractérisent par un goût plutôt court.

D'après le jury de dégustation, le fromage optimisé (JPA) est bien apprécié (classé en première position) suivi du fromage coagulé par la caillette séchée (JPE) qui est classé en deuxième position. En troisième position on retrouve le fromage coagulé par le proventricule de poulet (JPB) et le fromage coagulé par les fleurs de chardon (JPC). Cependant, le fromage optimisé épicé (JPD) par la menthe est moins apprécié par les dégustateurs (quatrième position) (tableau 16). Ces résultats nous permettent de valider la méthode de fabrication optimisée adoptée dans notre étude.

En industrie fromagère, bien que les attentes du consommateur soient très précises, elles peuvent légèrement différer d'une personne à l'autre. C'est la raison pour laquelle il est parfois difficile de juger un fromage plutôt bon ou mauvais en terme de texture ou de saveur. Cependant, des règles qui semblent universelles ont apparues. Les saveurs présentes dans le fromage avec une perception minimale ne provoquent en aucun cas le changement du goût de

base de ce fromage. Il est nécessaire d'avoir une harmonie dans le goût globale. Pour ces raisons, les dégustateurs ont donné une appréciation globale aux fromages étudiés.

Les résultats du test de dégustation sont en adéquations avec les résultats de la composition physicochimique des fromages déjà citée. En effet, la richesse de ces fromages en matière grasse a permis d'obtenir des fromages de texture ferme non cassante et de tendreté élevée. Sachant que ce descripteur influe d'une façon importante la satisfaction du consommateur (Giroux et al. 2013). Ces résultats indiquent la richesse du profil sensoriel du fromage *J'ben*.

**Tableau 15 :** Résultats du test de dégustation des fromages *J'bende* ferme et ceux fabriqués au laboratoire.

<b>Caractère</b>	<b>JCS</b>	<b>JFC</b>	<b>JPP</b>	<b>JPT</b>
<b>Croûte</b>	Lisse Régulière Blanc crème	Lisse Régulière Blanc	Lisse Régulière Blanc crème	Rugueuse Irrégulière Blanc
<b>Texture</b>	Blanc crème Ferme Ouverture	Blanc crème Ferme Homogène	Blanc crème Ferme Homogène	Blanc Cassant Ouverture
<b>Odeur</b>	Petit lait	Petit lait	Petit lait	Lait frais
<b>Arôme</b>	Petit lait	Petit lait	Lait frais	Lait frais
<b>Saveur</b>	Acide	Amère	Fade	Acide
<b>Sensations</b>	Acre	Douceur	Douceur	Acre
<b>En bouche</b>	Intense en goût	Plutôt courte	Agréable	Intense en goût
<b>Classement</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>4</b>

**Tableau 16:** Résultats du test de dégustation des fromages de fabrication optimisée

<b>Caractère</b>	<b>JPA</b>	<b>JPB</b>	<b>JPC</b>	<b>JPD</b>	<b>JPE</b>
<b>Croûte</b>	granuleuse pâteux Blanc crème	Lisse Régulière Crème	Lisse Régulière Blanc crème	Rugueuse Irrégulière Blanc crème	Lisse Régulière Jaune pâle
<b>Texture</b>	Blanc crème Ferme Ouverture	Crème Ferme Homogène	Jaune pâle Ferme Homogène	Blanc ferme Ouverture	Jaune pâle Friable Homogène
<b>Odeur</b>	Petit lait	Petit lait	Petit lait	Herbe	Petit lait
<b>Arôme</b>	Petit lait	Petit lait	Beurre	Herbe	Beurre
<b>Saveur</b>	Fade	Fade	Fade	Fade	Acide
<b>Sensations</b>	Douceur	Fade	Fade	Acre	Douceur
<b>En bouche</b>	Plutôt courte	Plutôt courte	Plutôt courte	Intense en goût	Plutôt courte
<b>Classement</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

D'une manière générale, les résultats des tests physicochimiques et organoleptiques montrent que les échantillons de fromage préparés au laboratoire (fromages contrôles) présentent des qualités meilleurs par rapport aux fromages prélevés de la ferme. Cela indique que le procédé de fabrication adopté du fromage frais *J'ben* est très adéquat. De même, l'optimisation d'un procédé normalisé par l'utilisation des plans d'expérience, plus

---

particulièrement par la méthodologie de surface de réponse est en mesure de permettre d'avoir un fromage frais *J'ben* de qualité régulière.

# **CONCLUSION GENERALE**

---

## Conclusion générale

Par cette recherche, nous apportons notre contribution à l'optimisation du procédé de fabrication du fromage traditionnel algérien *J'ben*. Il s'agit d'une pratique traditionnelle ancestrale qui fait partie du patrimoine culturel algérien. En se basant sur des informations collectées et des expérimentations menées sur le fromage *J'ben* que nous nous sommes fixés d'étudier, nos résultats énoncent des informations très intéressantes sur son savoir-faire existant depuis longtemps chez les populations du nord et du sud-ouest algérien.

Le diagramme de fabrication le plus prépondérant a été adopté et un ensemble des échantillons a été fabriqué. Cette fabrication nécessite l'utilisation du lait cru de la traite du jour en utilisant différents agents coagulants autochtones : la caillette, le proventricule de poulet, la couche du kaolin du gésier de poulet et les fleurs de chardon. Du lait cru de la veille (acidifié) peut être utilisé pour la fabrication du fromage avec des quantités réduites en agent coagulant. La fabrication est lancée souvent à partir du lait cru préalablement chauffé et incubé dans cette température de chauffage. Un morceau de l'agent coagulant placé dans une mousseline est macéré dans le lait. Cette incubation permet la bonne séparation du coagulum de liquide, et son passage à travers une gaze placée dans un récipient poreux suivi d'un pressage accélère l'égouttage. De nos jours, le lait cru de vache semble le plus utilisé mais les laits de chèvres, de brebis ou encore du mélange peuvent l'être aussi selon les disponibilités de l'élevage des familles. Différents échantillons du fromage traditionnel algérien *J'ben* de fermes, en nombre de 5, ont été collectés à partir de la région d'*Ain Sefra* appartenant à la wilaya de Nâama et ont servi à la caractérisation expérimentale. D'autre part, le diagramme de fabrication déduit des informations collectées à travers 25 fabrications contrôlées a permis la confrontation des fromages obtenus aux résultats de caractérisation du fromage *J'ben* de fermes. Cette étude est réalisée dans le laboratoire de recherche Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) de la faculté des sciences de la nature et de la vie université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem.

