

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

*Université Abdelhamid Ibn
Badis de Mostaganem
Faculté des sciences de la
nature et de la vie*



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

Boucheta hadjer

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Biotechnologie Alimentaire

THEME

**Etude nutritionnelle et microbiologique d'un
fromage à pâtes molles de type camembert issu
d'un lait de vache en fin lactation**

Soutenue publiquement le septembre / 2016

Devant Jury :

<i>Président :</i>	<i>M^r. Benakrich.M</i>	<i>U. Mostaganem</i>
<i>Examineur :</i>	<i>M^r. Ait Saada. DJ</i>	<i>U. Mostaganem</i>
<i>Encadreur :</i>	<i>M^r. Bekada. A</i>	<i>U. Mostaganem</i>
<i>Coencadreur :</i>	<i>M^r. Benghandouze. A</i>	<i>U. Mostaganem</i>

Thème réalisé au Laboratoire : Université Mostaganem

Remerciement

Avant tout je remercie «Allah» le tout puissant qui m'a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.

Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Je tiens à remercier vivement **Mr Dr BEKADA**, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de m'encadrer; pour sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, pour son aide, ses critiques et ses suggestions, qui ont été pour moi d'un grand apport.*

*Je remercie vraiment madame **BENGENDOZ A** pour Ses judicieux conseils, ses chaleureux encouragements et plus particulièrement pour sa patience durant la réalisation de ce travail.*

***Mr Ait Saada DJ et Mr Benaakrich mohamed** qui a bien voulu accepter de jury ce travail, je les remercie très vivement.*

Je remercie les techniciens de laboratoire de microbiologie et de biochimie.

Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant à :

de mon cher Père.

Ma très chère Maman pour son soutien, son amour et sa présence dans les moments durs.

Mon chère amie qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études.

Mes frères :

«Mostapha, , Abd el Kader ».

Mes très chères sœurs :

« Aicha , Khadija , Fatima, Iman ,Fatima ».

Mes très chers amis (es).

Ainsi que mes amies de la promotion :

« Biotechnologies alimentaires 2015/2016»

Tous mes autres collègues.

Merci à tous.

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviation

Introduction

Partie01 : synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur le lait cru

1-Définition.....	02
2 -Composition du lait	02
3- Variations dans la composition du lait	03
3.1- Facteurs intrinsèques	03
3.2- Facteurs extrinsèques	04
4- Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait.....	04
4.1- densité	04
4.2- acidité	04
4.3- point de congélation	05
4.4- pH.....	05
5- Le lait de vache : matière première dans la fabrication du Camembert.....	05
6-Microbiologie du lait cru	06
6.1-Flore originelle	07
6.2 - Flore de contamination	07

Chapitre 02 :L'influence du stade de lactation.

1- Définition	09
2-Stades de lactation	10
2.1- Début de la lactation	10
2.2- Milieu de la lactation.....	10
2.3- Fin de lactation.....	10
2.4- Le tarissement.....	10
3- Effet du stade de lactation .	10

Chapitre 03 : Généralités sur le fromage.

1-Le fromage.....	13
1.2- Le fromage à pâte molle type Camembert.....	10
1.2.1 Caractéristiques et valeur nutritionnelle.....	10
1.2.1.1 Définition	14
1.2.1.2 Composition et valeur nutritionnelle	14
1.2.2 Les étapes de la fabrication	15
1.2.2.1 Nature de la matière première	15
1.2.2.2 Traitements préliminaires du lait	15
1.2.2.3 Les étapes clés de la fabrication du Camembert	16
1.2.2.3.1-La phase d'ensemencement – maturation.....	16
1.2.2.3.2-La coagulation.....	15
1.2.2.3. 3-Découpage et tranchage	15
1.2.2.3. 4-Moulage.....	15

1.2.2.3 .5-L'égouttage.....	15
1.2.2.3. 6-Salage	15
1.2.2.3. 7-L'affinage.....	15
1.2.2.3. 8-Conditionnement –Emballage.....	15
1.2.2.3. 9-Conservation du camembert	15

Partie 02 : pratique

Chapitre 01 : Partie expérimentale

1-L'objectif de l'étude	23
2-Lieu de l'étude	23
3-Prélèvement des échantillons de laits	23
4- Les Procédés de fabrication du fromage à pate molles type camembert.....	24
4-1) préparation du lait.....	24
4-2) Maturation.....	24
4-3) Emprésurage et coagulation	24
4-4) Tranchage, brassage et soutirage	24
4-5) Moulage	24
4-6) Egouttage et démoulage	25
4-7) Salage	25
4-8) Ressuyage	25
4-9) Affinage	25

4-10) Stockage et conditionnement	25
---	----

Chapitre 02 : Les analyses physicochimiques

1-Le lait	26
2-Le fromage	26
2.1 Mesure de pH.....	26
2.2 Détermination de la matière grasse.....	27
2.3 Détermination de l'acidité titrable.....	27
2.4 Détermination de la densité	28
2.5 Détermination de l'extrait sec total (EST).....	28
2.6 Détermination de la teneur en protéines	28
2.7 Détermination de la matière organique	29
2.8 Le rendement fromager	29
2.9 le coefficient G	29

Chapitre 03 : Les analyses microbiologiques

1-Analyses microbiologiques.....	32
1.1. La flore mésophile totale.....	32
1.2. La flore lactique	33
1.3. Dénombrement des Streptocoques lactiques	33
1.4. Dénombrement des Lactobacilles	33
1.5 Recherche et dénombrement de ClostridiumSulfito-réducteurs	33
1.6 Les levures et moisissures	34

1.7 Dénombrement des coliformes	34
1.8 Dénombrement des coliformes fécaux	35
1.9 Dénombrement des streptocoques fécaux	36
1.10 Recherche des salmonelles	36
1.11 Dénombrement des staphylocoques	37
2. Méthodes statistiques	38
2.1 Statistiques élémentaires	38

Partie 03 : Résultats et discussion

Chapitre 01 : Résultats physiques chimiques

1-Résultats d'analyse physico-chimique du lait cru.....	43
2- Discussion	45
- Ph	
- L' acidité	
- Densité	
- Matière grasse	
-Matière sèche	
-Matière Protéique	
3- Variation de l'acidité et pH au cours de l'affinage	46
4-Résultats des analyses physicochimiques du produit fini	48
4-Résultats du rendement fromager et le coefficient G.....	48

Chapitre02 : Résultats microbiologiques

1-Résultats microbiologie du lait49

Discussion

2- Résultats de la bactérie lactique51

3- Qualité microbiologique du produit fini52

Partie 04 :

Conclusion

Références bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure N°01 : Critères de fromageabilité du lait

Figure N°02 : l'évolution du TP et TB du lait en fonction du stade de lactation

Figure N°07 : diagramme des différentes étapes de fabrication du camembert.

Figure N°09 : Représente les paramètres physicochimiques du lait cru.

Figure N°10 : La variation de l'acidité et pH au cours de la fabrication.

Figure N°11 : Les paramètres physicochimiques du camembert.

Figure N°12 : Représente le rendement fromager et le coefficient G.

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Composition moyenne du lait de vache.

Tableau N°02 : Flore originelle du lait cru.

Tableau N°03 : Flore originelle du lait cru .

Tableau N°04 : Effet du stade physiologique sur les caractéristiques sensorielles du fromage (cas du saint-nectaire)

Tableau N°05 : Composition moyenne comparée du lait et des fromages Selon ALAIS et LINDEN (1993).

Tableau N°06 : Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage (ABDOUNE, 2003).

Tableau N°07 : Caractéristiques physico-chimiques des laits analysés et normes du lait cru de vache

Tableau N°08 : Variation de l'acidité et pH au cours de l'affinage.

Tableau N°09 : paramètres physicochimiques du camembert.

Tableau N°10 : représente le rendement fromager et le coefficient G.

Tableau N°11 : résultats des analyses microbiologiques.

Tableau N°12 : Résultat dénombrement streptocoques fécaux du lait.

Tableau N°13 : Représente le suivi de la flore lactique durant l'affinage.

Tableau N°14 : représente résultats d'analyses microbiologiques du camembert.

Liste des abréviations

aw : activité de l'eau

C°: Degré Celsius

D°: Degré Dornic

ESD : Extrait sec dégraissé

EST: Extrait sec totale

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

K.cal: Kilo calorie

MG: Matière grasse

MO : Matière organique

MP : Matière protéique

MS: Matière sèche

NT : Azote totale

TB : Taux butyreux

TP : Taux protéique

INTRODUCTION

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an soit une moyenne de (120L/hab/an). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, puisqu'il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale .

En outre, la production de lait a connu un accroissement notable durant la période (2000-2012) grâce aux actions du PNDAR (Plan National de Développement Agricole et Rural) dans le cadre du programme lait, mais les quantités produites restent toujours insuffisantes pour couvrir les besoins de la population .

L'intégration du lait local dans le circuit de la production au niveau des laiteries connaît une évolution encourageante. Son utilisation comme matière première dans la fabrication de nombreux produits dérivés du lait tel que le fromage est tributaire de sa qualité (physique, chimique et hygiénique), souvent instable et douteuse. Ces conditions exigent un approvisionnement régulier et de qualité en adéquation avec l'activité de la laiterie et l'écoulement de ses produits .

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude .Elle donne comme objectif d'évaluer l'impact de la variabilité de la composition de lait de vache en tenant compte la variation du stade physiologique de lactation des vaches laitières et son influence sur la qualité des pâtes molles de type camembert

Notre recherche concernera les analyses physico-chimique et germes témoins de défaut d'hygiène : flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, et streptocoques fécaux ,ainsi que les germes pathogènes :*Salmonella spp.*,*Staphylococcus aureus*.

GENERALITES SUR LE LAIT

1- Définitions du lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Alais, 1975).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon Deforges et *al.* en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

2-Composition du lait

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au tableau n°1. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005).

L'eau

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

Matière grasse

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

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

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de flaveurs indésirables (rancidité-oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation (**Madji, 2009**).

Matière azotée

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

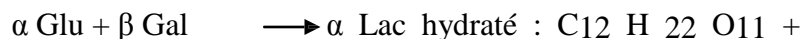
- Alpha-caséines ou caséines α_{s1} 36 % et α_{s2} 10 %
- Bêta-caséine ou caséine β 34 %
- Kappa-caséine ou caséine κ 13 %
- Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine) (**Goy et al., 2005**).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (**Cayot et Lorient, 1998**). La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (**Marchin, 2007**).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (**Ramet, 1985**). L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (**Cayot et Lorient, 1998**).

les glucides

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



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

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

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

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

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

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

Matière minérale

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

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

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

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (**FAO, 1995**).

biocatalyseurs

Enzymes

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

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

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

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

Tableau n°1 : Composition moyenne du lait de vache (**Alais et al., 2008**).

	Composition (g/L)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides		
Matière grasse proprement dite	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 μm)
Lécithine (phospholipides)	34	
Insaponifiable (stéroïls, carotènes, tocophérol)	0,5	
	0,5	
Protides		
Caséine	34	Suspension micellaire phosphocasinat de calcium (0,08 à 0,12 μm)
Protéines solubles (globulines, albumines)	27	
Substances azotées non protéiques	2,5	Solution (colloïdale)
	1,5	Solution (vraie)
Sels		
De l'acide citrique (en acide)	9	Solution ou état colloïdale
De l'acide phosphorique (P ₂ O ₃)	2	
Du chlorure de sodium (NaCl)	2,6	
	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

Vitamines

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

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

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

3-Variations dans la composition du lait

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

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

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (**Wolter, 1988**).

3.1- Facteurs intrinsèques

3.1.1-Facteurs génétiques

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (**Veisseyre, 1979**).

Jakob et Hänni en 2004, notent l'existence de variants génétiques A et B issus des mutations ponctuelles. Ces derniers donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variants génétiques des protéines du lait, notamment ceux de la caséine κ (κ -Cn) et de la β -lactoglobuline (β -Lg), influencent la composition du lait et certains critères de productivité des vaches.

3.1.2-Stade de lactation

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois.

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

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

3.1.3-Age et nombre de vêlage

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

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

3.1.4 Etat sanitaire

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

Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager (Toureau et al., 2004).

3.2- Facteurs extrinsèques

3.2.1- Alimentation

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

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

3.2.2-Saison et climat

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

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

4- Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait

4.1- densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Vierling, 2008**).

