

Université Abdelhamid
Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme Master en biologie

Option : Nutrition et santé

Présenté par : Mlle Amir-aid yamina

THEME

**ETUDE DE L'EFFET DE LA TRANSGLUTAMINASE
SUR LA QUALITE DU FROMAGE A PATE MOLLE
TYPE CAMEMBERT**

Soutenu le : 22/06/2016

Devant le jury composé de :

Président	Mr BEKKADA Ahmed	Professeur	C.U. Tissemsilt
Encadreur	Mr BENBOUZIANE Bouasria	M.C.B	U. Mostaganem
Examineur	Mr CHAALEL Abdelmalek	M.C.B	U. Mostaganem

Année universitaire : 2015 -2016

Thème réalisé au niveau de la SPA laiterie – fromagerie Sidi saada – Yellel - Relizane

Avant propos

Ce travail de mémoire est une étape importante dans mon cursus d'études vu qu'il constitue l'achèvement de mes études universitaires. C'est la raison pour laquelle il m'a semblé intéressant de choisir une problématique qui me permette de faire le trait d'union entre mes études académiques et mon expérience professionnelle en matière de contrôle de la qualité.

Le sujet de mémoire constitue un double défi. D'une part, il n'existe pas une réglementation régissant l'utilisation de la transglutaminase dans l'alimentation, d'autre part cette thématique m'oblige à considérer et à analyser en lumière de la réglementation déjà existante concernant le produit sur lequel a été consacré l'étude.

Je prierais donc mes maitres de bien vouloir m'excuser si, en lisant mon travail, ils relèvent une certaine superficialité dans l'analyse.

Je remercie avant tout Dieu tous puissant pour l'achèvement de ce travail.

Je tiens à remercier :

- *mon directeur de Mémoire, Monsieur **Benbouziane Bouasria** Maitre de conférence B à l'université Abdelhamid Iben badis – Mostaganem, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrés à diriger ce mémoire.*

Je tiens à remercier les membres de jury :

- *Monsieur **Bekkada Ahmed** professeur au centre universitaire de Tissemsilt, vous m'avez fait l'honneur d'accepter la présidence de jury de ce travail. Veuillez trouver dans cet ouvrage le témoignage de mes sincères reconnaissance.*

- *Monsieur **Chaalel Abdelmalek** maitre de conférences B à l'université Abdelhamid Iben badis – Mostaganem, vous m'avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail, je vous remercie pour votre disponibilité.*

- *Je tiens également à remercier vivement monsieur **Riazi Ali** professeur à l'université Abdelhamid Iben badis –Mostaganem d'avoir accepter de m'encadrer dans son master.*

REMERCIEMENTS

A l'issue de la rédaction de ce travail, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail sans le soutien d'un grand nombre de personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à Mr Djened M. professeur à l'université de Mostaganem et doyen de la faculté des sciences pour ses précieux conseils et ses encouragements au cours de mes études de master.

Je tiens également à exprimer mon plus profond respect à Mr Beghalia M. directeur de l'institut SNV au centre universitaire de Tissemsilt pour son encouragement et son soutien durant mes études de master.

J'adresse l'expression de ma vive et respectueuse gratitude à Monsieur Moderss B. président du tribunal administratif de la wilaya de Mostaganem qui m' a soutenu et m' a encouragé tous le long de ce travail avec ses conseils très fructueux.

J'exprime à Monsieur Abed B. Directeur de la laiterie Sidi Saada, Monsieur Oulmokhtar H. responsable des moyens, Monsieur Abbou B. responsable de la production et Mr Djouad M. responsable du laboratoire ,une infinie reconnaissance pour avoir bien voulu m' accueillir et contribuer à la réalisation de mon travail , ainsi que tous le personnel de la laiterie Sidi saada pour leurs respect et leur aide.

Je dois à Monsieur Ouled cheik A., propriétaire du laboratoire OC sise à Relizane et Madame Ouled cheik R., une grande reconnaissance pour m' avoir accueilli au sein de son laboratoire, ainsi que les techniciens du laboratoire OC spécialement Melle Hafida, Melle Fatiha et Mr Abed pour leurs sympathie.

Mes remerciements vont également à Madame Kourba H. inspectrice principal de la répression des fraudes au sein du laboratoire CACQE Oran pour son aide et son soutien.

J'exprime ma gratitude à monsieur Benyahia doyen de la faculté des sciences de la nature et vie de l'université de Sidi Bel Abbes pour son aide précieuse.

Je tiens également à remercier mon collègue Belhadria N. pour son encouragement et son aide.