La comparaison des caractères physicochimiques et sensoriels des fromages a permis de conclure que les échantillons de fromage *J'ben* contrôlés sont caractérisés par une qualité

---

organoleptique plus acceptable en se comparant avec les échantillons de fromage de ferme. La comparaison de la qualité physicochimique a permis de dégager que la teneur en matière sèche exprimée en pourcentage (%) et en matière grasse exprimée en pourcentage (%) dépendaient de la qualité de la matière première utilisée. En général, la teneur en matière sèche est en moyenne de 46.31 % pour les fromages témoins contre 30.23% pour les fromages contrôlés. La valeur du pH varie largement dans les fromages contrôlés (de 5.79 à 6.90) par rapport aux fromages de fermes (5.40). Concernant la teneur en humidité, elle est de 53.63% dans les fromages contrôlés et de 69.77% dans les fromages témoins. Pour la matière grasse, sa teneur moyenne égale à 17.29 % dans les fromages témoins et 21.8% dans les fromages contrôlés. D'autre part, les fromages issus des fabrications contrôlées rejoignent ceux provenant de fabrications fermières par l'ensemble des caractéristiques suivants : rendement fromager (de 16.56 à 18.87%), acidité (de 15.61 à 26.50°D) et teneur en matière minérale (de 2.05 à 2.85%).

L'ensemble des caractères, physicochimiques et organoleptiques précités, permet de valider la méthode de fabrication traditionnelle du fromage *J'ben* adoptée dans notre étude.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude des caractéristiques de la pepsine extraite à partir de proventricule de poulet et son gel correspondant sur le plan biochimique. L'objectif était d'assurer l'utilisation de cette enzyme comme substitut de présure après vérification de son pouvoir de coaguler le lait. Le protocole d'extraction appliqué a permis d'obtenir un rendement de 8.57 unités présure totales par gramme de proventricules frais. Environ 1638 litres de lait pourrait être coagulé par un litre de l'extrait brut de pepsine de poulet caractérisé d'une activité protéolytique ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de 5.41, d'une teneur en protéines ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de 28.62 et d'un rapport activité coagulante /activité protéolytique de 0.10. Cependant, la même quantité du lait pourrait être coagulée par 0.36 litre de présure industrielle de force coagulante égale à 4533US.

L'étude des variations des facteurs : pH et température d'emprésurage, concentration en extrait enzymatique brut et concentration en  $\text{CaCl}_2$  sur la coagulation pepsine et présure a révélé les optima de température entre 55°C et 60°C, de pH entre 5.4 et 5.6, de concentration en  $\text{CaCl}_2$  de 0,03 M et de concentration en pepsine et en présure de 0.9  $\text{mg mL}^{-1}$  de lait. En vue d'assurer la stabilité de l'extrait brut de la pepsine de poulet, la stabilité thermique et celle vis-à-vis du pH ont été étudiés. Les résultats obtenus ont permis de conclure que l'extrait de pepsine de poulet était sensible aux températures élevées du milieu réactionnel et il perte

---

complètement son activité coagulante résiduelle à une température de 80°C. L'extrait de pepsine garde son activité coagulante résiduelle stable (entre 94.06 et 83.66 %) dans un pH acide et devient inactif dans un pH alcalin.

La dernière partie de ce travail est consacrée à l'optimisation de la fabrication du fromage *J'ben*. Elle s'est portée sur deux volets qui se basent sur l'utilisation des plans d'expériences : une approche qualitative correspondant à l'analyse de screening permettant d'extraire les facteurs qui affectent le plus la réponse à partir de laquelle relève une analyse quantitative (RSM) fondée sur la construction et l'analyse des surfaces de réponses. Un total de 74 échantillons de fromage est préparé dans le laboratoire de microbiologie (Faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Mohamed Saddik BEN YAHYA de Jijel), en Algérie. Le procédé de fabrication a été réalisé selon la méthode traditionnelle et des échantillons ont été préparés dans différentes conditions, comme indiqué dans le protocole expérimental présenté dans les tableaux 3 et 4.

Dans un premier temps nous avons mis en œuvre un plan de criblage dit de Plakett-Burman, afin de dégager les facteurs qui affectent la réponse. L'application de ce plan a ressorti quatre facteurs importants : l'enrichissement au lait en poudre, le pH du lait, la dose de l'extrait enzymatique et la température d'emprésurage. Dans un deuxième temps, ces quatre facteurs ont été étudiés par la méthodologie des surfaces de réponses (RSM). Nous avons appliqué un plan de Box-Behnken, basé sur un modèle du second degré. La conversion a été ainsi modélisée en fonction de ces quatre facteurs. D'après les analyses statistiques, le modèle obtenu est très hautement significatif,  $P < .0001^{***}$  ( $< 0,001$ ) et il y'a une corrélation satisfaisante entre les valeurs mesurées et les valeurs ajustées,  $R^2$  égale à 90.73% et  $R^2$  ajusté égale à 87.41%.