4.2- acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). C'est la raison pour laquelle on

distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**CIPC lait, 2011**).

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine.

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

4.3- point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54 °C et - 0,55°C (**Mathieu, 1998**).

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C (**Goursaud, 1985**).

4.4- pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car :

$$pH = \log 1 / [H_3O^+]$$

A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (**CIPC lait, 2011**).

Un lait mammiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH > 7 et le colostrum un pH voisin de 6 (**Luquet, 1985**).

5- Le lait de vache : matière première dans la fabrication du Camembert

La fabrication du fromage à pâte molle type Camembert exige l'emploi d'un lait de haute qualité bactériologique et physico-chimique. Ainsi, dans les pays à grande tradition fromagère tel que la France, ce fromage est élaboré, soit directement à partir du lait cru, soit à partir du lait

pasteurisé.

Remeuf et al., en **1991** soulignent que la fromageabilité du lait c'est à dire l'aptitude à la transformation du lait en fromage est dépendante d'un certain nombre de paramètres (figure n°1) dont :

- Sa composition chimique (richesse en caséines) ;
- Son comportement vis-à-vis de l'enzyme coagulante la présure;
- Son aptitude au développement des bactéries lactiques (présence de résidus d'antibiotiques) ;
- Enfin, sa charge microbienne et la nature de sa microflore.

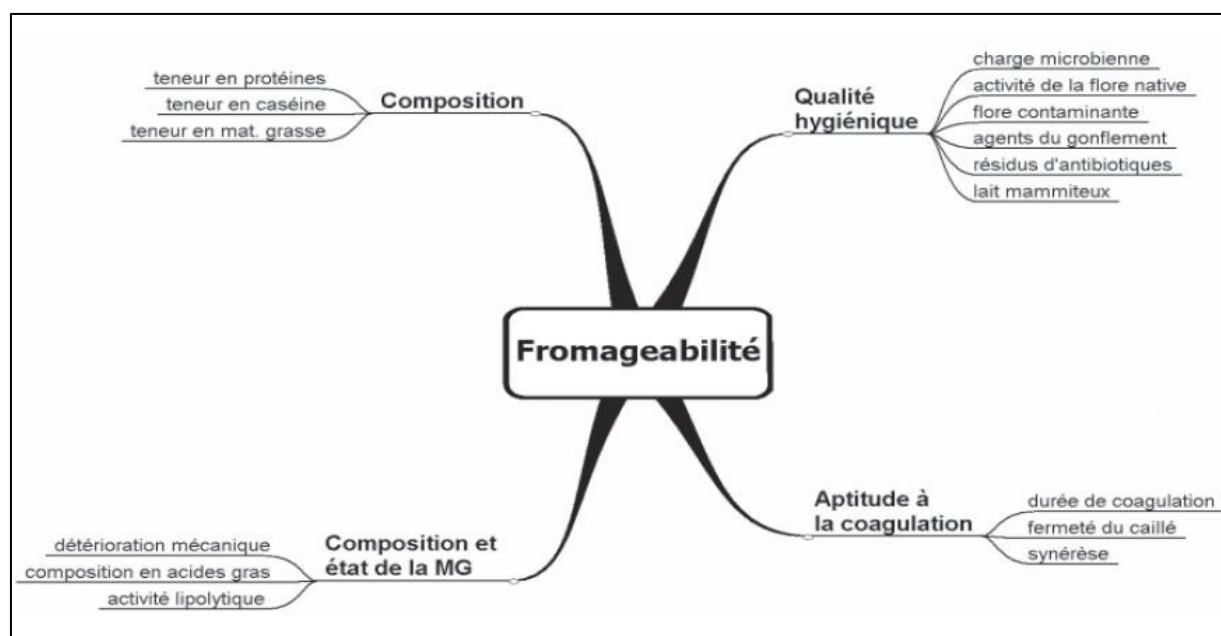


Figure n°1 : Critères de fromageabilité du lait (Jakob et Hänni, 2004).

6-MICROBIOLOGIE DU LAIT CRU

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (**Gripon et al.**, 1975).

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

(oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (**Institut de l'élevage, 2009**). L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al., 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**). Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (**Ramet, 1985**).

Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (**Adda et al, 1982**).

6.1-Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (**Cuq, 2007**).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (**Guiraud, 2003**) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Varnam et Sutherland, 2001**). Le tableau n°2 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau n°2 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	<10

6.2 - Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière (tableau n°3).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactérium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium bovis et tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus.

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (tableau n°4) (FAO, 1995).

6.3-Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite.

Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

Tableau n°3 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).

Sources de contamination		Psychrotrophes
Germes Gram positifs -Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
-Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs -Colibactéries (<i>E. coli</i>)	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
- <i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
- <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

1-Lactation

période de lactation la période pendant laquelle une vache laitière, et plus généralement la femelle d'un mammifère, produit du lait. Cette période commence à la mise bas et dure 305 jours en moyenne chez la vache laitière. La production est à son maximum après le vêlage (« pic de lactation ») et décroît plus ou moins lentement jusqu'à la période de tarissement. Le total cumulé de lait produit pendant cette durée de dix mois est compris en moyenne entre 2 000 et 15 000 kg de lait selon les races laitières

2-stades de lactation

2.1- Début de la lactation

C'est la phase croissante de la lactation, les quantités de lait augmentent d'autant plus que le niveau de production est élevé l'accroissement entre la production initiale (PI=moyenne des 4-5 et 6eme jours) et maximale hebdomadaire (PM) varie d'environ 6kg de lait pour les faibles productrices (PM=20kg chez les primipares, 25kg chez les multipares) à plus de 10kg de lait pour les fortes productrices (PM=30kg chez les primipares, 45kg chez les multipares) (**Faverdin et al 1987**).

Un déficit énergétique inévitable est observé en début de la lactation, causé par une très forte augmentation des besoins nutritifs et la faible capacité d'ingestion de la vache qui ne progresse que lentement. Cela conduira la vache à la mobilisation de ses réserves corporelles, qui sont de 15 à 60kg de matières grasses selon le potentiel des animaux, c'est l'apport énergétique nécessaire à la production de 150 à 600kg de lait. Concernant les réserves protéiques mobilisables elles sont beaucoup plus réduites et varient entre 5 et 10kg, selon le potentiel des animaux, soit l'équivalence pour la production de 100 à 200kg de lait (**Hodenetal, 1988**).

Sérieys (1997) note que la somme des besoins d'entretien, de la gestation et de la production de la vache laitière varient dans des proportions considérables de la fin d'une lactation jusqu'au pic de la lactation suivante et cela selon le niveau de production de ces animaux (**tableau 11**). D'après **Meschy (1992)** la mobilisation des réserves minérales osseuses est un processus physiologique inévitable en début de la lactation, donc il faut profiter de leurs reconstitutions lorsque la capacité d'absorption est plus élevée (fin de la lactation).

2.2-Milieu de la lactation

Selon **Faverdin et al (1987)** au cours de la phase décroissante de la lactation, les persistances de la production laitière (entre les semaines 10 et 40) sont plus faibles chez les multipares que chez les primipares (89,2% par mois contre 93,8%). Durant cette phase, le bilan énergétique devient largement positif et la satisfaction des besoins azotés est plus facile à réaliser en raison de leurs moindres dépendances de la capacité d'ingestion (**Hoden et al, 1988**).

2.3-Fin de la lactation

Cette période correspond aux deux derniers mois de la lactation, elle se caractérise par une chute plus importante de production qui résulte de l'effet des hormones de gestation. La progestérone qui a pour rôle l'inhibition des contractions de l'utérus, empêchant ainsi la naissance prématurée a aussi un effet inhibiteur sur la lactogénèse, en supprimant la formation des récepteurs à la prolactine, en inhibant la synthèse de la prolactine par la glande pituitaire et en bloquant la liaison des glucocorticoïdes avec leurs récepteurs (**Martinet et Houdebine, 1993**).

Dulphy et Rouel (1988), notent que les vaches en fin de la lactation ont bien une capacité d'ingestion élevée qui leur permet d'être largement suralimentées (+2,3 UFL dans les 2 essais) et de reprendre du poids. Selon **Walter (2001)**, Pendant le dernier tiers de la lactation, si la consommation ou la concentration de la ration en éléments nutritifs ne sont pas adaptées aux besoins des vaches, les apports excessifs en énergie conduiront à l'engraissement excessif des vaches dans le dernier tiers de la lactation Cette erreur d'alimentation ne peut plus être corrigée pendant la période de tarissement. Cet auteur rajoute qu'en fin de la lactation, les fourrages peuvent suffire à couvrir les besoins nutritifs des vaches ayant une grande capacité d'ingestion, de sorte que des apports supplémentaires d'aliments concentrés sont superflus. C'est en fin de la lactation que l'éleveur commence à préparer la vache au tarissement en réduisant les apports alimentaires essentiellement le concentré de production, donc il est primordial que l'éleveur connaisse bien la consommation de ses bêtes et la valeur nutritive des aliments qu'il met à leur disposition.

2.4-Le tarissement

Le tarissement ou la période sèche est la période pendant laquelle la vache ne produit pas de lait, il est souvent perçu comme une phase de repos physiologique avant la lactation suivante,

il se pratique aux environs de deux mois avant la date de vêlage (Sérieys, 1997), il est obligatoire pour une bonne relance hormonale et la régénération des tissus mammaires.

Selon Wolter (1997), le tarissement (la préparation au vêlage, notamment chez les génisses) est crucial sur le plan alimentaire pour le bon démarrage de la lactation et pour la prévention des troubles qui entourent le vêlage. Il se distingue par des besoins quantitatifs relativement bas mais aussi par des exigences qualitatives en rapport avec la gestation. Il doit éviter les risques de suralimentation qui conduisent aux difficultés de vêlage.

3-Effet du stade de lactation

Les variations de la production et de la composition chimique du lait sous l'effet du stade de lactation ont fait l'objet de très nombreux travaux Agabriel et al (1990) ; Rémond (1987) et Schultz et al (1990) notent que les teneurs en matières grasses et en protéines évoluent de façon inverse avec la quantité de lait produite .

Les auteurs cités ci-dessus rapportent que les teneurs en TP et TB sont maximales au cours des premiers jours de lactation, minimales durant les 2ème ou 3ème mois de lactation, et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de la lactation. Cette augmentation est due en partie à l'avancement du stade de gestation, qui diminue la persistance de la production laitière. Pour les deux taux, les écarts entre les mois extrêmes atteignent 7 g/kg (Rémond, 1987 ; Schultz et al, 1990).

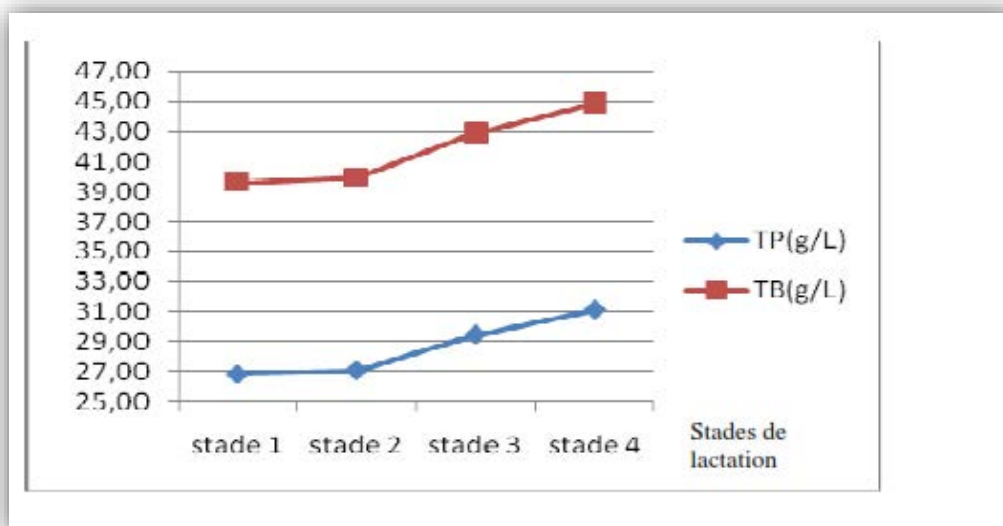


Figure N°03: l'évolution du TP et TB du lait en fonction du stade de lactation

L'évolution de la production laitière a été pratiquement linéaire en moyenne entre le 1er et le 8^{ème} mois de lactation et entre le 2^{ème} et 9^{ème} mois de lactation (Coulon et Roybin, 1988). Selon Agabriel et al (1990), la persistance mensuelle moyenne sur cette période a été de 0,92. Comme c'était observé par Favardin et al (1987), cette persistance a été supérieure chez les primipares (0,93 contre 0,91 chez les multipares), mais leur production est inférieure de 3,3 kg/j au cours de leurs trois premiers mois de lactation.