Comme je tiens à remercier le personnel de la bibliothèque de Sidi Bel Abbes, et le personnel de la bibliothèque central et la bibliothèque SNV de Mostaganem , et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

SOMMAIRE

Résumé	Page
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I :Le fromage

I. Généralités sur les fromages.....	2
I.1. Historique	2
I.2. Définition du fromage	2
I.3. Equivalence en protides	2
I.4. La production international du fromage	2
II. Mécanisme de transformation du lait en fromage	3
II.1. La micelle de caséine et la coagulation du lait.....	4
II.1.1. Le système protéique du lait.....	4
II.1.2. La micelle de caséine bovine.....	5
II.2. Le mécanisme de coagulation du lait	6
II.2.1. La coagulation par acidification	6
II.2.2. La coagulation par voie enzymatique	7
II.2.3. La coagulation mixte	7
II.3. Les agents de transformation du lait	8
II.3.1. La présure	8
II.3.2. Autres enzymes coagulantes	8
II.3.2.1. Les enzymes d'origine animale	9
II.3.2.2. Les enzymes d'origine végétale	9
II.3.2.3. Les enzymes d'origine microbienne	9
II.3.3. Les ferments lactiques	9
II.3.4. Les bactériophages	10
III. Procédé de fabrication du fromage	10

III.1. La correction du lait.....	11
III.1.1.Réglage de la matière grasse du lait.....	11
III.1.2. Standardisation du lait de fromagerie en matière protéiques.....	11
III.1.3. Apport de colorant.....	11
III.1.4.Le traitement thermique du lait.....	12
III.2. La maturation du lait et correction apportées avant coagulation.....	12
III.3. La coagulation du lait.....	13
III.4. L'égouttage.....	14
III.4.1. En fabrication lactique.....	14
III.4.2. En fabrication présure.....	14
III.4.3. Les actions mécaniques et techniques d'égouttage.....	15
III.4.3.1. Le tranchage.....	15
III.4.3.2. Le brassage.....	15
III.4.3.3. Le chauffage ou cuisson du caillé.....	16
III.4.3.4. Le pressage.....	17
III.4.3.5. Les retournements.....	17
III.5. Le salage.....	17
III.5.1. Les méthodes de salage.....	18
III.6. Le séchage.....	18
III.7. L'affinage.....	18
III.7.1. Les agents de l'affinage.....	18
III.7.1.1. Les enzymes naturelles du lait.....	19
III.7.1.2. Les enzymes coagulantes.....	19
III.7.1.3. Les enzymes microbiennes.....	19
IV. Les différents types de fromages en fonction du type de pâte.....	21
IV.1.procédé de fabrication du camembert.....	21

Chapitre II : La transglutaminase

I. Généralités sur l'enzyme transglutaminase.....	23
I.1. Historique.....	23
I.2 .Définition.....	24
I.3.Source de la transglutaminase.....	25
I.4. Les propriétés de l'enzyme transgluatminase.....	26

II. Le mécanisme d'action de la transglutaminase.....	27
III. La biosynthèse de la transglutaminase.....	28
IV. Application de la transglutaminase dans l'industrie agro alimentaire.....	29
IV.1. Amélioration des aliments par addition de la transglutaminase.....	29
IV.1.1.Les produits de boulangerie.....	30
IV.1.2.Les pâtes alimentaires	30
IV.1.3.Les produits carnés.....	31
IV.1.4 .Les produits laitiers	31

Partie II : Etude expérimentale

I - Matériels et méthodes.....	32
I-1. Lieu du travail.....	32
I.2. Préparation des échantillons.....	32
I. 2.1. Définition de l'enzyme utilisée	32
I.2.2.Les analyses physico-chimiques du lait cru.....	33
I.2.3. Les analyses bactériologiques du lait cru.....	33
I.2.3.1. Préparation des dilutions.....	33
I.2.3.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.....	34
I.2.3.3. Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux.....	34
I.2.3.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	36
I.2.3.5. Recherche de Clostridium Sulfito-Réducteurs.....	37
I.2.3.6. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
I.2.3.7. La recherche des antibiotiques.....	39
I.2 .4. Préparations des échantillons de Camembert.....	40
II. Méthodes d'analyses.....	43
II.1. Les prélèvements	43
II.2. Les analyses du lactosérum	43
II.2.1. Le dosage de l'acidité titrable	43
II.2.2. Le dosage du lactose	44
II.2.3. Détermination de la densité	46
II.3.Les analyses des échantillons du camembert.....	46
II.3.1. La prise de poids.....	46
II.3.2. Détermination de l'extrait sec total.....	46
II.3.3. Détermination du pH	47

II.3.4. Détermination de la matière grasse.....	48
II.3.5. Détermination du taux des protéines par formole titration.....	49
II .4. Les analyses bactériologiques du camembert.....	50
II.4.1.Préparation des dilutions.....	50
II.4.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.....	51
II.4.3. Les coliformes.....	51
II.4.4. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
II.4.5.Recherche des Salmonelles.....	52
II.4.6. Recherche de spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.....	54
II .5. Les analyses sensorielles.....	54