La recherche des conditions optimales, effectuée par l'analyse des diagrammes des surfaces de réponses et de contours plot donnés par le logiciel, a permis de déterminer théoriquement les valeurs optimales des facteurs étudiés, à savoir l'enrichissement au lait en poudre à 20 g/L, le pH du lait à 5.75, la dose d'extrait enzymatique à 1.29 mL et la température d'emprésurage à 60°C. Afin de tester la validité du modèle appliqué, nous avons réalisé une expérience en respectant les valeurs de la solution donnée par le logiciel pour chaque facteur. Le résultat de cette expérience a confirmé la validité du modèle avec une excellente corrélation entre les résultats expérimentaux et les valeurs prédites qui égale à 93.88% des valeurs. Grace à la méthodologie pour surface de réponse, le modèle établi dans

---

l'étude de l'optimisation de la production du fromage traditionnel algérien *J'ben* possède une forte puissance d'explication des résultats expérimentaux. Les variables étudiées sont validées expérimentalement après détermination des valeurs optimales. Les échantillons ainsi préparés tout au long de l'étude d'optimisation ont été analysés. Les résultats de la composition physicochimique et de l'évaluation sensorielle de ces fromages sont très satisfaisants par rapport à ceux des fromages de ferme. Ceux-ci prouvent pour une deuxième fois la réussite de la méthode d'optimisation adoptée.

Grace à cette étude, nous avons pu tracer les principaux axes relatifs à l'optimisation du procédé de fabrication du fromage traditionnel *J'ben* après une caractérisation de ce fromage. En termes de perspectives, il nous parait nécessaire de développer des approches plus exhaustives en termes de :

- Caractérisation biochimique plus profonde pour mieux développer la connaissance des différents aspects de ce fromage traditionnel et pour avoir des résultats encore plus concluante;
- Etude et comparaison des activités coagulantes des enzymes issus des différents agents coagulants autochtone utilisés dans le traditionnel. Cette étude permettrait de déterminer l'agent coagulant qui présente le plus des propriétés technologiques compatibles avec l'environnement fromager ;
- Optimisation de différentes techniques d'extraction et de purification d'enzyme dans un but d'améliorer le rendement et de porter son utilisation pourquoi pas à l'échelle industrielle.



---

# **REFERENCES**

# **BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## Références bibliographiques

### A-B

- Abi-Azar R. 2007. Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier: propriétés technologiques des coagulums obtenus [Thèse de Doctorat ]: Ecole doctorale ABIES. 196 p.
- Abu-Tarboush H. 1996. Comparison of associative growth and proteolytic activity of yogurt starters in whole milk from camels and cows. *Journal of Dairy Science* 79(3):366-371.
- Addeo F, Masi P. 1992. Production of pasta cheese In: 3rd cheese symposium, National Dairy Products Research Center, Moorepark. Edition T M Cogan Teagasc, Fermoy Co. Cork: 31-40.
- AFNOR. 1993. Recueil de normes françaises. Contrôle de la qualité de produits alimentaires: Laits et produits laitiers. Analyses physicochimiques. Afnor-dgccrf (4ème ed.): Paris: La Défense. p 562.
- AFNOR. 2001: NF EN ISO 1211: Lait - Détermination de la teneur en matière grasse - Méthode gravimétrique (méthode de référence). décembre 2001.21.
- AFNOR. 2004. Association Française de Normalisation. Chemical analysis.
- Aggad H, Mahouz F, Ammar YA, Kihal M. 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev Méd Vét* 160:590-595.
- Agroligne. 2001. Revue N°14 – Avril – Mai.
- Aissaoui- Zitoun O, Benatallah L, Ghennam E, Zidoune MN. 2011. Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 9(2 part 1):96-100.
- Aissaoui-Zitoun O. 2014. Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « Bouhezza » [Thèse de doctorat]: Université Mentouri de Constantine. 196 p.
- Alais C. 1984. Principes des techniques laitières. *Science du Lait*:196-197.
- Alamargot J. 1982. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires: Edition du Point Vétérinaire. 289 p.

- 
- Alichanidis, E., and A. Polychroniadou. 2008. "Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review." *Dairy Sci. Technol.* 88:495-510.
- Amenaghawon M, Nwaru K, Aisien F, Ogbeide S, Okieimen C. 2013. Application of Box-Behnken Design for the Optimization of Citric Acid Production from Corn Starch Using Papergirl Niger. *British Biotechnology Journal* 3(3) 236-245.
- Anonyme. 1995. Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome, Le fromage. 177-186p. Collection FAO : Alimentation et nutrition, 28. ISBN 92-5-203534-6.
- Aworh OC, Nakai S. 1986. Extraction of milk clotting enzyme from Sodom apple (*Calotropis procera*). *Journal of Food Science* 51(6):1569-1570.
- Bachir bey, M., L. Meziat, Y. Benchikh, and H. Louaileche. 2014. "Deployment of response surface methodology to optimize recovery of dark fresh fig (*Ficus carica* L., var. Azenjar) total phenolic compounds and antioxidant activity." *Food Chemistry* 162:277-282.
- Barbano D, Clark J. 1990. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. *Journal-Association of Official Analytical Chemists* 73(6):849-859.
- Baudyš M, Kostka V. 1983. Covalent structure of chicken pepsinogen. *European journal of biochemistry* 136(1):89-99.
- Bencharif, A. 2001. "Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques." *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches* 32: 25-45.
- Bendimerad N. 2013. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben.» [Thèse de Doctorat ]: Aboubekr Belkaid de Tlemcen 255 p.
- Bengoumi M, Faye B, Tressol J-C. 1994. Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre. Nouakchott, Mauritanie.
- Benkerroum, N., and A.Y. Tamime. 2004. "Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale." *Food Microbiology* 21:399-413.
- Bensmail S, Nouar H, Bouchenak K, Fazouane-naimi F. 2013. Etude de l'aptitude fromagere d'un extrait enzymatique coagulant produit par *aspergillus niger* ffb1. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 7(N°1):22.
- Benyahia FA. 2013. Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie [Thèse de doctorat]: Université de Constantine 1. 173 p.
- Berridge N. 1945. The purification and crystallization of rennin. *Biochemical Journal* 39(2):179.