Selon Guéguen et Journet (1961), la composition du lait en minéraux a varié avec les stades de lactation, ils notent qu'après une diminution brutale pendant les premiers jours suivant le vêlage, les teneurs en Ca et P du lait diminuent légèrement jusqu'à la mi lactation, puis restent stables et augmentent à nouveau en fin de lactation. Les écarts extrêmes ne dépassent pas 15%. En revanche, les teneurs en K et Na subissent des variations importantes et en sens inverse, de 1,7 à 1,3g/L pour K et de 0,4 à 0,6g/L pour Na.

Tableau O4 : Effet du stade physiologique sur les caractéristiques sensorielles du fromage (cas du saint-nectaire) (Coulon et al 1998).

stade	début	milieu	fin
Jours de lactation	15-45	150-230	300
Rendement	13,8	14,1	15,5
PH	5,48	5,47	5,67
Gras –sec	50	52,8	53
Indice de jaune	30,3	28,7	27,5
Texture ferme	5,1	5	4,3
Odeur agréable	4,9	5,5	4,6
Persistance du gout	5,4	5	6
Intensité du gout	5	5	5,8

Généralités sur le fromage

1- Le fromage

Un fromage est un aliment obtenu à partir de lait coagulé ou de Produits laitiers comme la crème puis d'un égouttage suivi ou non de fermentation et éventuellement d'affinage (fromage affinés). IL est fabriqué à partir de lait de vache principalement mais aussi de brebis, de chèvre ou de bufflonne. Le lait est acidifié, généralement à l'aide d'une culture bactérienne, une enzyme, la présure, ou un substitut comme acide acétique ou du vinaigre est ensuite adjointe afin de provoquer la coagulation et former le lait caillé et le petit- lait.

Certains fromages comportent de moisissure soit sur la croûte externe, soit à l'intérieur, soit sur la croûte et à l'intérieur (MAJDI, 2009).

Ce produit est un aliment de base, riche en graisses, protéines, calcium et phosphore à longue conservation en comparaison de la durée de conservation du lait à partir duquel il est fabriqué .

Selon la norme (codexalimentarius), le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou demi-dure, Protéines de lactosérum : caséine ne dépassent pas celui du lait (Mallay, 2012).

Certains types de fromage sont produits dans le monde. Leurs différents goûts et textures dépendent de l'origine du lait (y compris le régime alimentaire de l'animal), si le lait a été pasteurisé, du pourcentage de matière grasse, de l'espèce des bactéries et des moisissures choisis, du procédé de fabrication, ainsi que du temps de maturation. Des herbes, des épices, où la fumaison peut être utilisée pour varier le goût.

1.2. Le fromage à pâte molle type Camembert :

1.2.1. Caractéristiques et valeur nutritionnelle :

1.2.1.1. Définition :

Selon VEISSEYRE (1975), le Camembert est défini comme étant un fromage à pâte molle, à caillé non divisé en forme de cylindre plat. Il a un diamètre de 10 à 11 cm et une épaisseur de 3 cm. Il renferme au moins 40 % de matière grasse et 110 g de matière sèche.

C'est un fromage affiné à moisissures superficielles, originaire de Normandie(France).

1.2.1.2. Composition et valeur nutritionnelle :

Le tableau III, donne une composition comparative du lait et du fromage.

Selon son mode d'élaboration, le Camembert renferme 30 à 50 % de matière azotée / matière sèche. Il s'inscrit ainsi parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée (**MIETTON, 1995**).

De plus, la haute valeur biologique de ces protéines lui est conférée tant par leur composition équilibrée en acides aminés, que par leur propriété de former une pâte fromagère très appréciée par les consommateurs dans de nombreuses régions du monde.

La matière grasse du Camembert (25 à 40%) conditionne l'onctuosité de la pâte et constitue une source importante de la saveur particulière conférée au produit fin (**NEELAKANTEN et al, 1971**).

Concernant le lactose, il faut noter que les fromages affinés sont pratiquement dépourvus de glucides car la faible quantité de lactose, restant dans le caillé après égouttage, est transformée en acide lactique au cours de l'affinage.

Pour les autres nutriments, le Camembert constitue un apport important en calcium. (200 à 700 mg/ 100g), en phosphore, en sodium et en vitamines (notamment du groupe B),(**ECK, 1990**).

Notons enfin que la dénomination petit Camembert est réservée à un fromage de diamètre réduit (80-85 mm de diamètre) dont l'extrait sec ne doit pas être inférieur à 60g et que la dénomination Véritable Camembert de Normandie est protégée par un label de qualité définissant notamment une aire de production.

Tableau 05 : Composition moyenne comparée du lait et des fromages Selon ALAIS et LINDEN (1993).

	LAIT	FROMAGES
EAU	Environ 87%	Éliminée en partie par la fabrication. La teneur en eau varie de : 35 % (pâte cuite dure), 50 % (pâte molle), 70 % (Fromage frais)
GLUCIDES	Le lactose 5 % est transformé par les ferments lactiques en acide lactique, ce sucre peut être également transformé en alcool.	Pratiquement éliminé avec l'eau par la fabrication.
LIPIDES	Environ 4 % Sous forme de globules gras très petits en émulsion dans le liquide ; ils sont en majeure partie des triacylglycérols (beaucoup d'oléine) avec un peu de lécithines.	Ils se retrouvent dans la majorité des fromages sauf dans les fromages « maigres » : 3 % fromages à pâte molle, 0 % fromages à pâte dure.
PROTEINES	Environ 3,5 %. Les plus importantes en quantités sont les caséines : 3 % Les protéines du sérum sont aussi présentes en un	La caséine coagulant avec la présure, est l'élément essentiel de tout les fromages (même maigre) : 3 % fromages à pâte molle, 3 % fromages blancs au lait crémé, 24 % fromages à pâte ferme.
MINÉRAUX	Le rapport non négligeable.	Grande richesse en calcium et en phosphore, surtout dans les fromages à pâte ferme rapport Ca / p= 1,26 en moyenne, donc aliment recalcifiant ;
VITAMINES	Très intéressante valeur minérale car très riche en calcium et en phosphore. Le calcium étant plus abondant que le phosphore, le rapport Ca / p= 1,39 donc le lait est recalcifiant. Contient aussi potassium et chlorure de sodium : Traces de fer.	Plus au moins riches en chlorures de sodium selon leur fabrication (adjonction de sel, pâte lavée à l'eau salée, etc...)
	Vitamine B1 en petite quantité Vitamine B2 assez importante. Vitamine B12 en quantité variable dans le lait frais, mais pratiquement détruite au contact de l'air durant les manipulations et le transport et par la pasteurisation et l'ébullition. Vitamine A en quantité importante dans la matière grasse	Les fromages fermentés à pâte molle, notamment les fromages bleus, sont de bonnes sources de vitamines B, du fait des synthèses réalisées par les moisissures.

1.2.2. Les étapes de la fabrication :

1.2.2.1 Nature de la matière première :

La fabrication du fromage à pâte molle type Camembert exige l'emploi d'un lait de haute qualité bactériologique et physico-chimique. Ainsi, dans les pays à grandes traditions fromagères tel que la France, ce fromage est élaboré, soit directement à partir du lait cru, soit partir du lait pasteurisé. Dans les pays où la production en lait cru est déficitaire (cas de l'Algérie où cet apport ne couvre que 40% des besoins), il est fait appel au lait reconstitué, constitué de produits d'importation (poudre de lait et matière grasse laitière anhydre : MGLA) auxquels sont additionnés des volumes appropriés d'eau de reconstitution **REMEUF et al (1991)** soulignent en outre que l'aptitude à la transformation du lait

en fromage est dépendante d'un certain nombre de paramètres dont :

- sa composition chimique (notamment sa richesse en caséines) ;
- sa charge microbienne et la nature de sa microflore ;
- son aptitude au développement des bactéries lactiques ;
- enfin, son comportement vis à vis de l'enzyme coagulante à savoir la présure.

1.2.2.2. Traitements préliminaires du lait :

Aussitôt leur réception à l'usine, les laits sont triés en éliminant ceux impropres à la transformation fromagère (laits plus ou moins acides ayant une charge microbienne importante). Après un entreposage à basse température (3-4°C), ils vont subir certains traitements technologiques (dont notamment l'homogénéisation et le traitement thermique) qui ont pour objectifs de permettre l'obtention d'un produit dérivé de qualité appréciable et ce avec un bon rendement de fabrication (**LENOIR, 1974 ; MIRANDA et GRIPON, 1986**).

Néanmoins, il a été établi que ces traitements, quand ils sont pratiqués de façon anarchique engendrent plutôt des modifications physico-chimiques et nutritionnelles préjudiciables (**FEUILLAT et al, 1976 ; LEMIEUX et al, 1994**) dont nous relèverons plus loin certains de leurs particularismes.

1.2.2.2.1. La standardisation :

Elle consiste à donner au lait la composition correspondante à celle du fromage à élaborer. Elle est réalisée par un ajustement de la teneur en matière grasse (qui doit se situer autour de 28 g/l de lait) et parfois du taux de protéines (qui doit être supérieur à 31 g/kg de fromage) (**BERTRAND, 1988**).

1.2.2.2.2. l'homogénéisation :

C'est une action mécanique réalisée à une température supérieure à 60 °C dans un homogénéisateur. Elle a pour but de stabiliser l'émulsion de la matière grasse du lait par la réduction du diamètre des globules gras à environ 1 micron et ce grâce à une pression exercée sur le lait de 100 à 200 bars (**BOURDIER et LUQUET, 1991**).

1.2.2.2.3. les traitements thermiques:

Les laits mis en œuvre dans l'industrie fromagère subissent des traitements thermiques préalables dont l'importance se manifeste dans leur assainissement ainsi que dans leur stabilisation. Selon la température atteinte et la durée du chauffage, le traitement thermique utilisé influe, d'une part, sur la concentration de la flore microbienne initiale et, d'autre part, sur la composition physico-chimique du lait. Les modifications qui en découlent engendrent dans la plupart des cas un changement des caractéristiques du lait et conditionnent pour une grande part la qualité du produit fini en particulier sa valeur nutritive (**ECK, 1990**).

Ainsi, la thermisation (traitement qui a lieu à 64°C pendant 15 à 20 secondes) est surtout utilisée pour détruire les bactéries psychrotrophes, qui se développent dans un lait ayant subi, soit une réfrigération à la ferme, soit un stockage réfrigéré au niveau de la fromagerie. Ces bactéries surtout les espèces des genres : *Pseudomonas*, *Achromobacter* et *Flavobacterium* produisent des lipases et des protéases exocellulaires résistantes à la pasteurisation (72-74°C, 15-20 sec) et même à la stérilisation UHT (132°C, 1-2 sec) (**LENOIR et al, 1983**). Ces enzymes peuvent être responsables de goûts désagréables (malté, amer, rance), et de pertes de rendements fromagers.

Comme ce traitement ne peut présenter une protection sûre pour la santé du consommateur, car il ne détruit que partiellement les germes dangereux (**BERTRAND, 1988**), il est souvent fait recours dans les industries fromagères à la pasteurisation qui présente l'avantage de détruire la

totalité des germes pathogènes susceptibles de se trouver dans le lait et de réduire sa flore banale.

Pour cela, des barèmes appropriés (température / temps de chauffage) ont été proposés :

- Pasteurisation basse 63 °C pendant 30 minutes ;
- Pasteurisation haute (HTST) 72°C pendant 20 secondes (**LUQUET et BOURDIER, 1991**).

1.2.2.3. Les étapes clés de la fabrication du Camembert :

L'élaboration de ce type de fromage à caractéristiques organoleptiques particulières passe par la réussite de nombreuses étapes technologiques dont principalement :

l'ensemencement – maturation, la coagulation, l'égouttage et enfin l'affinage.

1.2.2.3.1. La phase d'ensemencement – maturation :

C'est l'étape d'introduction de la flore lactique sélectionnée qui va participer, d'une part, à la coagulation du lait (en provoquant l'acidification), et d'autre part, à l'affinage du fromage (rôle dans l'activité protéolytique).