Partie III : Résultats et discussion

I. Les analyses de la matière première.....	55
I. 1. Les caractéristiques physico chimiques de la matière première (le lait cru).....	55
I.1.1. La matière grasse.....	55
I.1.2. La densité.....	56
I.1.3. L'acidité.....	56
I.1.4.Le taux de protéines.....	56
I.1.5. Le taux de lactose.....	57
I. 2. Les analyses bactériologiques du lait de vache.....	57
I.2 .1. Flore totale aérobie mésophile.....	57
I.2.2. Streptocoques fécaux.....	57
I.2.3. Coliformes fécaux.....	58
I.2.4. Staphylocoques aureus.....	58
I.2.5. Les Clostridium Sulfuto réducteurs à 46°C.....	58
I.2.6. La recherche des antibiotiques.....	58
II. La fabrication des échantillons de camembert avec l'ajout de la TG microbienne.....	59
II.1. Le temps de prise et de coagulation.....	59
II.2. Les analyses physico chimiques du lactosérum.....	61
II.2.1.Variation du pH.....	61
II.2.2. Le taux de la matière grasse.....	61
II.2.3. Le taux de la matière sèche.....	62
II.2.4.Le taux de protéines.....	62
II.2.5.Le taux de lactose.....	62
II .3. Les résultats des analyses du camembert.....	63

II.3.1. Effet de la transglutaminase microbienne sur le poids.....	63
II.3.2. Les analyses physico – chimiques du camembert.....	66
II.3.2.1.Variation du taux de la matière sèche totale.....	66
II.3.2.2.Variation du taux de la matière grasse.....	68
II.3.2.3.Variation du pH.....	70
II.3.2.4.Variation du taux de protéines.....	71
II.3.3.Les analyses microbiologiques du camembert.....	73
II.3.4. Les analyses sensorielles.....	74
Conclusion.....	76

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Le but de cette étude est de voir l'effet de l'enzyme microbienne PROBIND® CH 2.0 transglutaminase extraite de bactérie *Streptomyces mobaraensis* appelé anciennement *Streptovorticillium mobaraense* sur la qualité du camembert, cette enzyme est largement utilisée dans l'industrie alimentaire (les produits de charcuterie, produits de boulangerie, les produits à base de poisson et les produits laitiers), la TGM catalyse la réticulation des protéines dans les globuline de soya, les protéines de blé, les protéines des œufs, les protéines du lait cette réticulation est irréversible et offre aux protéines des propriétés telles que la thermo stabilité, la capacité de rétention d'eau, ce qui confère au produit alimentaire des propriétés rhéologiques et physicochimiques dues à cette réticulation.

Les essais réalisés dans ce sens ont décelés que l'addition de la TGM à raison de 0,15 g/l et 0,30g/l avant l'addition de la présure dans un lait cru pasteurisé contenant des ferments lactiques et CaCl₂ permet une coagulation rapide du lait, et influe d'une façon significative sur le taux de protéines et le taux d'extrait sec, ainsi que sur le rendement fromagère par rapport aux échantillons de camembert préparés sans addition de TGM, tandis que cet enzyme n'a aucun effet sur les variations du pH, mais une attention peut être attirée sur son effet indirect sur le taux de la MG qui peut être traduit par la formation du réseau protéique sous l'effet de la coagulation présure plus l'effet de la TGM qui emprisonne les molécules gras. Par sa capacité de réticuler les protéines qui leur procurent la propriété de rétention d'eau, la TGM diminue la synérèse des fromages étudiés.

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que la TGM n'a aucun effet sur la flore bactérienne qui pousse dans le camembert, cela est confirmé par la présence des germes totaux à 30°C, les coliformes totaux et les coliformes fécaux.

Une analyse du lactosérum issue des échantillons des laits traités par la TGM montre son effet sur les pertes, d'où on a déduit que la TG microbienne n'a aucun effet sur les pertes de lactose, MG, sel minéraux, mais son effet a été touché sur les pertes de protéines d'où on a remarqué que le taux de protéines de lactosérum perdu des échantillons traités par la TGM est moins que celui de l'échantillon témoin fabriqué sans la TGM.

Mots clés : La transglutaminase microbienne, camembert, lactosérum, coagulation, la qualité, protéines.

Abstract

The aim of this study is to see the effect of microbial enzyme PROBIND[®] CH 2.0 transglutaminase extracted from bacteria *Streptomyces mobaraensis* formerly called *Streptoverticillium mobaraense* in the camembert quality, this enzyme is widely used in the food industry (meat products, bakery products, fish products and dairy products), the MTG catalysis cross-linking of proteins in soybean globulins, wheat proteins, egg protein, milk proteins, that cross-linking is irreversible and provides protein of such as thermal stability properties, water holding capacity, which gives the food product rheological and physic chemical properties result of the cross-linking.

The tests which realized in this way have detected that the addition of the MTG at 0.15 g / l and 0.30 g / l before the addition of rennet to mature milk with lactic ferments and CaCl₂ provide a rapid coagulation of milk and affects in a significant manner on the protein levels and solids content levels, as well as on the cheese yield ,compared to Camembert sample prepared without added MTG, while this enzyme have no effect on the pH variation, but attention can attract on its indirect effect on the fat levels, which can be reflected by the formation of the protein network under the effect of the rennet coagulation more the effect of MTG which traps fatty molecules. By its ability to crosslink proteins that provide them the property of water holding, MTG decreases syneresis of studied cheeses.