- 
- Bohak Z. 1969. Purification and characterization of chicken pepsinogen and chicken pepsin. *Journal of Biological Chemistry* 244(17):4638-4648.
- Boivin-Piché J. 2014. Fabrication de fromages de type Cheddar à partir de laits de fromagerie concentrés en protéines et fortifiés en vitamine D: Université LAVAL, Québec, Canada. 127 p.
- Boudjenah-Haroun S. 2012. Aptitudes à la transformation du lait de chamelle en produits dérivés : effet des enzymes coagulantes extraites de caillettes de dromadaires [Thèse de Doctorat]. 182 p.
- Box GE, Behnken DW. 1960. Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics* 2(4):455-475.
- Brulé G, Lenoir J, Remeuf F. 1997. La micelle de caséine et la coagulation du lait. In : *Les agents de transformation du lait. Le fromage*. Eck A and Gillis J C. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris: 7-41.
- Bulca S, Leder J, Kulozik U. 2004. Impact of UHT or high heat treatment on the rennet gel formation of skim milk with various whey protein contents. *Milchwissenschaft* 59(11-12):590-593.

#### C-D

- Cazet LDM. 2007. Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. [Thèse Doctorat] en médecine vétérinaire. l'Université claudobernard. Lyon, p153.
- Chambers DH, Chambers IV E, Johnson D. 2005. Flavor description and classification of selected natural cheeses. *Worshipful Company of Cooks Research Centre, Bournemouth, Poole, UK.*:641-654.
- Chazarra S, Sidrach L, López-Molina D, Rodríguez-López JN. 2007. Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus*, L.) flowers. *International Dairy Journal* 17(12):1393-1400.
- Chen H, Bao C, Wang C. 2016. Response surface methodology for optimizing fermentation conditions of goat yogurt with *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus casei*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*:547-553.
- Cogan U, Kopelman I, Schab R. 1982. Combined Temperature-Concentration Effects on the Clotting Rate of Chicken Pepsin. *Journal of Dairy Science* 65(7):1130-1134.
- Choisy C, Desmazeaud M J, Gripon J C, Lambert G, Lenoir J. 1997. La biochimie de l'affinage In : *Le fromage*. 3ème édition. Edition Tec et Doc Lavoisier : 86-153.
- Cohn EJ, Edsall JT. 1943. *Proteins, amino acids and peptides as ions and dipolar ions*: Reinhold Publishing Corporation; New York.
- Collin J, Grappin R, Legraet Y. 1977. Étude de la méthode de mesure, selon Berridge, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. *Revue laitière française*.

---

Colin O, Laurent F, Vignon B. 1992. Variations du rendement fromager en pâte molle. Relations avec la composition du lait et les paramètres de la coagulation. *Le Lait* 72(3):307-319.

Delobette H, Friry A, Plewniak F, Egly J. 1991. Le dosage des protéines. *Le Technoscope de Biofutur* 41:3-11.

De Oliveira LA. 2007. Composition chimique du lait, [en ligne], Cours de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Alimentation des Animaux. [<http://www2.vet-lyon.fr/ens/nut/webBromato/cours/cmlait/compolai.html>].

Dib H, Semaan EH, Abdallah GA. 2010. Optimisation des conditions de production du halloum demi-ecreme. *Lebanese Science Journal* 11(1):45.

#### E-F

Eck A. 1987. *Le fromage*. 2ème éd. Tech. Lavoisier. Paris .101-227.

Eck A, Gillis JC. 1997. Les agents de transformation du lait. *Le fromage*. 3ème éd: Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris. 189 p.

Edima HC. 2007. *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat: Institut National Polytechnique de Lorraine.

El Marnissi B, Belkhou R, Bennani L. 2013. Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les technologies de laboratoire* 8(33).

FAO/OMS. 1990 (1978 modifié). *Codex alimentarius* n° A-6. Chapitre 6 : Fromage : Définition et Classification.

Fernandez-Lahore H, Auday R, Fraile E, Cascone O, Biscoglio de Jimenez Bonino M, Pirpignani L, Machalinski C. 1999. Purification and characterization of an acid proteinase from mesophilic *Mucor* sp. solid-state cultures. *The Journal of peptide research* 53(6):599-605.

Ferreira, S.L.C., R.E. Bruns, H.S. Ferreira, G.D. Matos, J.M. David, G.C. Brandão, E.G.P. da Silva, L.A. Portugal, P.S. dos Reis, A.S. Souza, and W.N.L. dos Santos. 2007. "Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods." *Analytica Chimica Acta* 597:179-186.

Florence C. 2010. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras, voies d'amélioration par l'alimentation. Ecole nationale vétérinaire d'ALFOR: thèse. Doctorat vétérinaire. P 51.

Foltmann B. 1971. The biochemistry of prorennin and rennin (chysosin) In : *Milk proteins, chemistry and molecular biology*. Mc Kenzie H A. Vol 2. Edition Academic press: 217-252.

Fox P, Guinee T, Cogan T, McSweeney P. 2000. *Fundamentals of cheese science*: Edition ASPEN Inc. Gaithersburg, Maryland. 544 p.

- 
- Fox P, Kelly A. 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects—Part 1. *International Dairy Journal* 16(6):500-516.
- Fox P F, Law J, Mcsweeney P L H, Wallace J. 1993. Biochemistry of cheese ripening In : *Cheese chemistry, physics and microbiology, General aspects*. Fox P F. Second edition, Vol I. Edition Springer-Science and Business Media, B.V: 389-438
- Fusek M, Vetvicka V. 2005. Dual role of cathepsin D: ligand and protease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 149(1):43-50.