Le lait (un petit volume) estensemencé par des ferments lactiques mésophiles à une dose de 1,5 à 2% (**LENOIR et al, 1983**). Un temps de maturation suffisant est laissé dans le but de permettre la multiplication et le développement des souches de bactéries lactiques inoculées (**BERTRAND, 1988**). Une fois ses souches revivifiées, le levain (tel que préparé) servira à ensemenecer les grandes cuves de coagulation.

On introduit également des levains fongiques qui jouent un rôle important dans le phénomène de l'affinage. Il s'agit de spores de *Penicillium Camemberti*, *Penicillium caseicolum* ainsi que *Geotrichumcandidum*.

tableau 06 : Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage (ABDOUNE, 2003)

Groupes microbiens	Origines	Fonctions
<p>Bactéries</p> <p>STREPTOCOQUES LACTIQUES <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis</i> Sbsp <i>Diacetylactis</i></p> <p>EUCONOSTOC LACTOBACILLES <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i></p> <p>MICROCOQUES BACTERIES</p> <p>SPOROBACTERIUM <i>Sporobacterium</i> <i>Brevibacterium</i></p>	<p>levain lactique</p> <p>lait, éventuellement levain Lait</p> <p>lait, saumure, sel Lait éventuellement levain</p>	<p>acidification</p> <p>production de composants d'arôme</p> <p>production de composants d'arôme</p> <p>protéolyse, dégradation des acides aminés</p> <p>Protéolyse, dégradation des acides aminés</p>
<p>Levures</p> <p><i>Candida</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Saccharomyces</i></p>	<p>lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, éventuellement levain</p>	<p>production de composants d'arôme</p>
<p>Moisissures</p> <p><i>Penicillium Camemberti</i></p> <p><i>Geotrichum candidum</i></p>	<p>levain fongique</p> <p>lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, Levain éventuellement</p>	<p>acidification</p> <p>Protéolyse, lipolyse</p> <p>production des composants d'arôme</p> <p>protéolyse, lipolyse, Production de composants d'arôme</p>

1.2.2.3.2. La coagulation :

La coagulation se traduit par la formation d'un gel (ou coagulum) qui résulte dans le cas du Camembert, des modifications physico-chimiques qui interviennent autour des micelles de caséines et qui concourent à leur déstabilisation extrême.

Pour les fromages à pâtes molles, la coagulation est généralement mixte. Elle est provoquée par l'action conjuguée de la présure (coagulation enzymatique) et les bactéries lactiques (coagulation acide) (tableau IV). Dans le cas de la coagulation acide (provoquée par l'acide lactique d'origine

bactérienne), l'abaissement du pH induit la solubilisation du calcium et du phosphate inorganique. Par équilibre, le pont salin dégarni peu à peu les micelles. Ces dernières, vont se lier entre-elles et former un gel cassant, très friable et peu élastique (MIETTON, 1995).

La coagulation enzymatique est quant à elle due à l'action de la présure qui est une enzyme protéolytique provenant de caillettes de veaux non sevrés. Cette enzyme correspond en réalité à deux fractions actives : l'une majeure (80 %), constituée par la chymosine, l'autre mineure (20 %), est représentée par la pepsine (ECK, 1990).

Il a été établi qu'au cours de la coagulation enzymatique, la présure en hydrolysant la caséine k au niveau de la liaison (Phe105- Met106), induit une déstabilisation des micelles de caséines qui vont peu à peu flocculer pour former un gel ferme, compact et ayant une bonne cohésion (VEISSEYRE, 1975).

1.2.2.3.3 Découpage et tranchage :

Le tranchage consiste à découper le gel en portions égales et plus ou moins grandes afin d'augmenter

La surface d'exsudation de lactosérum .

1.2.2.3.4 Moulage :

Le moulage est la mise en moule du caillé ,le but de celui-ci est donner la forme finale au fromage

1.2.2.3.5 L'égouttage :

C'est l'étape qui permet la séparation du lactosérum du caillé. Son but est non seulement de régler la teneur en eau du caillé mais aussi la minéralisation de ce dernier et son délactosage.

Selon BERTRAND (1988), il est possible de distinguer dans cette phase deux actions complémentaires :

- expulsion du sérum par le coagulum qui se contracte et se concentre (synérèse) ;
- séparation du sérum et du caillé par action physique.

La pâte obtenue est salée par addition de chlorure de sodium. Le sel inhibe certaines proliférations microbiennes, complète l'égouttage du caillé et relève la saveur du fromage (ALAIS et LINDEN, 1993).

1.2.2.3.6 Salage :

Le salage peut s'effectuer selon deux techniques :

Salage à sec par saupoudrage superficiel, par frottage ou par incorporation dans la masse du caillé. Salage en saumure par immersion dans une solution saturée en NaCl « 317,8 g/l » teneur en sel. De fromage de camembert est 1,7 à 2,5 g/100g de fromage.

1.2.2.3.7 L'affinage :

L'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique où sous l'action d'enzymes, pour la plupart élaborées par la flore microbienne présente, les constituants du caillé sont dégradés. La pâte est ainsi modifiée dans son aspect, sa texture et sa consistance, ce qui lui permet de passer sous la forme d'un produit élaboré dénommé fromage.

Selon MIETTON (1995), L'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir :

- la dégradation des protéines ;
- l'hydrolyse de la matière grasse ;
- la fermentation du lactose.

Comme cette étape constitue, pour une grande part, l'objet de notre étude, nous nous proposons d'examiner dans ce qui suit ses différentes réactions, particulièrement l'activité protéolytique.

1.2.2.3.8 Conditionnement –Emballage :

Le conditionnement et l'emballage sont réalisés sur des lignes industrielles classiques. Afin d'éviter les chocs thermiques ; les opérations sont effectuées dans des chambres froides (Mahaut et al, 2000).

1.2.2.3.9 Conservation du camembert

La réfrigération reste la meilleure méthode pour la conservation du camembert, où la température entre 4 et 8°C dans son emballage d'origine et l'isoler du reste des aliments contenus dans le réfrigérateur, sa conservation ne dépasse pas 10 jour (Plati ,1998)

1.2.3 Place du fromage dans la couverture des besoins nutritionnels

La composition du fromage, aliment hautement digestible, le rend intéressant pour tous les groupes d'âge. Chez l'enfant et l'adolescent dont les besoins en calcium sont élevés (de l'ordre de 800mg par jours), on conseille de sélectionner les fromages les plus riches en calcium.

En ce qui concerne la couverture des besoins vitaminiques de l'adulte on estime que les produits laitiers apportent 15% des besoins en vitamines A, 10% en thiamine, 40% en riboflavine, 30% en niacine et 25% en vitamine B12 (Dillon & Berthlier, 1997).

Chez la personne âgée, le fromage est en générale très bien accepté et constitue une source très importante de calcium et de protéines de haute valeur biologique. Toute fois l'existence à cet âge de troubles, souvent mineurs de la digestion des graisses, font souvent conseiller l'emploi de fromage à faible teneur en matière grasse (ECK, 1997).

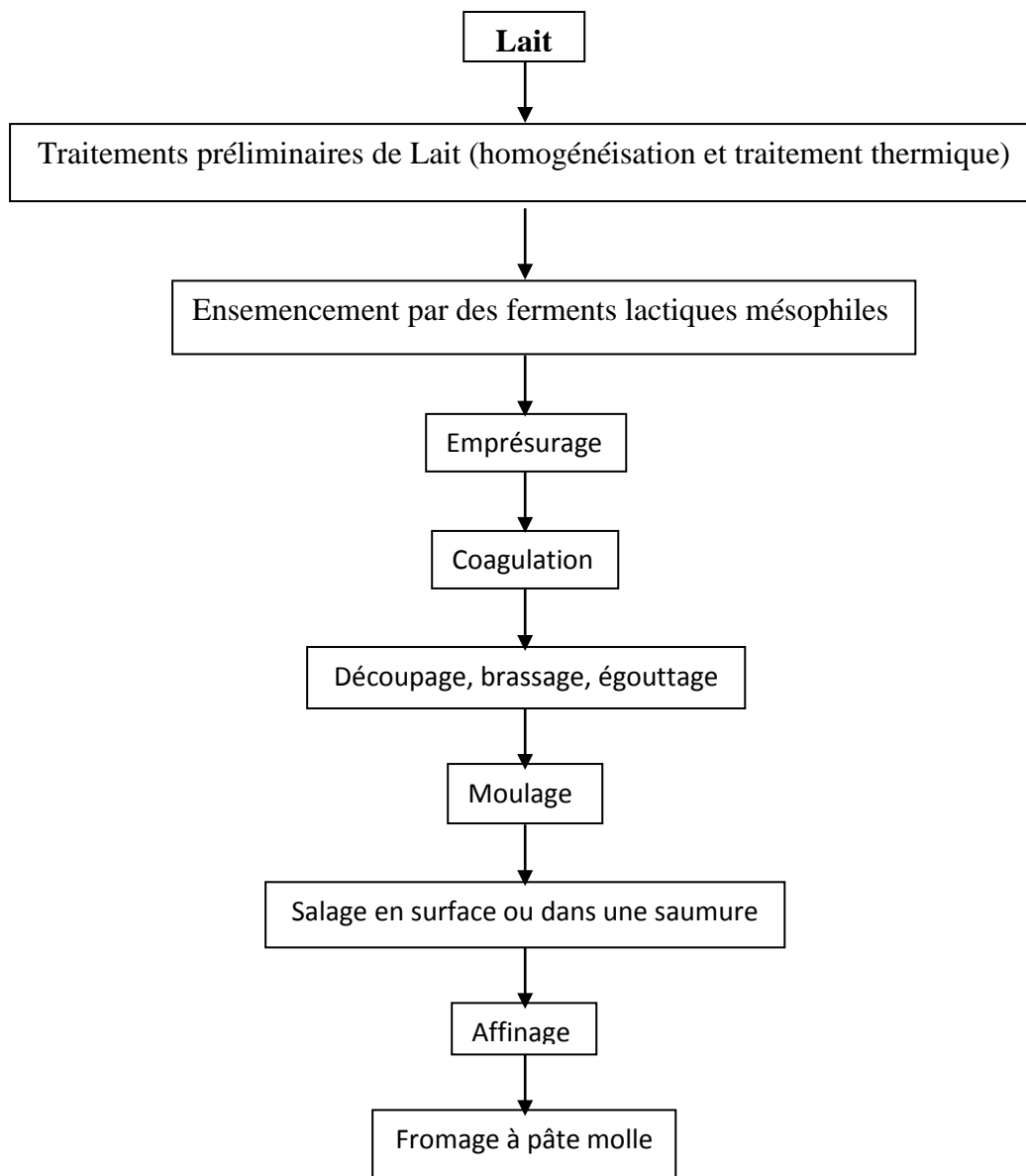


Figure N°07 : diagramme des différentes étapes de fabrication du camembert.

1-L'objectif de l'étude

Le but de ce travail consiste à fabriquer un fromage à pâte molle type camembert issu d'un lait de vache en moyenne lactation, suivi de l'évaluation de la qualité nutritionnelle et microbiologique au cours de la fabrication.

2-Lieu de l'étude

L'ensemble des travaux pratiques a été effectué au niveau de laboratoire de physicochimie et de microbiologie au sein de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, durant la période Avril- Mai de l'année 2016.

3-Echantillonnage

Trois échantillons de lait cru de grand mélange de différentes régions de la wilaya de mostaganem (**Mazagran ,Ouled Hamou ,Mamèche et Tadles**) et récoltés pendant le troisième stade de lactation ont été analysés .Trois prélèvements pour chaque échantillons ont réalisés dès réception de la quantité globale de la productions soit 12L .Il sont fait l'objet d'analyses physico-chimiques[7]et microbiologiques[8].

Les échantillons de *Camembert* ont été prélevés aux stades suivants :

- introduction du fromage pour affinage (stade : $J = 0$) ;
- après 6 jours d'affinage = $(J + 6)$;
- après 12 jours d'affinage = $(J + 12)$;
- après 15 jours d'affinage = $(J + 15)$;
- après 20 jours d'affinage = $(J + 20)$.

4- Les Procédés de fabrication du fromage à pate molle type camembert

4-1) Préparation du lait

La matière première de base de la fabrication du camembert est le lait cru de vache.