The bacteriological analyzes results show that the MTG has no effect on the bacterial flora that grow in the camembert, it is confirmed by the presence of total germs at 30 ° C , total Coliforms and faecal Coliforms.

An analysis of the whey samples outcome from the treated milk by MTG shows its effect on the losses, where it was deduced that the microbial TG has no effect on the losses of lactose, fat, mineral salt; but its effect got hit on the protein loss, from where it was noted that the whey protein levels lost of the samples treated by the MTG is fewer than the control sample manufactured without MTG.

Keywords: microbial transglutaminase, camembert, whey, coagulation, quality, proteins.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير الإنزيم الميكروبي PROBIND® CH 2.0 *Streptovercillium mobaraense* المستخلصة من بكتيريا *Streptomyces mobaraensis* المسماة سابقا *Streptovercillium mobaraense* على جودة الكمبير، ويستخدم هذا الإنزيم على نطاق واسع في الصناعات الغذائية (المنتجات اللحمية ، منتجات المخابز، منتجات الأسماك ومنتجات الألبان)، تقوم الترנסغلوتاميناز الميكروبي بتحفيز ربط بروتينات في جلوبيولين الصويا ، بروتينات القمح ، بروتينات البيض و كذا بروتينات الحليب ، يعتبر هذا التشابك غير قابل للإرجاع، ويوفر خصائص للبروتينات مثل : الاستقرار الحراري، والقدرة على الاحتفاظ بالماء، مما يمنح للمنتجات الغذائية خصائص ريولوجية و فيزيائيوكيميائية ناتجة عن هذا التشابك.

وقد كشفت التجارب التي أجريت في هذا المجال أن إضافة الترנסغلوتاميناز الميكروبي بنسبة 0.15 غرام /لتر و 0.30 غرام / لتر قبل إضافة المنفحة إلى حليب ناضج يحتوي على البكتريا اللبنية المخمرة و كلوريد الكالسيوم CaCl₂ ، يؤدي إلى سرعة تخثر الحليب ، ويؤثر تأثيرا ملحوظا على نسبة البروتينات و المادة الجافة، فضلا عن عائدات الجبن مقارنة مع عينة جبن الكمبير المعدة دون إضافة الترנסغلوتاميناز الميكروبي ، في حين أن هذا الإنزيم لا يملك أي تأثير على تغير درجة pH، ولكن يمكن ملاحظة تأثير هذا الإنزيم بصفة غير مباشرة على نسبة المادة الدسمة للجبن و التي يكمن تفسيرها في تشكل شبكة البروتين تحت تأثير المنفحة المخثرة للحليب و كذا تأثير إنزيم الترנסغلوتاميناز الميكروبي التي تؤدي إلى حبس جزيئات الدهون بفضل قدرتها على تشبيك البروتينات التي تمنحها خاصية الاحتفاظ بالماء ، تقوم الترנסغلوتاميناز الميكروبي بالتقليل عملية التساحب في الأجبان موضوع الدراسة.

هذا و قد أظهرت نتائج التحاليل البكتريولوجية أن الترנסغلوتاميناز الميكروبي لا تملك أي تأثير على البكتيريا المتواجدة في جبن الكمبير، ويتأكد ذلك من خلال تواجد الجراثيم الهوائية عند 30 درجة مئوية ، و كذا البكتيريا القولونية والقولونيات البرازية.

كما كشف تحليل عينات مصل اللبن لحليب معالج بإنزيم الترנסغلوتاميناز الميكروبي عدم تأثير هذا الأخير على الخسائر ، و بهذا يمكننا إستنتاج أن هذا الإنزيم ليس له أي تأثير على فقدان اللاكتوز، المواد الدسمة، الأملاح المعدنية، ولكن يمكننا أن نلمس تأثيره على فقدان البروتينات، حيث تبين أن مستويات بروتينات مصل اللبن المفقودة لعينات تمت معالجتها بإنزيم الترנסغلوتاميناز الميكروبي أقل من تلك المنتجة بدون إضافة الترנסغلوتاميناز الميكروبي.

مفاتيح الكلمات: الترנסغلوتاميناز الميكروبي ، كامبير، مصل اللبن ، تخثر ، الجودة ، بروتينات .

Liste des Tableaux

Tableau 01. La production mondiale du fromage selon FAO (1994)	P3
Tableau 02 . Caractéristiques physico-chimiques de la caséine de vache	P5
Tableau 03. Rôle des ferments lactiques	P10
Tableau 04. Les différentes températures de chauffage des fromages à pâtes pressée	P17
Tableau 05 . Classification des différents types de fromage en fonction du type de pâte	P21
Tableau 06. Résultats des analyses physico-chimiques du lait cru	P55
Tableau 07. Résultats des analyses bactériologiques du lait cru	P57
Tableau 08. Résultats du temps de prise et de coagulation des cinq échantillons	P60
Tableau 09. Résultats des analyses physico-chimiques du lactosérum	P61
Tableau 10. Résultats des variations du poids de l'échantillon $C_{TM} +P$	P63
Tableau11. Résultats des variations du poids de l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$	P63
Tableau 12. Résultats des variation du poids de l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$	P64