### G-H

- Gast H, Maubois G, Adda J. 1969. *Le lait et les produits laitiers en Ahggar*: Edition Arts et métier graphique. Paris.
- Giroux HJ, De Grandpré G, Fustier P, Champagne CP, St-Gelais D, Lacroix M, Britten M. 2013. Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. *Dairy Science & Technology* 93(3):241-254.
- Gomes, T., C. Barradas, T. Dias, J. Verdial, J.S. Morais, E. Ramalhosa, and L.M. Estevinho. 2013. "Optimization of mead production using Response Surface Methodology." *Food and Chemical Toxicology* 59:680-686.
- Gorban AM, Izzeldin OM. 1997. Mineral content of camel milk and colostrum. *Journal of Dairy Research* 64(3):471-474.
- Gordin S, Rosenthal I. 1978. Efficacy of chicken pepsin as a milk clotting enzyme. *Journal of food Protection* 41(9):684-688.
- Gouda I, El-Zayat A, El-Safty M, Genied R. 1988. Utilization of chicken repsin in cheese making I. Extraction and some properties. *Egyptian J. Dairy Sci* 16:215-221.
- Green ML, Stackpoole A. 1975. The preparation and assessment of a suitable *Mucor pusillus* Lindt proteinase–swine pepsin mixture for Cheddar cheese-making. *Journal of Dairy Research* 42(2):297-312.
- Green ML, Valler MJ, Kay J. 1984. Assessment of the suitability for Cheddar cheesemaking of purified and commercial chicken pepsin preparations. *Journal of Dairy Research* 51(2):331-340.
- Guinee T, O’Kennedy B, Kelly P. 2006. Effect of milk protein standardization using different methods on the composition and yields of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 89(2):468-482.
- Guo MR, Gilmore JA, Kindstedt PS. 1997. Effect of sodium chloride on the serum phase of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 80(12):3092-3098.
- Gupta, R., N. Gupta, and P. Rathi. 2004. "Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties." *Applied Microbiology and Biotechnology* 64:763-781.

- 
- Hallel A. 2001. Fromages traditionnels algériens. Quel avenir? . Revue Agroligne 14:43-47.
- Hamama A, Bayi M. 1991. Composition and microbiological profile of two Moroccan traditional dairy products: raib and jben. International Journal of Dairy Technology 44(4):118-120.
- Hamama A, El Marrakchi A, Mahi N, Abouddrar W. 1995. Préparation du jben pasteurisé à l'aide de levains lactiques sélectionnés. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires 15(3):27-32.
- Hamidi M. 2015. Etudes des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la coagulation du lait de dromadaire par la couche de kaolin du gésier des poules [Thèse de Doctorat]: Université Mohamed Khider de Biskra. 174 p.
- Hamzah, H.M., A. Osman, C.P. Tan, and F. Mohamad Ghazali. 2013. "Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika)." Postharvest Biology and Technology 75:142-146.
- Hong, C., and W. Haiyun. 2010. "Optimization of volatile fatty acid production with co-substrate of food wastes and dewatered excess sludge using response surface methodology." Bioresource Technology 101:5487-5493.

#### I-J

- IDF. 2008. The World Dairy Situation 2008, Document No. 432. International Dairy Federation. Brussels.
- Irlinger F, Mounier J. 2009. Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. Current Opinion in Biotechnology 20(2):142-148.
- Jacob M, Jaros D, Rohm H. 2011. Recent advances in milk clotting enzymes. International journal of dairy technology 64(1):14-33.
- Jeanet R, Croguennec T, Mahaut M, Schuck P, Brulé G. 2007. Les produits laitiers: Editions Tec & Doc Lavoisier.

#### K-L

- Kamoun M. 1991. Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation In : Option Méditerranéenne. Edition CIHEAM : 23-103.
- Kamoun M. 1994. Evolution de la composition du lait de dromadaire durant la lactation : conséquences technologiques. Actes du Colloque « Dromadaires et chameaux animaux laitiers », 24-26-octobre 1994. Nouakchott, Mauritanie.
- Kouniba A, Berrada M, El Marakchi A. 2007. Étude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race locale Marocaine et la race alpine et évaluation de leur aptitude fromagère. Revue Méd. Vét 158(03):152-160.
- Koussou MO, Grimaud P, Mopaté LY. 2007. Evaluation de la qualité physico-chimique et hygiénique du lait de brousse et des produits laitiers locaux commercialisés dans les

- 
- bars laitiers de N'Djamena au Tchad. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 60(1-4):45-49.
- Kra K, Mégnanou R, Akpa E, Assidjo N, Niamké L. 2013. Evaluation of physico-chemical, nutritional and microbiological quality of raw cow's milk usually Consumed in the central part of Côte d'Ivoire. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 13(3).
- Kurultay S, Öksüz Ö, Simsek O. 2000. The effects of hydrocolloids on some physicochemical and sensory properties and on the yield of kashar cheese. *Nahrung* 44(5):377-378.
- Labioui H, Elmoualdi L, Benzakour A, El Yachioui M, Berny E, Ouhssine M. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 148:7-16.
- Lagriffoul G, Chilliard Y, Rock E, Soustre Y, Verdaguer M, Bailly C, Millet F, Masle I, Pinelli JM. 2008. Composition fine du lait et des fromages de brebis. Document de synthèse "Programme mené dans le cadre du Comité Lait de Brebis de l'Office de l'Elevage", Septembre 2008. France. p 6.
- Lagaude A, Fernandez L, Cuq J-L, Marchesseau S. 2004. Characterization of curd formation during the rennet coagulation of milk by an optical microscopic method. *International dairy journal* 14(12):1033-1039.
- Lahsaoui S. 2009. Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien (Klila): [Thèse de Doctorat]. Département d'Agronomie. Université de Batna. Algérie.
- Lapointe-Vignola C. 2002. Science et technologie du lait: transformation du lait: Presses inter Polytechnique.
- Larbier M, Leclercq B. 1992. Nutrition et alimentation des volailles INRA, Paris. 347 p.
- Larsson KI, Andrén A. 1997. Affinity between chymosin and individual caseins at varying pH-values. *International dairy journal* 7(10):615-618.
- Law BA, Tamime AY. 2010. Technology of cheesemaking. second e, editor: John Wiley & Sons. London, UK.
- Lawrence R, Creamer L, Gilles J. 1987. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science* 70(8):1748-1760.
- Lenoir J, Remeuf F, Schneid N. 1997. L'aptitude du lait à la coagulation par la présure In : Le fromage, de la science à l'assurance de qualité. Eck A et Gillis J C: 3ème édition, Lavoisier Tec.& Doc :229-256.
- Libouga D, Vercaigne-Marko D, Djangal SL, Choukambou I, Ebangi A, Ombionyo M, Beka R, Aboubaka T, Guillochon D. 2006. Mise en évidence d'un agent coagulant utilisable en fromagerie dans les fruits de *Balanites aegyptiaca*. *Tropicult* 24(4):229-238.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 193:265-275.
- Lucey JA. 2002a. Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science* 85(2):281-294.