4-2) Maturation

Après le chauffage du lait à 40°C, le lait est refroidi à 37°C, puis il subit un ensemencement des ferments (levains mésophiles et thermophiles), et penicilliums.

La maturation du lait est laissée à 7°C durant 15 à 20 min.

4-3) Emprésurage et coagulation

Le lait après maturation lactique est emprésuré. La présure est préparée dans une eau traitée et salée à 6% diluée à raison 2g de présure dans 100ml d'eau.

4-4) Tranchage, brassage et soutirage

Le caillé formé au préalable subit un tranchage vertical et horizontal par un couteau spécifique en de petits dés de longueur, de largeur et d'épaisseur d'environ 1 cm.

Ensuite le caillé est brassé légèrement durant ce qui évite la reconstitution du caillé et permet une meilleure exsudation du lactosérum lors de l'égouttage.

Après 10min de repos, 1/3 du volume du lait sous forme de lactosérum est soutiré du produit par simple séparation. L'autre partie est éliminée directement dans les moules au cours de l'opération d'égouttage.

4-5) Moulage

Le caillé récupéré au terme de l'opération précédente est versé dans moules spécifiques ou il prend formes et subit un égouttage au cours du quel une grande partie du lactosérum est éliminé. Cette opération est réalisée dans des moules.

Pour accélérer le processus d'égouttage le produit dans les moules subit trois retournements : le premier après 30 minutes, le deuxième après 1 heure et le troisième après 1 heure 30 minutes.

4-6) Egouttage et démoulage

L'égouttage dure environ 16 heures dans une salle. Au le lendemain le caillé est démoulé.

4-7) Salage

Le caillé démoulé est immergé directement dans une saumure préparée à raison de 320g de Na Cl raffiné par 1 litre d'eau pendant 45 minutes environ dont la température du saumure = 10°C à 12°C, et la densité = 1020 à 1022.

4-8) Ressuyage

Le caillé salé est laissé par la suite se ressuyer pendant 24 heures dans un hâloir réglé à 10°C.

4-9) Affinage

L'affinage est une opération qui consiste à la maturation du fromage par voie biologique sous l'action des enzymes.

Cette opération est réalisée à une température de 12°C à 15°C et à une humidité de 95% pendant 15 jours.

Les fromages doivent être retournés une fois tous les trois jours, cette opération est à chaque fois accompagnée par une nouvelle pulvérisation de *Penicillium* en vue de permettre une bonne poussée de celui-ci.

4-10) Stockage et conditionnement

En fin d'affinage le camembert est de couleur blanche et présente une texture fondue à l'intérieur avec une croûte externe.

Le camembert après maturation est conditionné dans un film en papier spécifique permettant aux souches de maturation d'être toujours actives.

Analyses physico-chimiques

1-le lait :

Les composés concernés pour le dosage sont obtenus à l'aide de l'appareil : « **LactoStar** »

- ✚ Détermination de la teneur en eau
- ✚ Détermination de la teneur en Matière grasse
- ✚ Détermination de la teneur en Protéine
- ✚ Détermination de la teneur en lactose

2- le fromage

2.1 Mesure de pH

Le pH est mesuré selon la méthode mentionnée par (**Quasem et al., 2009**). Un échantillon de 2 grammes du fromage est dilué dans 10 ml d'eau distillée. Le pH est déterminé par l'immersion de l'électrode du pH-mètre dans le mélange.

2.2 Détermination de la matière grasse : Dosage des lipides totaux (M.G) (Méthode de **Folch et al, 1975**)

A partir de chacun des prélèvements, les lipides ont été extraits par la méthode de **Folch et al, 1975**.

Principe de cette méthode

Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant chloroforme/méthanol (2/1, v/v). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0, 58% permet la séparation des phases.

La phase supérieure constituée méthanol et d'eau, contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel, tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant permet de calculer la teneur en lipides exprimée en pourcentage.

Le pourcentage des lipides totaux peut être déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ des lipides totaux} = \frac{M1-M0}{M} * 100$$

Avec :

M1 : Masse du ballon plein (contenant les lipides)

M0 : Masse du ballon vide

M : Masse de l'échantillon

2.3 Détermination de l'acidité titrable

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 moles/l. La présence de phénolphaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pale). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 ° D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (le mode opératoire est donné en annexe n° 1) (**Mathieu, 1998**).

2.4 Détermination de la densité

La densité est mesurée à l'aide d'un thermo-lactodensimètre étalonné de manière à donner (par simple lecture du trait correspondant au point d'affleurement) la densité de l'échantillon de lait à analyser. Elle est ramenée à 20°C par la formule suivante :

Densité corrigée = densité lue + 0,2 (température du lait - 20°C) (**Mathieu, 1998**).

2.5 Détermination de l'extrait sec total (EST) :

L'extrait sec total est déterminé à l'aide d'un dessiccateur infrarouge. Le principe consiste à sécher l'échantillon par l'émission de radiations infrarouges et à contrôler en continu le poids à l'aide d'une balance intégrée. Le pourcentage d'humidité ou de solide est calculé par la différence entre le poids humide initial et le poids sec final. L'extrait sec dégraissé (ESD) est déterminé en faisant la différence entre l'extrait sec total (EST) et la matière grasse (MG).

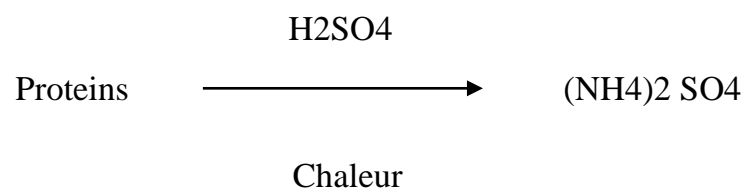
2.6 Détermination de la teneur en protéines:

Dosage de l'azote (méthode de Kjeldahl):

L'azote est dosé selon la méthode de **Kjeldahl** qui est une méthode de référence. Son principe peut être subdivisé en trois étapes:

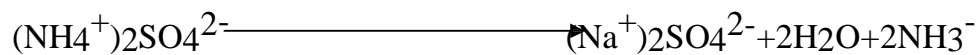
- minéralisation:

La matière organique est détruite à chaud par l'acide sulfurique concentré. L'azote se retrouve sous forme de sulfate d'ammonium:



Distillation:

L'ammoniac (du sulfate d'ammonium) est déplacé par une solution d'hydroxyde de sodium concentré puis entraîné par la vapeur d'eau:



Titration:

L'ammoniac est distillé et titré par une liqueur d'acide sulfurique centinormale en présence de 5 ml d'indicateur coloré. Le mode opératoire est donné en annexe 3.

Le taux protéique est déterminé en utilisant un facteur de conversion égale à 6,38.

2.7 Détermination de la matière organique

Le taux de cendres est déterminé selon la méthode décrite par calcination d'une prise d'essai de 5 g de la spécialité fromagère dans un creuset à une température de 550°C dans un four à moufle pendant 4 heures, par la suite les cendres contenues dans les creusets sont transférées dans un dessiccateur puis pesées par une balance de précision.

La teneur en cendre se détermine par la formule suivante :

$$\text{Taux de cendre (\%)} = (\text{Mf} - \text{M0} / 5) \times 100$$

Où :

Mf : masse à vide du creuset plus celle de l'échantillon, M0: masse à vide du creuset.

La détermination du taux de cendres est réalisée en triple.

2.8 Le rendement fromager (X) : (Voire annexe N°12)

La formule :

$$X(\text{Kg}) \implies 100 \text{ kg de lait emprésuré}$$

$$\sum \text{Poids des échantillons} / 1000 \implies \text{Poids de lait utilisé.}$$

2.9 le coefficient G

Calcul du coefficient G :

- Nombre de litres de lait utilisé
- EST % du fromage
- MG % du fromage
- Poids de fromage obtenu

Dans le fromage, on détermine :

- Le taux d'extrait sec dégraissé (ESD %)

$$\text{ESD \%} = \text{EST \%} - \text{MG \%}$$
 Puis l'extrait sec dégraissé total (ESDT)

$$\text{ESDT} = \text{ESD \%} \times \text{Poids du fromage obtenu}$$
- Enfin, le coefficient G :

$$G = \text{ESDT} / \text{Nombre de litres de lait emprésuré.}$$

1. Analyses microbiologiques

La composition des milieux de culture est portée en annexe n°15.

- Les techniques de dénombrement sont effectuées selon le manuel d'usage relatif aux analyses et tests des produits laitiers (**Petransxiene et Lapied, 1981**).

1.1. La flore mésophile totale :

La flore mésophile, (également désignée : germes aérobies totaux) est l'ensemble des germes aptes à se multiplier à l'air libre avec une croissance optimale à 30°C(**LECLERC et MOSSEL, 1989**).

Après incubation pendant 72 heures à cette température, les micro-organismes aérobies et anaérobies facultatifs, se développent sur un milieu nutritif non sélectif (gélose nutritive) et apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes (annexe04).

1.2. La flore lactique :

Elle est constituée essentiellement des genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*. Leur recherche est importante car ce sont des germes utiles dans l'affinage. Leur quantification permet le suivi de la maturation du fromage, particulièrement de la protéolyse.

1.3. Dénombrement des Streptocoques lactiques :

Le principe de ce dénombrement repose sur l'utilisation du milieu spécifique (milieu M17) rendu sélectif par addition d'acide nalidixique. L'incubation a lieu à 25°C pendant 72 heures (**BOURGEOIS et LEVEAU, 1991**) (voir annexe 05).

1.4. Dénombrement des Lactobacilles :

Le dénombrement de cette flore repose sur l'utilisation du milieu MRS (De Man, Rogosa, et Sharp) avec incubation à 37°C pendant 48 heures. Ce milieu tient compte des caractères acidogènes et acidophiles ainsi que des exigences nutritionnelles de ces germes (**BOURGEOIS et LEVEAU, 1991**) (voir annexe 06).

1.5 Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfito-réducteurs

Pour les spores de Clostridium sulfo-réductrice, aucune croissance n'a été observée sur le milieu Viande-foie additionnée d'Alun de fer et de sulfite de sodium, même après leur activation par le traitement thermique à 80°C pendant 10 minutes. Les tubes contenant une quantité de la dilution mère additionnée du milieu V-F préparé, ne révèlent aucune spore de clostridium sulfito-réductrices dans les tubes 10^{-1} , 10^{-2} .

1.6 Les levures et moisissures :

Les levures et moisissures sont des micro-organismes unicellulaires et filamenteux, se développant dans les milieux acides (pH inférieur à 4,5) et à une température comprise entre 20 et 25 °C. Ces micro-organismes peuvent provoquer des accidents de fabrication comme la détérioration du goût, le gonflement et le défaut de texture.

Le principe de ce dénombrement repose sur l'utilisation d'un milieu rendu sélectif par addition d'antibiotiques tel que le milieu dit gelosé à l'oxytétracycline glucose Ogar(OGA) (le mode opératoire est donné en annexe 08)

1.7 Dénombrement des coliformes :

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

On a utilisé le milieu VRBG avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

1.8 Dénombrement des coliformes fécaux :

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBG après 48 heures d'incubation à 44°C.

Nous avons également ensemencé deux tubes du milieu liquide (BLBVB), chacun par 1ml de chaque dilution. Incubation des tubes à 44° pendant 48 heures (test présomptif).

1.9 Dénombrement des streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux se caractérisent par leur appartenance au groupe sérologique D de LANCEFIELD et par le fait que leur habitat normal étant le tube digestif des animaux, leur présence en nombre excessif est un signe d'un défaut d'hygiène.

Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques du groupe D sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique NPP (nombre le plus probable). La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

Le test présomptif : réservé à la recherche des streptocoques sur milieu de Rothe l'agent sélectif dans ce milieu est l'azide de sodium,

Le test confirmatif : réservé à la confirmation proprement dite sur milieu EVA LITSKY, des tubes trouvés positifs au niveau des tests de présomption. Les agents sélectifs dans le milieu de confirmation sont l'azide de sodium et l'éthyle violet (le mode opératoire est porté en annexe n°09).

- Recherche du caractère hémolytique

A partir des cultures en milieu liquide Eva Litsky, nous avons procéder à l'isolement du germe sur une gélose au sang de mouton défibriné, les boites sont incubées à 37°C pendant 48 heures.