Tableau13. Résultats des variation du poids de l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ **P64**

Tableau 14. Résultats des variations du poids de l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ **P64**

Tableau15. Résultats des variations du taux de la matière sèche totale en (%) **P66**

Tableau 16. Résultats des variations du taux de la matière grasse en (gr/l) **P68**

Tableau17. Résultats des variations du pH **P70**

Tableau 18. Résultats des variations du taux de protéines en (%). **P71**

Tableau19. Résultats des analyses microbiologiques des échantillons du camembert **P73**

Tableau 20. Résumé des résultats d'analyses sensorielles du camembert traités par l'enzyme transglutaminase microbienne **P75**

Liste des figures

Figure 01. Modèle de micelle avec chevelu superficiel	P6
Figure 02 . Phase de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau	P7
Figure 03. La salle de maturation du lait (la section fromagerie de la laiterie Sidi saada)	P13
Figure 04. La prise du lait (la section fromagerie de la laiterie Sidi saada)	P14
Figure 05 : Le durcissement du caillé de lait (la section fromagerie de la laiterie Sidi saada)	P14
Figure 06. Brassage d'un caillé du camembert (la section fromagerie de la laiterie Sidi saada)	P16
Figure 07. Schéma de la fabrication industrielle du camembert	P22
Figure 08. Une vue tridimensionnelle de la transglutaminase	P 25
Figure 09 . Les réaction catalysées par la transglutaminase	P26
Figure 10 . Les applications possibles de la transglutaminase microbienne	P29
Figure11. L'enzyme microbienne lyophilisé PROBIND [®] CH 2.0transglutaminase	P32
Figure 12. Le Lactostar FUNK GERBER	P33
Figure13. Le teste de Beta Star Combo pour la recherche des antibiotiques dans le lait cru	P40

Figure 14. Schéma de processus de fabrication des échantillons du camembert	P41
Figure 15. Les essais de lait additionné de TGM et la présure	P42
Figure 16 . Les échantillons de camembert après salage	P42
Figure 17. Les échantillons de camembert dans les hâloirs pour affinage	P42
Figure 18. Les échantillons de camembert conditionnés dans le séchoir	P42
Figure 19 : Un acidimètre	P44
Figure 20. Filtration de la liqueur surnageant sur un entonnoir filtrant en verre fritté N°4	P45
Figure 21. Une étuve et un dessiccateur contenant des échantillons pour la détermination de l'extrait sec	P47
Figure 22. Préparation de la prise d'essai dans un butyromètre pour la détermination de la matière grasse	P48
Figure 23 . Centrifugeuse GERBER pour la détermination de la matière grasse	P49
Figure 24 . Dispositif du dosage des protéines dans le camembert	P50
Figure25. Lampe pour lecture de colonies type FUNKE GERBER	P51
Figure 26. Résultat du test Beta Star Combo dans le lait cru (résultat négatif)	P59
Figure27. La lecture de la matière grasse du camembert sur le butyromètre	P69

Liste des abréviations

A

AFNOR : Association Française de Normalisation

Apr-J.C :Après Jésus – Christ

Arg :Arginine

Asn : Asparagine

Asp : Aspartic acid

Av-J.C : avant Jésus-Christ

B

Ba²⁺ : Ion Barium

C

C° :Degré Celsius

Caséine β : caséine béta

Caséine α :caséine alpha

Caséine κ : caséine kappa

Co²⁺ : Ion Cobalt

Cu²⁺ : Ion cuivre

D

°D : degré Dornic

Da : Dalton

E

EC : Enzyme commission numbers

F

F.A.O :**F**ood and **A**griculture **O**rganisation of the united nations

FTAM : Flore totale aérobie mésophile

G

g/l : gramme /litre

GATT : **G**eneral **A**greement on **T**ariffs and **T**rade

Glu :acide glutamique

GRAS : **G**enerally **r**egarded **a**s **s**afe

H

Hg²⁺ :Ion Mercure

His :Histidin

J

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

K

K⁺ : Ion Potassium

Kj : Kilo joule

L

Lys :Lysine

M

Met : Méthionine.

MG : Matière Grasse

MTG :Microbial transglutaminase

N

NaNO₃ :Nitrate de Sodium

NH₄Cl : Chlorure d'ammonium

NH₄NO₃:Nitrate d'ammonium

(NH₄)₂SO₄ : sulfate d'ammonium

nm : Nanomètre

Norme codex stan : Norme codex alimentarius standars

O

O.M.S :Organisation Mondiale de la Santé

P

Pb²⁺ : Ion Plomb

pH : potentiel hydrogène

Phe : Phenylalanine.