---

Lucey JA. 2002b. Rennet coagulation In : Encyclopedia of dairy sciences, Roginski H., Fox P.F. and Fuquay J.W., . edition Academic Press San Diego, CA : 286-293.

Lupien J. 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO. Alimentation et Nutrition, n° 28, ISBN 92-5-20534-6.

M-N

Mandy J, Jaros D, Rohm H. 2011. Recent advances in milk clotting enzymes. International journal of dairy technology 64(1):14-33.

Mannan S, Fakhru'l-Razi A, Alam MZ. 2007. Optimization of process parameters for the bioconversion of activated sludge by *Penicillium corylophilum*, using response surface methodology. Journal of Environmental Sciences 19(1):23-28.

Mathieu J. 1998. Initiation à la Physico-Chimie du Lait: 1ère édition. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris. 220 p.

Maubois J-L, Mocquot G. 1971. L'appréciation des rendements en fromagerie. Le lait 51(507):416-420.

Mazal G, Vianna P, Santos M, Gigante M. 2007. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. Journal of Dairy Science 90(2):630-636.

McSweeney P L H , Fox P F. 2004. Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate, general aspect In: Cheese Chemistry, Physics and Microbiology. Fox P F, Mcsweeney P L H, Cogan T M, Guinee T P. Third édition, Vol 1. Edition Elsevier London, England: 361-372.

McSweeney PL, Sousa MJ. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. Le Lait 80(3):293-324.

Mennane Z, Khedid K, Zinedine A, Lagzouli M, Ouhssine M, Elyachioui M. 2007. Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. World Journal of Dairy & Food Sciences 2(1):23-27.

Merheb CW, Cabral H, Gomes E, Da-Silva R. 2007. Partial characterization of protease from a thermophilic fungus, *Thermoascus aurantiacus*, and its hydrolytic activity on bovine casein. Food Chemistry 104(1):127-131.

Mietton B, Gaucheron F, Michel S F. 2004 In : Minéraux et produits laitiers. Gaucheron F. Edition Tec et Doc Lavoisier.Paris : 471-583.

Mistry V, Brouk M, Kasperson K, Martin E. 2002. Cheddar cheese from milk of Holstein and Brown Swiss cows. Milchwissenschaft 57(1):19-23.

Møller KK, Rattray FP, Høier E, Ardö Y. 2012. Erratum to: Manufacture and biochemical characteristics during ripening of Cheddar cheese with variable NaCl and equal moisture content. Dairy science & technology 92(5):541-568.

Moschopoulou E, Kandarakis I, Anifantakis E. 2004. Effect of extraction conditions on the characteristics of the traditional lamb rennet. Greek J. Dairy Sci. Technol(1):27-42.

- 
- Moschopoulou E, Kandarakis I, Anifantakis E. 2007. Characteristics of lamb and kid artisanal liquid rennet used for traditional Feta cheese manufacture. *Small ruminant research* 72(2-3):237-241.
- Moschopoulou E, Onoufriou E, Kandarakis I. 2009. Effects of diet and abomasum parts on enzymic properties of liquid lamb rennet. *Italian Journal of Food Science* 21(1).
- Mucchetti G, Ghiglietti R, Locci F, Francolino S, Bonvini B, Remagni MC, Zago M, Iezzi R, Carminati D. 2009. Technological, microbiological and chemical characteristics of Pannerone, a traditional Italian raw milk cheese. *Dairy Science & Technology* 89(5):419-436.
- Murthy MSRC, Swaminathan T, Rakshit SK, Kosugi Y. 2000. Statistical optimization of lipase catalyzed hydrolysis of methyloleate by response surface methodology. *Bioprocess Engineering* 22(1):35-39.
- Nagar S, Gupta VK, Kumar D, Kumar L, Kuhad RC. 2010. Production and optimization of cellulase-free, alkali-stable xylanase by *Bacillus pumilus* SV-85S in submerged fermentation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 37(1):71-83.
- Nájera A, De Renobales M, Barron L. 2003. Effects of pH, temperature, CaCl<sub>2</sub> and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chemistry* 80(3):345-352.
- Norme française : NF n°2007-628 :Fromages et spécialités fromagères. Décret du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères (légifrance).
- Nouani A, Dako E, Morsli A, Belhamiche N, Belbraouet S, Bellal M, Dadie A. 2009. Characterization of the purified coagulant extracts derived from Artichoke Flowers (*Cynara scolymus*) and from the Fig Tree Latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol* 7(1):20-29.
- Nouani A, Moulti-Mati F, Belbraouet S, Bellal M. 2011. Purification and characterization of a milk-clotting protease from *Mucor pusillus*: Method comparison. *African Journal of Biotechnology* 10(9):1655-1665.