1.10 Recherche des salmonelles :

Du fait de leur rareté et de l'endommagement des cellules, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un pré-enrichissement sur eau peptonéetamponée puis un enrichissement des cellules sur bouillon de sélénite de sodium cystine. Un isolement est effectué par la suite sur divers milieux gélosés sélectifs (mode opératoire en annexe n°09). La dernière phase est celle de l'identification des *Salmonella* isolées sur galeries classiques.

Nous avons utilisé pour cela les galeries biochimiques classiques d'identification, (ONPG, LDC, ODC, ADH, urée-indol-TDA, citrate de Simmons, VP, Mannitol-

Mobilité, Kligler-Hajna, nitrate réductase). Les techniques sont extraites du manuel Le **Minor** et **Richard (1993)**.

1.11 Dénombrement des staphylocoques

Le dénombrement est effectué sur milieu Chapman par étalement en surface de 0,1 ml de chaque dilution. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

2. Méthodes statistiques

2.1 Statistiques élémentaires

Pour chaque type de flore et pour tous les échantillons sont calculés la moyenne, l'écart type, le minimum et le maximum avec le logiciel Excel version 2007 (Microsoft).

Les représentations graphiques des résultats, en histogrammes, en secteurs ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT version 2012.

1-analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de laits sont illustrés dans le *Tableau 07*.

Tableau 07 : Caractéristiques physico-chimiques des laits analysés et normes du lait cru de vache.

Paramètres	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type	Normes FIL-AFNOR
pH	6,2	6,6	6,423333	0,1666	6 ,6
L'acidité (°D)	16,5	17,8	17,16667	0,531246	16 – 18
Densité	1,029	1,0324	1,030633	0,001281	1, 032 – 1, 035
M.G (g /l)	23,6	34 ,4	27,2	3,6	34 –36
M.P (g/l)	98,3	99,8	99,06667	0,612826	34 – 36
E.S.D (g/l)	91	91,9	91,9	0,734847	87,5 – 89,9
Lactose (g/l)	49,6	52,2	50,7	1,098484	47 – 52

Discussion**1.1 PH**

Les valeurs moyennes du pH des laits étudiés $6,4 \pm 0,53$ sont inférieures à celles trouvées par **Mathieu J (1998)**. Les variabilités sont liées au climat, **au stade de lactation**, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite

1.2 L'acidité

- L'acidité des échantillons de laits crus est globalement acceptable avec une moyenne de $17,1 \pm 0,5^\circ\text{D}$, l'écart type montre une faible variabilité des résultats. Ces acidités titrables dépassent la norme FIL-AFNOR de l'acidité du lait frais fixée entre $16-18^\circ\text{D}$, elles peuvent être naturelles dues au stade de lactation, à la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, ou bien développées dues aux conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (**J. Mathieu**). L'étude réalisée par (**H. Aggad ,2009**) dans l'Ouest algérien, a donné lieu à des acidités titrables des laits crus de mélange . Ces similarités peuvent être liées stade de lactation et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique (**H. Labioui 2009**).

1.3 densité

- La densité moyenne des laits mesurée est de $1,030 \pm 0,001$, les fluctuations autour de la moyenne sont très faibles avec un écart type de (0,001). En dehors de tout mouillage du lait, la densité d'un lait varie selon sa richesse en matière sèche, et est inversement proportionnelle au taux de matière grasse (**J. Mathieu**). La moyenne de densité des laits crus de mélange retrouvé par Aggad [11] à l'Ouest algérien se rapproche sensiblement de notre résultat.

1.4 Matière grasse

La teneur en matière grasse varie entre 23 et 34 g/L, avec une moyenne de $27,2 \pm 3,6$ g/L, les variations liées à ce taux sont relativement faibles. Elles restent cependant en dessous des normes FIL-AFNOR du lait, qui tolèrent des valeurs se situant entre 34 à 36 g/L. Seul un échantillon de lait présente un taux butyreux de 34 g/L. Ces résultats peuvent être dues au **stade de lactation** aussi à l'origine d'une traite incomplète des vaches ou à une alimentation déséquilibrée . Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par (**Labioui .2009**) au (**Maroc et Sboui en Tunisie.2009**).

1.5 Matière sèche

E.S.D des laits mesurée est de moyenne $91,9 \pm 0,73$ qui dépassent la norme FIL-AFNOR varier de 87,5 – 89,9 i le lait avait été moins dilué à la fin de lactation, nos

résultats ont été très proches de ceux rapportés dans la littérature (**Larousse Agricole 1981, Packard et Ginn 1990**).

Les proportions de la matière sèche et de la matière grasse dans le lait sont en relation directe avec les conditions d'élevage, d'alimentation, du stade de lactation et de la race (**Morand- fehr et al., 1976 ; St-Gelais et al., 1999**).

1.6 Matière Protéique

La teneur protéique varie entre 98 et 99g/L, avec une moyenne de $99 \pm 0,61$ g/L, les variations liées à ce taux sont relativement fortes, dépassent la norme FIL-AFNOR (87,5 – 89,9), Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par (**Abdelaziz. 2013**)

MARTIN et COULON (1995) notent que beaucoup de facteurs sont susceptibles d'influer négativement sur le taux protéique des laits. il y a lieu de citer l'effet de la race, l'âge, le stade de lactation, la saison, le climat...etc. Le premier facteur semble néanmoins prépondérant dans l'obtention de ces teneurs faibles.

1.7 Lactose

Les valeurs moyennes du lactose $50,7 \pm 1,098$ sont plus fortes que celles du lait étudié par **Mathieu J (1998)** (43,51 contre 49,00 g/l). Le lactose, principal sucre présent dans le lait, substrat de fermentation lactique pour les bactéries lactiques, est dans l'intervalle normal pour un lait cru soit 40-50 g/l.

2-Tableau N° 08: Variation de l'acidité et pH au cours de l'affinage.

		J1 (02/05)	J3 (04/05)	J7 (08/05)	J9 (10/05)	J11 (12/05)	J14 (15/05)
Echantillon 1	pH	4.73	4.5	5.3	6.1	6.5	5.1
	Acidité	15	16.8	18	18	25.9	20.1
Echantillon 2	pH	4.50	4.9	5.6	6.4	6.7	4.9
	Acidité	16	16.7	19	21.3	20.3	22.3
Echantillon 3	pH	4.1	4.4	5.7	6.2	6.4	4.7
	Acidité	16	15.4	16.7	20.6	24.8	22.1
Moyenne	pH	4.43	4.6	5.5	6.2	6.5	4.9
	Acidité	15.6	16.3	17.9	19.96	23.6	21.5

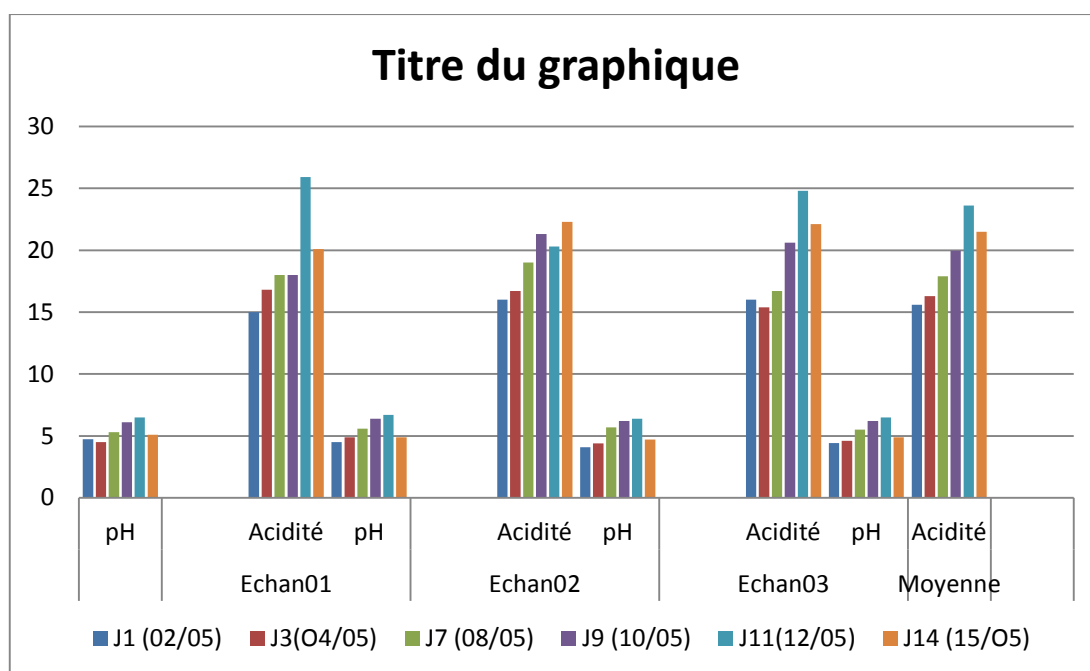


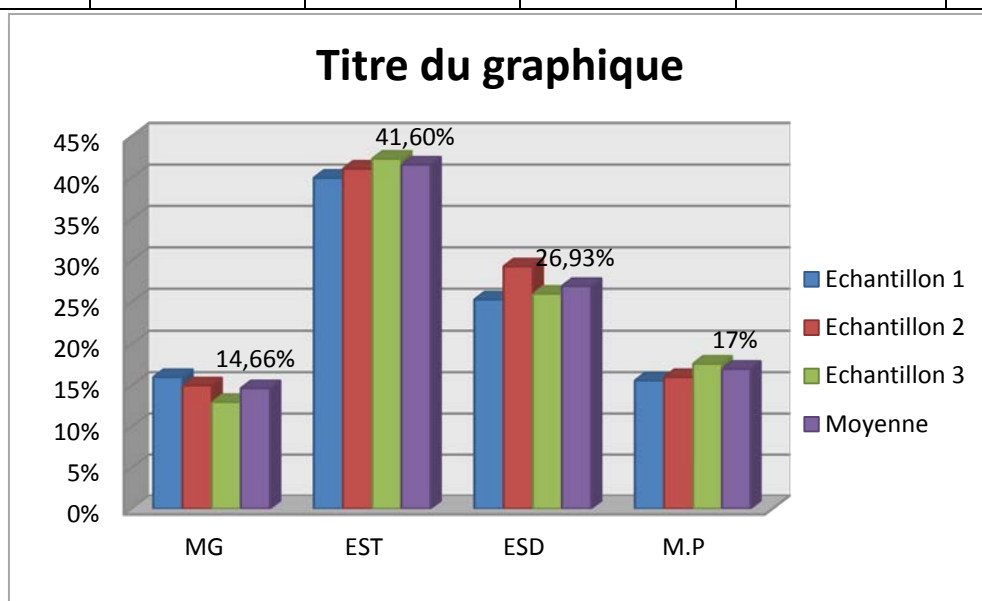
Figure N°10 : La variation de l'acidité et pH au cours de la fabrication.

-Discussion :

Cette diminution du pH graduelle pour les différents échantillons s'explique par la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques. **AFNOR, (1986).**

2- Résultats des analyses physicochimiques du produit fini**Tableau N°09:** Paramètres physicochimiques du camembert.

	Matière grasse	l'extrait sec total (en %)	l'extrait sec dégraissé (%)	M.P (%)	M.Organique (g)
Echantillon 1	16%	40%	25.3%	16.5%	3.9g
Echantillon 2	15%	41.1%	29.3%	16%	4.1g
Echantillon 3	13%	42.3%	26%	17.625%	4.2g
Moyenne	14.66%	41.6%	26.93%	17%	4.02g
	± 1,247219	± 0,920145	± 1,713346	± 0,467707	± -

**Figure N°11 :** Paramètres physicochimiques du camembert.

Discussion

Le produit fini à savoir le camembert a une valeur de matière sèche très élevée, la teneur en matière protéique de camembert avoisine 4.02g.

Selon **ALAIS 1975**, le taux de l'extrait sec varie d'un type de fromage à un autre, dans de larges limites, et dépend d'une part de la composition initial du lait et d'autre part de la manière dont sont effectués la coagulation et l'égouttage.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus, on remarque que les valeurs obtenues sont globalement dans les normes admises par la réglementation.

3-Résultats du rendement fromager et coefficient G.

Tableau N°10 : Rendement fromager et le coefficient G.