S

Sp: Espèce non précisée

T

TG : Transglutaminase

TGM: transglutaminase microbienne

Thr : Threonine

Z

Zn²⁺ : Ion Zinc

Introduction

Introduction :

Le fromage est un aliment très apprécié dans la plupart des cultures humaines, et a en conséquence été présent tout au long de l'âge de l'humanité et la vie quotidienne, à l'origine, l'intérêt majeur de la transformation du lait en fromage était de conserver les principaux constituants du lait, de nos jours, il s'agit plutôt d'un aliment possédant des qualités nutritionnelles indéniables. La variété des fromages actuellement disponible est grande, en raison d'une myriade de progrès actuelles englobant la fabrication et la maturation, en plus de l'aspect un peu intrinsèque et l'imprévisible variabilité au sein de chaque type de fromage .

Plusieurs matrices de fromage ont été proposées sur la base spécifique microstructures qui ont émergé côte à côte avec l'introduction de méthodes alternatives (ou améliorées) dans les fromages, la microstructure évolue le long de la chaîne de transformation des aliments, et conduit finalement à des transformations par rapport à la microstructure originale de la matière première du lait lui-même. D'autre part, il convient de souligner que les protéines, la matière grasse et les micro-organismes font également partie intégrante du fromage.

L'acceptation des consommateurs d'un produit de fromage dépend directement sur son aspect, la saveur et la texture qui sont à leur tour l'origine par une combinaison complète des paramètres microbiologiques, biochimiques et technologiques, qui affectent directement ou indirectement la microstructure. A noter que le succès final de tout produit alimentaire repose sur les consommateurs (Adhikari et al., 2003) .

Un grand nombre d'enzyme protéolytiques d'origine animale , végétale ou microbienne possèdent la propriété de coaguler le lait, la présure d'origine animale est le coagulant le plus utilisé elle a la propriété d'hydrolyser la caséine pendant la fabrication fromagères .Actuellement l'industrie agroalimentaire s'est orienté vers l'utilisation des enzymes d'origine microbien pour améliorer les qualités organoleptiques et rhéologiques des produits alimentaires , parmi ses enzymes la transglutaminase appelé auparavant « la colle de viande » qui a comme action de relier les acides aminés lysine et glutamine. Les protéines du lait, en particulier la caséine, ont le potentiel d'être de bons substrats pour la réticulation par la transglutaminase. La réticulation de protéines conduit à la formation de dimères, trimères et plus grande protéine polymères.

Cet axe nous a semblé intéressant à étudier, afin d'évaluer l'effet de la transglutaminase sur la qualité du fromage à pâte molle type camembert fabriqué à base de lait cru au sein de la fromagerie Sidi-saada- yellel-Relizane.

Partie I
ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Le fromage

I. Généralités sur les fromages :

I.1. Historique :

Les ethnologues tiennent la preuve que l'homme connaît depuis longtemps le phénomène de coagulation du lait depuis la découverte, sur les rives du lac Neuchâtel, de moule à cailler datant de 5000 ans av. J-C .Cependant, l'origine exacte de la transformation du lait en fromage est incertaine. On s'entend pour dire que le fromage serait originaire du Sud-ouest asiatique et daterait d'environ 8000 ans av. J-C .Les Romains auraient stimulé le développement de nouvelles variétés durant leur invasion de l'Europe entre 60 av. J-C. et 300 apr. J-C. Leur influence s'est reflétée dans l'étymologie : en effet, le mot latin caseus signifiant fromage, est la racine qui donnera le mot caséine en français, nom qui désigne les protéines coagulable du lait ([Vignola et al., 2002](#)).

I.2. Définition du fromage :

Dans l'étymologie le fromage provient de l'ancien français « fromage » du latin formaticus, qui signifie : fait dans une forme ([Vignola et al., 2002](#)).

Le fromage selon la norme codex stan A-6-1978, Réviser .1-1999, Amendé en 2006 est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans le quel le rapport protéines de lactosérum /caséine ne dépasse pas celui du lait , et qui est obtenu :

a - coagulation complète ou partielle des protéines du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation.

b - par l'emploi de technique de fabrication entraînant la coagulation des protéines du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques similaires à celles de la définition précédente ([Codex alimentarius ,2007](#)) .

I.3. Equivalence en protides :

Le fromage est un aliment protidique par excellence, la teneur en protides varie de 10 à 30%. Le coefficient d'utilisation digestive est supérieure à celui du lait, car les protéines sont prédigérées par une protéolyse bactérienne ([Luquet et Bonjeau- Linczowski, 1986](#)).

I.4. La production international du fromage :

La production mondiale de fromage de toutes variétés confondues a progressé de 1,5 % en 1993 pour s'établir de 14,6 millions de tonnes. La production continue d'augmenter dans la communauté européenne, en Australie et en Nouvelle Zélande sous l'effet de l'accroissement de la

demande, la consommation mondiale de fromages augmente d'environ 2% par an depuis les années 80. Les exportations mondiales de fromages ont progressé de 8% en 1993 pour atteindre 980 000 tonnes. L'accroissement de la demande de la consommation de fromages a encouragé la mise au point et la production de produits d'imitation qui détiennent une partie du marché mondiale (Gatt, 1994).