#### O-P

- Othman SMHMM. 2011. Effect of technological treatments on the quality of traditional cheeses [Doctorat thesis]: Fayoum University. 181 p.
- Pacholek X, Vias G, Faye B, Faugère O. 2000. Elevage camelin au Niger: référentiel zootechnique et sanitaire. *Publ. Coopération Française, Niamey, Niger* 93.
- Peri C. 2006. The universe of food quality. *Food quality and preference* 17(1-2):3-8.
- Plackett RL, Burman JP. 1946. The design of optimum multifactorial experiments. *Biometrika*:305-325.
- Portmann A, Pierre A, Vedrenne P. 1968. Relation entre teneur en matière grasse et azotée du lait de chèvre et rendement fromager. *Rev. Lait Fr.* 251:97-101.

#### R-S

- 
- Ramet J. 1985. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Ed. Etude FAO. Production et santé animale, Roma (Italia). 187 p.
- Ramet J. 1991. La transformation en fromages de lait de dromadaire. Rev. Mond. Zootech 67:20-28.
- Ramet JP. 1994. Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26- octobre. Nouakchott, Mauritanie.
- Ramet JP. 1997. Propriétés physiques du coagulum In : Le fromage, de la science à l'assurance de qualité. Eck A et Gillis J C. 3ème édition, Lavoisier Tec. & Doc: 324-333.
- Rhiat M, Labioui H, Driouich A, Aouane M, Chbab Y, Mennane Z, Ouhssine M. 2011. Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie 7(3).
- Rhiat M, Labioui H, Driouich A, Mennane Z, Ouhssine M. 2013. Preparation of the starter Trial production of cheese (Jben) and Klila at laboratory scale. Food Science and Quality Management 13:8.
- Ricordeau G, Mocquot G, Bouillon J, Blanc-Patin E, Jeunet R, Portmann A. Influence des variations saisonnières de la composition du lait de chèvre sur le rendement en fromage. Conséquences pratiques pour la sélection; 1967. EDP Sciences. p 165-181.
- Schulz-Collins D, Arrabawn Co-op N, Co, Tipperary ,Ireland, Senge B, 2004. Acid-and acid/rennet-curd cheeses Part A: Quark, Cream Cheese and Related Varieties In: Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Major Cheese Groups. Fox P F, Mcsweeney P L H, Cogan T M, Guinee T P, Amsterdam . Third édition, Vol 2. Edition Academic press : 301-328.
- Seme K, Pitala W, Osseyi G. 2015. Qualité nutritionnelle et hygiénique de laits crus de vaches allaitantes dans la région maritime au Sud-Togo. European Scientific Journal, ESJ 11(36).
- Siboukeur O. 2007. Etude du lait camelin collecté localement: caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques; aptitudes à la coagulation [Thèse de Doctorat]: Université INA El-Harrach 135 p.
- Sidrach L, García-Cánovas F, Tudela J, Rodríguez-López JN. 2005. Purification of cynarases from artichoke (*Cynara scolymus* L.): enzymatic properties of cynarase A. Phytochemistry 66(1):41-49.
- Silva SV, Allmere T, Malcata FX, Andrén A. 2003. Comparative studies on the gelling properties of cardosins extracted from *Cynara cardunculus* and chymosin on cow's skim milk. International dairy journal 13(7):559-564.
- Silva SV, Malcata FX. 2005. Studies pertaining to coagulant and proteolytic activities of plant proteases from *Cynara cardunculus*. Food Chemistry 89(1):19-26.

---

Singh A, Ghosh V, Ghosh P. 1994. Production of thermostable acid protease by *Aspergillus niger*. *Letters in applied microbiology* 18(3):177-180.

Sousa MJ, Malcata FX. 2002. Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Le Lait* 82(2): 151-170.

Swamy GJ, Sangamithra A, Chandrasekar V. 2014. Response surface modeling and process optimization of aqueous extraction of natural pigments from *Beta vulgaris* using Box–Behnken design of experiments. *Dyes and Pigments* 111(Supplement C):64-74.

T-V-W

Tamime A, Wszolek M, Božanić R, Özer B. 2011. Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research* 101(1-3):2-16.

Tavares J, Baptista J, Marcone M. 1997. Milk-coagulating enzymes of tuna fish waste as a rennet substitute. *International journal of food sciences and nutrition* 48(3):169-176.

Valérie E. 2007. Hygienic status of camel milk in Dubai (United Arab Emirates) under two different milking management systems: Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire-Université Munchen, Munich. 120p.

Vassal L, Delacroix-Buchet A, Bouillon J. 1994. Influence des variants AA, EE et FF de la caséine  $\alpha$ 1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels: premières observations. *Le lait* 74(2):89-103.

Veisseyre R. 1975. *Technologie du lait: constitution, recolte, traitement et transformation du lait*. . Edition troisième. Maison Rustique.

Vianna P, Mazal G, Santos M, Bolini H, Gigante M. 2008. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *Journal of Dairy Science* 91(5):1743-1750.

Vioque M, Gómez R, Sánchez E, Mata C, Tejada L, Fernández-Salguero J. 2000. Chemical and microbiological characteristics of ewes' milk cheese manufactured with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis* as coagulants. *Journal of agricultural and food chemistry* 48(2):451-456.

Wolter R. 1997. *Alimentation de la vache laitière*: France Agricole Editions.

---

# **ANNEXES**

---

## Annexe I : Fiche de dégustation du fromage

NOM :.....

PRENOM :.....

SEXE :.....

Age :.....

DATE :.....

Place N° :.....

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

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

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

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

**FICHE DE TEST HEDONIQUE**

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

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

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

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

---

Echantillons

**Description de la  
saveur**

**Descriptions des  
sensations**

**Description finale en  
bouche**

JPA

JPB

JPC

---

JPD

---

JPE

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

### FICHE DE TEST DE CLASSEMENT

- Veuillez classer les cinq échantillons par ordre de préférence.