	Le rendement fromager (Kg/100Kg du lait)	Le coefficient G
Echantillon 1	18.98	73.02
Echantillon 2	17.9	68.86
Echantillon 3	18.34	70.55
Moyenne	18.40	70.81

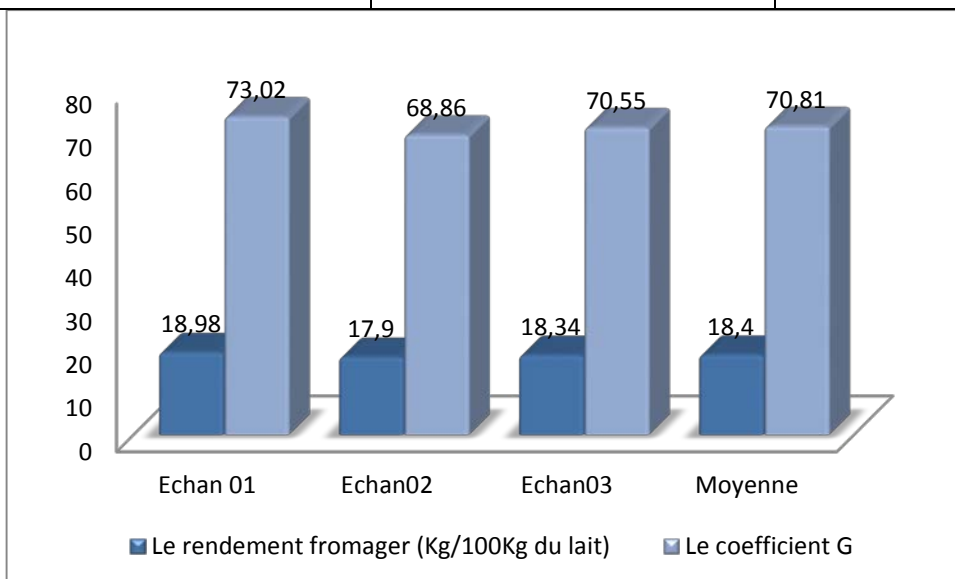


Figure N°12 : Représente le rendement fromager et le coefficient G.

1-résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau n°11. Ils représentent la charge en différentes microflores recherchées dans les laits crus analysés

Tableau N°11 : résultats des analyses microbiologiques.

Flores (UFC/ml)	Moyenne	Normes (UFC/ml) (JORA, 1998)
FTMA (10 ²)	40	10 ⁵
CSR (10 ⁴)	Abs	50
staph. (10 ²)	6	Abs
col.t. (10 ⁴)	60	10 ²
col.f. (10 ³)	232	10 ³

FTMA : flore totale aérobie mésophile; **strept.f.**:streptocoques fécaux ; **staph.:** staphylocoques ; **col.t.:** coliformes totaux ; **col.f.** : coliformes fécaux. **CSR** :Clostridium sulfito-réducteurs

Tableau N° 12 : Résultat dénombrement streptocoques fécaux du lait.

Les tubes	10 ⁻¹			10 ⁻²			10 ⁻³		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
L'aspect	Trouble	trouble	trouble	Pure	pure	pure	trouble	trouble	Pure

Selon le tableau de MAC GRADY (voir Annexe 11), on a trouvé :

Nombre caractéristiques = 302 \implies Nombre de micro-organisme = 6,5.

Discussion :

1.1 Flore totale mésophile aérobie

Le échantillon prélevé présente une charge en microorganismes de la flore totale 40.10^2 UFC/ml.

En effet, selon (JORA, 1998), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10^5 UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de 5.10^5 UFC/ml et 3.10^5 UFC/ml (Alais, 1984).

1.2 Coliformes totaux

Le lait analysé présente une charge en coliformes totaux de 60.10^4 UFC/ml, Ce niveau de contamination dépassent largement les normes en vigueur qui sont de 10^3 UFC/mL .La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour cette flore. Pour cela, nous essayeront de comparer nos résultats à d'autres études similaires

Nos résultats en coliformes totaux sont supérieurs à ceux rapportés par Ouazzani , toutefois ils sont inférieurs aux dénombrements retrouvés par **Ouinine K(2004)** au **Maroc**. Pour les coliformes fécaux, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Ghazi K et Niar A(2011)**, dans la région de Tiaret en Algérie, ils se rapprochent des résultats obtenus par **Afif A(2008)**, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par **Ouinine K(2004)** .

1.3 Coliformes fécaux

Les dénombrement de ces germes présentent des résultats qui varient entre l'absence du germe et 232.10^3 UFC/ml comme valeur maximale, La norme algérienne concernant les coliformes fécaux étant fixée à 10^3 germes/ml , Pour les

coliformes fécaux, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Ghazi K et Niar A(2011)**, dans la région de Tiaret en Algérie, ils se rapprochent des résultats obtenus par **Afif A(2008)** dans l'une des coopératives laitière à **Tadla (Maroc)**, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par **Ouinine K (2004)**.

1.4 Staphylocoques

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru. Les résultats obtenus sont très variables, ils présentent $6 \cdot 10^2$ UFC/ml. La présence de staphylocoques dans le lait peut avoir deux origines principales, soit elle résulte d'une contamination primaire, due à la présence dans un troupeau de mammites à *Staphylococcus aureus*, soit c'est une contamination humaine. Ce germe provoque des intoxications alimentaires par ingestion des toxines qu'il secrète. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Aggad H(2009)**

Par ailleurs, l'absence de **Streptocoques fécaux** dans les échantillons. L'amélioration de l'hygiène de la traite, de la collecte et la conservation rapide au froid permettraient de réduire la charge microbienne (**FAO, 2011**).

2- Résultats des bactéries lactiques

Tableau N°13: Représente le suivi de la flore lactique durant l'affinage.

Temps d'affinage	1 ^{er} semaine		2 ^{ème} semaine		3 ^{ème} semaine	
	MRS	M17	MRS	M17	MRS	M17
Nombre UFC/g	20.10 ⁶	42.10 ⁶	32. 10 ⁶	31.10 ⁶	14. 10 ⁶	57.10 ⁶

Discussion :

Les bactéries lactiques forment durant l'affinage la flore dominante et tirent leur origine principale de la culture ajoutée en début de fabrication. Elles abaissent le pH par la production d'acide lactique aux dépens du lactose du lait et contribuent au caractère organoleptique des fromages au cours de la maturation.

Les bactéries lactiques homofermentaires sont les plus importantes.

Des streptocoques lactiques mésophiles (comme *Lactococcus lactis*) sont les premiers à se développer. Leur fonction principale est d'acidifier le lait, créant ainsi un milieu défavorable au développement des germes indésirables.

Les lactobacilles sont relativement peu nombreux au début, mais se multiplient activement durant l'affinage ; ils participent au développement de l'arôme et à l'hydrolyse des protéines du caillé.

C'est ainsi que les microorganismes responsables de l'affinage du fromage peuvent être déjà présents dans le ferment utilisé pour la fabrication, ou présents naturellement dans le lait (**Cogan, 2003**).

Par ailleurs, les ferments utilisés pour la fabrication de fromage comprennent principalement les genres de bactéries lactiques *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus* (**Beresford et al. 2001**).

Lors de la production, la croissance des bactéries du ferment, flore primaire, est principalement responsable de l'acidification du lait en métabolisant le lactose en acide lactique (lactate). Par la suite, les bactéries lactiques de la flore secondaire participant à l'affinage du fromage sont principalement des lactobacilles hétérofermentaires facultatives, *Lactobacillus casei* et *Lb.* (**Cogan, 2003**).

3- Qualité microbiologique du produit fini

Tableau N° 14 : Analyses microbiologies du camembert.

Les flores	(UFC/ml)	Normes
<i>F.T.A.M</i>	30.10 ⁴	/
Coliformes fécaux	10	10 ²
Coliformes totaux	2	10
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	Abs	1
<i>Salmonella sp</i>	Abs	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	10 ²

Discussion

On remarque d'après les résultats du tableau N°14 que les échantillons de fromage de pâte molle testés sont d'une bonne qualité microbiologique, étant donné l'absence de certains germes d'altération des qualités organoleptiques, voir nutritionnelles, mais surtout des micro-organismes pathogènes pouvant porter préjudice à la santé du consommateur.

La qualité nutritionnelles des fromages dépend d'un grand nombre de facteurs liés à la fois à la technologie de fabrication et aux caractéristiques chimiques et microbiologiques de la matière première mise en œuvre. Ces dernières dépendent en telles-mêmes de nombreux facteurs d'amont (d'origine génétique, physiologique, alimentaire...)

Dans la préparation de notre mémoire, nous avons fait une approche de la réalité de fonctionnement d'une unité agroalimentaire. Cette mémoire nous a permis de compléter nos connaissances théoriques et pratiques dans le domaine de la technologie du lait et ses dérivés.

Au cours de notre stage, nous avons évalué la qualité nutritionnelle et microbiologique d'un fromage à pâtes molles de type camembert issu d'un lait de vache en de troisième stade de lactation, ainsi que l'évolution des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de ce type de fromage durant la fabrication.

Les résultats des analyses physico-chimiques sont généralement, compris dans des intervalles proches des normes internationales pour ce produit.

les flores microbiennes du lait cru ont un rôle principal sur la qualité technologique et sensorielle du fromage

Le lait cru engagé dans la transformation en fromage est de très bonne qualité physicochimique et microbiologique.

Par ailleurs, les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication ont occasionné des produits finis de bonnes qualités organoleptiques, nutritionnelles et sanitaires.

Annexe 1

Détermination de l'acidité du lait :

* **Prise d'essai** : 10ml de l'échantillon sont préparés dans un bêcher de 100ml.

* **Mode opératoire** :

- ajouter à la solution 0,3 ml de la solution de phénolphtaléine à 1%

- titrer avec la soude (NaOH N/9) jusqu'au virage au rose de la solution qui doit persister pendant une dizaine de secondes.

L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) et donnée par lecture directe du volume (ml) de soude versée.

Annexe 2

Détermination de la matière grasse par la méthode acidobutyrométrique:

A. lait :

* **Mode opératoire** :

- introduire dans le butyromètre de GERBER

. 10ml d'acide sulfurique

. 11ml de l'échantillon

. 1ml d'alcool isoamylique

- fermer le butyromètre à l'aide d'un bouchon

- mélanger jusqu'à la dissolution totale du mélange puis centrifuger pendant 6 minutes à 1200 tours / min. le résultat est exprimé en g /l et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

B. FROMAGE

* **Prise d'essai** : 3g de fromage sont broyés dans le godet qu'on introduit dans le butyromètre de VAN GULIK.

* **Mode opératoire** :

- introduire par l'extrémité du butyromètre de l'acide sulfurique jusqu'à ce que le niveau de l'acide dépasse le godet de 2 mm ;
- placer le butyromètre dans le bain-marie jusqu'à la dissolution totale du fromage ;
- retirer le butyromètre, agiter puis introduire 7ml d'alcool isoamylique ;
- ajouter de l'acide sulfurique jusqu'à l'avant dernière graduation du butyromètre ;
- faire des retournements puis des agitations (2 fois) ;
- placer le butyromètre dans la centrifugeuse à 1200 tours / min pendant 6 minutes ;
- la teneur en matière grasse exprimée en g/100g de fromage est donnée par lecture directe sur le butyromètre.

Annexe 3

Dosage de l'azote (méthode de Kjeldhal) :

A. lait :

* **dosage de l'azote total** :

le dosage est effectué sur 5 ml de lait.

* dosage d'azote soluble :

- prendre 20 ml de lait
- précipiter à pH 4,6 avec HCl (4 N)
- filtrer sur papier filtre
- doser l'azote soluble sur 5 ml de filtrat obtenu.

B. fromage :

* remise en suspension du fromage :

- prendre 5 g de fromage pesés au mg près
- broyer à l'aide d'un mortier et mélanger pour rendre le produit homogène
- disperser l'homogénéisât dans une solution de citrate sodique (0,5 M) dans un mixeur pendant 8 minutes
- transvaser sans pertes dans une fiole jaugée de 100 ml en rinçant les parois du mixeur
- amener le volume à 100 ml avec la solution de citrate de sodium

* **Dosage de l'azote soluble :**

- mettre 20 ml de la solution dans un bêcher
- amener à pH 4,6 avec HCl (1 N)
- transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml
- compléter avec de l'eau distillée, agiter et laisser reposer pendant 10 minutes
- filtrer sur papier et doser sur 5 ml de filtrat

* **Mode opératoire :**

a : Minéralisation :

- introduire dans un ballon Kjeldhal ou matras :.la prise d'essai (mélanger 10 g de sulfate de cuivre cristallisé et 100 g de sulfate de potassium) ; 15 à 17 ml d'acide sulfurique concentré
- agiter et placer les matras sur le dispositif de chauffage sous une hotte d'absorption des vapeurs

- augmenter le chauffage jusqu'à douce ébullition du mélange acide ; prolonger le chauffage 30 minutes après décoloration du mélange acide
- laisser refroidir et boucher pour éviter tout contact avec les vapeurs ammoniacales présentes dans le laboratoire.