Tableau N°01 : La production du fromage au niveau international selon la FAO, 1994 (Fox et McSweeney,1998)

Le pays	La production de fromage (tonnes)	Le pays	La production de fromage (tonnes)	Le pays	La production de fromage (tonnes)
Le monde	14 880 089	Sweden	138 854	Tajikistan	16000
L'Afrique	495 298	Switzerland	134 640	Turkey	139 177
Algeria	1045	United Kingdom	362 000	Turkmenistan	7000
Angola	1007	Ukraine	308 770	Uzbekistan	46 000
Botswana	1498	Yugoslavia. FR	60 000	Yemen	9155
Egypt	333 950			L'europe	7075 705
Eritrea	216	Amérique du sud	613 158	Albania	15 400
Ethiopia	4600	Argentina	330000	Austria	109 600
Kenya	210	B o I i v i a	6738	Belarus	109 000
Mauritania	1664	Brasil	60 150	Belgium-Luxembourg	68 000
Morocco	6947	Chile	44 599	Bosnia-Hercegovina	13 500
Namibia	70	Colombia	51 000	Bulgaria	66 000
Niger	12064	Ecuador	6288	Croatia	16701
Nigeria	7022	Peru	19983	Czech Republic	117449
South Africa	38 000	Uruguay	20 400	Denmark	288 100
Sudan	72 479	Venezuela	74 000	Estonia	23 000
Tanzania	1200	Asia	873 151	Finland	92 193
Tunisia	7060	Afghanistan	15600	France	1 562 496
Zambia	1069	Armenia	14750	Germany	1371 174
Zimbabwe	5197	Azerbaijan	43 000	Greece	210300
Nord et centre d'Amérique	3861 921	Bangladesh	1 000	Hungary	77 496
		Bhutan	202 1	Iceland	2050
Canada	305 100	China	164 646	Ireland	91 250
Costa Rica	5960	Cyprus	5600	Italy	919373
Cuba	14 600	Georgia	54 600	Latvia	18000
République dominicain	2500	Iran	200089	Lithuania	4000
El Salvador	2580	Iraq	24733	Macedonia, FYR of	8100

II. Mécanisme de transformation du lait en fromage :

La fabrication fromagère peut être considéré comme un phénomène d'agglomération, correspondant à une synérèse , associé à un phénomène d'écoulement . Il s'agit de l'agglomération

des éléments protéiques du lait , de la caséine principalement qui emprisonnent les autres constituants et , ensuite de l'agglomération de morceaux de caillé moulés .Ce phénomène d'agglomération est associé à celui d'un écoulement de la phase liquide ,composée de l'eau du lait et des éléments solubles, emprisonnée dans des pores ,puis libérée (Luquet ,1990).

La transformation du lait en fromage comporte en général trois étapes :

a. La coagulation :

Elle correspond à une déstabilisation des micelles de caséines et une modification physicochimiques sous l'action d'enzymes protéolytiques et/ou d'acide lactique qui flocculent puis se soudent pour former d'un réseau tridimensionnel emprisonnant des éléments solubles du lait appelé coagulum ou gel (Vignola et al., 2002 ; Eck et Gillis, 2009).

b. L'égouttage :

Il correspond à une séparation d'une partie du lactosérum, après rupture mécanique du coagulum, par moulage ou par pression. Puisque le coagulum est instable, il se transforme rapidement à la suite de la contraction des micelles, ce qui provoque l'expulsion, de la phase liquide dans le caillé, ce phénomène est appelé synérèse (Vignola et al., 2002; Eck et Gillis, 2009).

c. L'affinage :

Il correspond à une transformation biochimique des constituants du caillé sous l'action d'enzymes, pour la plupart d'origine microbienne. Ce qui confère au fromage sa texture et sa saveur caractéristique au terme de l'affinage (Vignola et al., 2002; Eck et Gillis, 2009).

II.1. La micelle de caséine et la coagulation du lait :

II.1.1. Le système protéique du lait :

Le lait de vache contient 3,5% de protéines, Les propriétés de nombreux produits laitiers, dépendent des propriétés des protéines du lait, bien que les matières grasses, le lactose et en particulier les sels, exercent des influences modificatrices très importantes. la production de la plupart des variétés de fromage est initié par la modification spécifique des protéines par enzymes protéolytiques ou précipitation isoélectrique (Fox et McSweeney ,1998). Les caséines représentent 80% des protéines du lait de vache ; le reste est constitué de β -lactoglobuline environ 10%, α -lactalbumine environ 2%, et de petites quantités d'un grand nombre de protéines diverses (enzymes, immunoglobulines, etc,.....).

Lorsque les caséines sont coagulées, les autres protéines restent en solution en même temps que le lactose et les sels minéraux, constituant ce que l'on appelle le lactosérum (Cheftel, 1978).

La fraction caséinique dont le pH isoélectrique globale est proche de 4,7. Comprend les quatre principales caséines qui existent naturellement dans le lait sont les caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ . Les caséines γ sont, pour leur part, des fragments peptidiques issus de la dégradation de la β -caséine par la plasmine (Eck et Gillis, 2009). dont environ 50% d' α_s -caséine qui est composé de α_{s1} et α_{s2} caséine, 30% de β -caséine, 15% de κ -caséine et 5% de γ -caséine (Cheftel, 1978).