Code

Classement

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



---

## Annexe II : Dosage des protéines par la méthode de Lowry et al 1951

### 1. Réactifs

#### Solution alcaline (A) :

-500 ml de soude 0,1N (02g/500 ml)

-10g de carbonate de sodium anhydre  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

#### Solution cuivrique (B) :

-02 ml de sulfate de cuivre,  $5\text{H}_2\text{O}$  (0,32g /100ml)

-02 ml de tartrate de sodium et potassium (01g/100ml)

#### Solution (C) :

-50 ml de la solution (A)

-01 ml de la solution (B)

**Réactif de Folin-ciocalteu à 1N** (se conserve à 4°C et à l'abri de la lumière).

#### Solution mère de BSA :

10 mg de BSA dans 100ml d'eau distillée.

#### Gamme étalon :

A partir de la solution mère de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous pour tracer la courbe d'étalonnage DO : f(c) (trois répétitions sont préparés pour chaque dilution):

Concentration en BSA $\mu\text{g/ml}$	0	10	25	50	75	100
Solution mère de BSA ( $\mu\text{l}$ )	0	100	250	500	750	1000
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	1000	900	750	500	250	0

### 2. Mode opératoire

Prendre 01 ml d'échantillon contenant au maximum 100  $\mu\text{g}$  de protéine et 25 $\mu\text{g}$  au minimum (l'extrait, l'extrait dilué à 1/10 et à 1/100). Ajouter 5ml de solution (C) et mélanger. Laisser 10 minutes à température ambiante. Ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-ciocalteu et bien agiter au vortex. Laisser 30 minutes à l'obscurité. Lire la DO contre le blanc (tube 1) à 750nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Tracer une courbe standard de l'absorbance en fonction de la concentration initiale en protéines et l'utiliser pour déterminer les concentrations de protéines inconnues. Le résultat de lecture est la moyenne de trois répétitions.

---

### **Annexe III : Préparation de la courbe d'étalonnage de l'activité protéolytique**

- **Solution étalon :** tyrosine à raison de 100 $\mu$ g/ml dans une solution tampon phosphate 0.1M, pH 6.5.
- **Gamme étalon :** des solutions diluées de concentrations croissantes 10, 20, 40 ; 60 ; 80 et 100 sont préparées à partir de la solution étalon dans le tampon phosphate.
- **Dosage :** mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 280 nm contre un blanc.

---

## Annexe IV : Séparation des acides aminés libre par HPLC

**Tableau 01** : Temps de rétention des acides aminés étalons testés par l'HPLC.

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

**Tableau 02** : Composition en acides aminés (%) des échantillons de fromage *Jben* préparés après optimisation.

Acide aminé	JPA	JPB	JPC	JPD	JPE
Arg	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cys	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Gly	9.04	0.0	0.0	0.0	0.0
Phe	30.63	0.0	0.0	15.09	0.0
Pro	49.24	53.10	61.58	43.17	42.46

---

<b>Tyr</b>	4.19	46.89	38.41	39.85	57.53
<b>Trp</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

**Annexe V** : Fromages traditionnel algérien *Jben*.



JCS

JKG



JPI

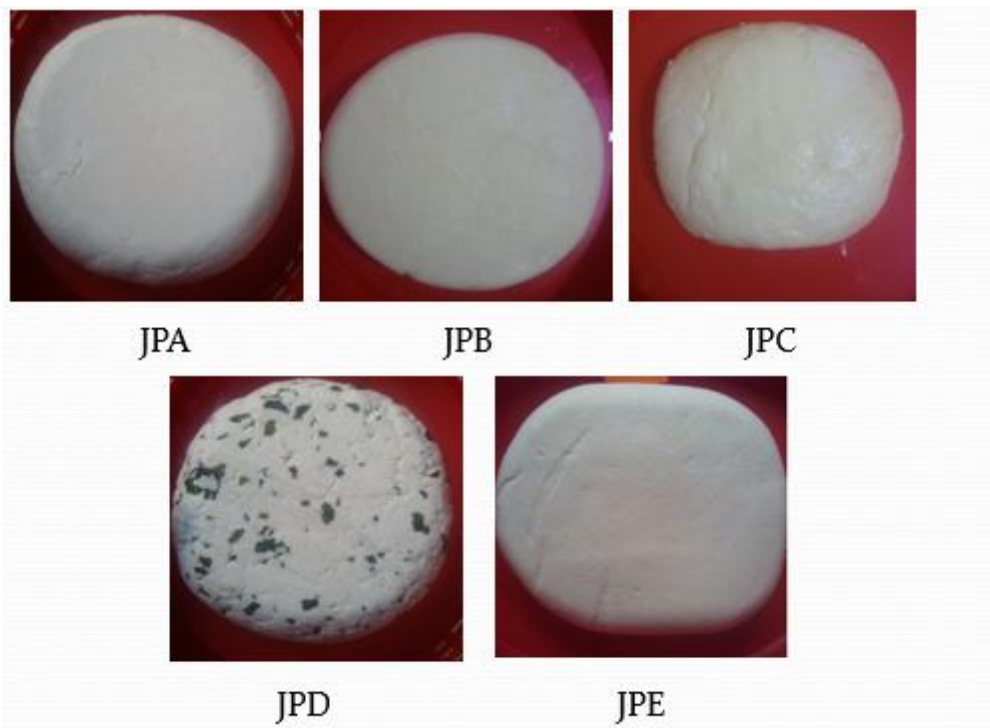
---

**Photographie 1:** Aspect des échantillons de fromage *Jben* préparés pour l'étude comparative.

**Annexe V (suite)**



**Photographie 2:** Aspect d'un échantillon de fromage *Jben* prélevé d'*Ain Sefra*.



---

**Photographie 3:** Aspect des échantillons de fromage *Jben* préparés après optimisation.