B : distillation :

- addition de 30 à 50 ml d'eau distillée tout en rinçant les matras,
- alcaliniser le contenu du matras avec 55 à 65 ml de soude concentrée (20 à 30 ml pour le fromage) et adapter aussitôt à l'appareil de distillation,
- l'allonge du réfrigérant est ajustée de façon à ce qu'elle plonge au fond d'un bêcher dans lequel sont introduits 10 ml de solution d'acide borique avec un indicateur coloré,
- l'entraînement de l'ammoniac commence presque aussitôt et se fait très rapidement et l'indicateur contenu dans le bêcher vire à sa teinte alcaline,
- titrer avec de l'acide sulfurique 0,1 N jusqu'à virage de l'indicateur à sa teinte acide.

*** Résultat :**

- la teneur d'azote total exprimée en gramme d'azote par litre de lait ou par 100 g de fromage est donnée par la relation : $T_t = V \times 0,014 \times 200$
- la teneur d'azote soluble exprimée en gramme d'azote par litre de lait ou par 100 g de fromage est donnée par la relation : $T_s = V \times 0,00028 \times 250 \times 0,987$

Annexe . Préparation des dilutions :

*** le diluant :**

le diluant utilisé pour préparer les solutions mères est généralement le même que celui qu'on utilise pour effectuer les dilutions décimales. Il ne doit pas induire de variations qualitatives ni quantitatives sur la flore microbienne présente. Il doit aussi assurer la survie de tous les micro-organismes mais ne doit pas favoriser leur multiplication.

Les solutions les plus utilisées en bactériologie alimentaire sont :

- solution tryptone - sel ;
- eau physiologique.

*** dilution du produit à analyser :**

à l'aide d'une pipette de 10 ml, on prélève 9 ml d'eau physiologique que l'on introduit dans une série de 5 tubes stériles pour le lait et pour le fromage.

- Produit liquide

On homogénéise convenablement le produit à examiner ou sa suspension à l'aide d'une pipette stérile, on prélève 1 ml de ce produit.

On introduit aseptiquement le volume prélevé dans un tube contenant 9 ml de diluant ; ainsi on obtient la dilution 1/10 ou 10⁻¹. On agite manuellement.

A l'aide d'une pipette stérile, on prélève 1 ml de la dilution 10⁻¹, on l'introduit dans un deuxième tube contenant 9 ml de diluant ; ainsi on obtient la dilution 1 /100 ou 10⁻². On refait ainsi l'opération jusqu'à l'obtention du nombre de dilutions désiré.

- Produit solide

On prélève aseptiquement 1 ml du produit à analyser (fromage) qui a été préalablement dissout dans une solution stérile de citrate de sodium, que l'on introduit dans le premier tube contenant 9 ml d'eau physiologique, on obtient la dilution au 1/10 ou 10⁻¹.

On procède de la même manière que pour le produit liquide jusqu'à obtention de la dilution 10⁻⁵ ; et on ensemence sur les différents milieux de culture.

Annexe 04

Dénombrement des germes totaux :

A partir des dilutions décimales :

- introduire aseptiquement 1 ml dans les boites de Petri ;

- couler le milieu gélosé fondu au préalable au bain d'eau à ébullition et refroidi à 45°C agiter lentement
- incuber dans l'étuve à 37°C pendant 72 heures, les boîtes de pétri retournées
- dénombrer les boîtes contenant des colonies dont le nombre est compris entre 30 et 300
- multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution pour trouver le nombre de germes par millilitre ou par gramme.

Annexe 05

Dénombrement des Streptocoques lactiques :

A partir des dilutions décimales, introduire aseptiquement 1 ml dans les boîtes de Petri

- couler dans chaque boîte 14 ml de milieu M 17 fondu et refroidi à 48°C
- mélanger et laisser solidifier sur une surface froide
- incuber 2 jours à 37°C.

Dans ces conditions, les colonies vont apparaître sous forme lenticulaire dénombrer et procéder de la même manière que pour la flore totale pour déterminer le nombre de germes.

Annexe 06

Dénombrement des lactobacilles.

A partir des dilutions décimales, introduire aseptiquement 1 ml dans les boîtes de pétri,

- couler dans chaque boîte 14 ml de milieu MRS fondu et refroidi à 48°C
- mélanger et laisser solidifier sur une surface froide
- placer les boîtesensemencées dans une jarre pour culture aérobie
- incuber 3 jours à 37°C.

Dans ces conditions, les Lactobacilles forment des colonies lenticulaires souvent polylobées de 1 à 3 mm de diamètre. Le calcul du nombre de germes est le même que les précédents.

Annexe n°07

Dénombrement des streptocoques fécaux

Test de présomption

- ✓ Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution.
- ✓ A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- ✓ L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture:

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. Aucun dénombrement n'est à faire à ce niveau.

a. Test de confirmation

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

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

- Lectur

e

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

- Lecture finale :

Elle s'effectue selon les prescriptions de la table de MAC GRADY (annexe n°11), en tenant compte des tubes EVA positifs.

Annexe 08

Dénombrement des levures et moisissures :

A partir des dilutions décimales, introduire aseptiquement 1 ml dans les boîtes de Petri

- couler le milieu de l'oxytetracycline OGA préalablement fondu puis refroidi à

45°C

- laisser solidifier sur une surface froide en agitant lentement par des mouvements circulaires

- incuber à 25 °C pendant 3 à 5 jours

- dénombrer les colonies pour chaque espèce. Ne retenir que les boîtes contenant moins de 150 colonies et les multiplier par l'inverse de la dilution pour avoir le nombre de germes par millilitre ou par gramme.

Annexe 09

Composition des milieux :

* Gélose nutritive :

- peptone-----10 g

- extrait de viande-----4 g

- chlorure de sodium-----5 g

- agar-----13 g

- eau distillée-----1000 ml

pH = 7,2

- répartir en flacons de 125 ml

- autoclaver à 115 °C pendant 20 minutes

*** Milieu M17 :**

Milieu de base :

- peptone tryptique de caséine-----2,50 g
- peptone pepsique de viande-----2,50 g
- peptone papainique de soja-----5,00 g
- extrait de levure déshydraté-----2,50 g
- extrait de viande-----5 g
- glycérophosphate de sodium-----19,00 g
- sulfate de magnésium, 7 H₂O-----0,25 g
- acide ascorbique-----0,50 g
- agar-----9 à 18 g
- eau distillée-----950 ml

pH =7,1

- répartir en raison de 95 ml par fiole de 125 ml
- autoclaver à 121 °C pendant 20 minutes

Solution lactose :

- lactose-----10 g
- eau distillée-----100ml
- autoclaver à 121 °C pendant 20 minutes

Milieu complet :

- milieu de base préalablement fondu dans un bain d'eau bouillante et refroidi à 48 - 50°C -----95 ml

- solution de lactose-----5 ml

- mélanger par agitation.

*** Milieu MRS (De MAN, ROGOSA, SHARPE)**

- protéose- peptone n° 3-----10 g

- extrait de viande-----10 g

- extrait de levure-----5 g

- glucose-----20 g

- Tween 80 -----1 g

- citrate d'ammonium-----2 g

- sulfate de magnésium, 7 H₂O-----0,1 g

- acétate de sodium , 3 H₂O-----5 g

- sulfate de manganèse, 4 H₂O -----0,05 g

- phosphate dipotassique-----2 g

- agar-----12 g

pH = 5,4

- répartir en flacons de 125 ml à raison de 100 ml

- autoclaver à 125 °C pendant 20minutes

*** Milieu hypersalé de CHAPMAN :**

- extrait de viande de boeuf-----1 g

- peptone-----10 g

- chlorure de sodium-----75 g

- mannitol-----10 g

- rouge de phénol-----0,025 g
- agar-----15 g
- amphotéricine
- eau distillée-----1000 ml

pH=7,4 +- 0,2

- autoclaver 15 minutes à 120°C
- couler en boîte de Petri.

*** Milieu à l'oxytétracycline (OGA)**

- extrait de levure-----5 g
- glucose-----20 g
- gélose-----16 g
- eau distillée-----1000 ml

pH = 7,2 ± 0,2

- repartir en flacons de 250 ml à raison de 100 ml
- autoclaver à 115 °C pendant 20 minutes.

Annexe n°10 : Test de Mac Kenzie

Mode opératoire :

A partir des tubes positifs du test présomptif, on inocule l'ose dans :

- ✓ Un tube d'eau peptonée tamponnée exempte d'indole.
- ✓ Un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant muni d'une cloche de DURHAM.

Les tubes sont placés aussitôt dans une étuve réglée à 44°C pendant 48 heures.

- Lecture :

Si après incubation à 44°C pendant 48h, il y a production de gaz (BLBVB) et d'indole mis en évidence par addition de réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée avec lequel il donne un anneau rouge révélant une réaction positive, on peut soupçonner la présence d' *E. coli*.

Annexe 10**Test de dégustation :**

Un test organoleptique est réalisé grâce à un jury composé de sept individus choisis parmi le personnel de l'unité fromagère de DBK.

L'épreuve consiste à noter pour chaque échantillon de fromage, selon l'échelle notée de 0 à 4, l'intensité des caractères (aspect, texture et du goût défini à partir de la dégustation) :

0 : très mauvais ; 1 : mauvais ; 2 : moyen ; 3 : bon ; 4 : très bon.

Les quatre fromages (FLL et FLM affinés jusqu'aux stades J+12 et J+20) et les deux autres soumis à l'entreposage réfrigéré (6-10°C) pendant une semaine, sont présentés en même temps et déposés dans un ordre aléatoire. Les dégustateurs doivent individuellement évaluer chaque fromage selon les caractères prédéfinis. Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent se rincer la bouche avec de l'eau afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

Fromage			
	J+12	J+20	Jer+7
Aspect	3	3	1
Texture	3	4	2
Goût	3	4	2

Annexe 11: Tables de Mac Grady (Cuq, 2007)

Nombre Caractéristique	Nombre de Micro- organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

Annexe12

1-Rendement fromager :

C'est le poids de fromage obtenu à partir de 100 litres ou 100 kg de lait emprésuré. On peut l'exprimer par la quantité de lait nécessaire pour obtenir un fromage, on parle aussi de nombre de fromages obtenus à partir de 100 litres de lait ou à la bassine.

2-Coefficient G :

C'est le nombre de grammes d'extrait sec dégraissé laissé dans le fromage salé et mûr à partir d'un litre de lait emprésuré.

Résumé

Des échantillons de lait cru de vache (3), destinés à la fabrication d'un fromage type Camembert, ont été analysés durant la période de fin lactation . Les résultats des caractéristiques physico-chimiques (densité et acidité) sont proches des normes, il dépend essentiellement du facteur alimentaire.

L'analyse microbiologique a porté sur certains groupes microbiens : parmi les groupes indicateurs d'hygiène (flore totale, coliformes F, T) et certains groupes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*, salmonelles). Les niveaux de contamination ont été interprétés sur la base des critères microbiologiques définis par (JORA, 1998). Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale permet de souligner la contamination des échantillons analysés avec des moyennes respectives de 40.10^5 UFC/ml et pour le fromage 30.10^4 UFC/ml.

Les échantillons de laits sont également contaminés par les coliformes totaux, les coliformes fécaux avec des taux moyens respectifs de 60.10^2 UFC/ml, 232.10^3 UFC/ml.

La présence de germes pathogènes est essentiellement attribuée aux staphylocoques avec une moyenne de 6.10^2 UFC/ml.

L'absence de salmonelles dans tous les échantillons de fromage. Au vu des normes algériennes (JORA, 1998), la qualité hygiénique de tous les échantillons de laits analysés, est bonne. Le lait cru utilisé dans la fabrication du camembert est généralement de bonne qualité physicochimique. Le fromage durant sa fabrication est sous l'influence de nombreux paramètres dont l'humidité et la température de l'ambiance du lieu d'expérimentation (salle de laboratoire).