Les caséines se distinguent par leur faible solubilité à pH 4,6 et elles sont différenciées sur la base de la distribution des charges et de la sensibilité à la précipitation par le calcium. Elles partagent un facteur de composition commun puisque ce sont des protéines conjuguées, la plupart avec des groupements phosphate estérifiés à des résidus sérine. Les sites phosphoséryls sont souvent regroupés, créant des zones hydrophiles dans leur chaîne (Eck et Gillis, 2009).

A pH 7, et séparément, l' α_s -caséine est sous la forme de petits polymères, la β -caséine à l'état de monomère, et la κ -caséine à l'état de polymères plus gros. Si à pH 7 et à 37 °C (Tableau n° 02), on ajoute des ions Ca^{2+} à chacune de ces fractions caséiniques prise séparément, l' α_s -caséine coagule, la β -caséine précipite, et la κ -caséine n'est pas affectée (Cheftel, 1978).

Tableau n°02: Caractéristiques physico-chimiques de la caséine de vache (Alais et al.,1997).

	caséine α_{s1}	caséine α_{s2}	caséine β	caséine κ
Proportion moyenne(en%)	36	10	34	13
Masse moléculaire (Da)*	23 600	25 250	24 000	19 000 (aglycoprotéine)
Nombre de résidus d'acides aminés	199	207	209	169
Phosphore en % (atomes/mole)	8	10 – 13	5	1
Glucides(en %)	0	0	0	5
Cystéine (résidus/mole)	0	2	0	2
Proline (résidus/mole)	17	10	35	20
Sensibilité au calcium	++	+++	+	0
Sensibilité à la chymosine	+	-	+	+++
Hydrophobicité (en Kj)	4,89	4,64	5,66	5,3
Groupes acides (Asp+Glu+PO ₄ 2)	48	49 – 55	31	18
Groupes basiques(Lys+Arg+His)	25	33	20	17

II.1.2. La micelle de caséine bovine :

Environ 95% de la caséine existe dans le lait sous forme de grosses particules colloïdales, appelées micelles. La base de matière sèche de la caséine des micelles contiennent 94% de protéines et de 6% d'espèces à faible masse moléculaire dénommé phosphate de calcium sous forme colloïdale, consistant le calcium, le magnésium, le phosphate et le citrate (Fox et McSweeney, 1998).

La taille de la micelles est variable, de forme sphérique avec un diamètre de 150 nm, sa voluminosité est de 4,4 ml/g, constituée de submicelles de 8 à 20 nm, formée par l'association des caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ de quelque fragment de caséine γ (Eck et Gillis, 2009 ; Debry, 2001).

Elles sont fortement hydratées et minéralisées (2 à 4 g d'eau /g de protéine), l'assemblage et la cohésion de cette structure micellaire sont assurés par des liens phosphocalciques (Schmidt, 1982). Elle est composée de sels (phosphate, calcium, magnésium, citrate dans l'espace intersubmicellaire). Les submicelles les plus riches en caséine κ sont situées en surface de la micelle, ce qui la stabilise. Les portions C-terminale de la caséine κ hérissent la micelle et l'enveloppent d'une chevelure périphérique particulièrement hydrophile (Debry, 2001).

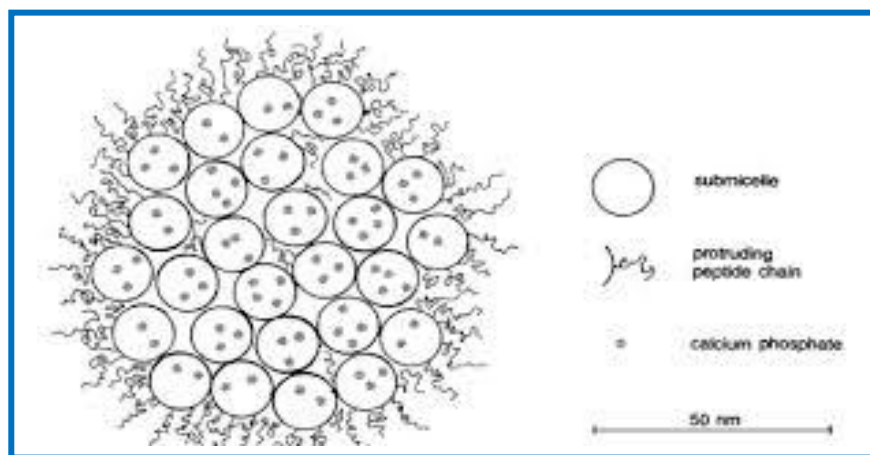


Figure n°1: modèle de micelle avec chevelu superficiel (Walstra et Jenness, 1984).

II.2. Le mécanisme de coagulation du lait :

La coagulation du lait par voie acide ou par voie enzymatique est étroitement liée à l'organisation de la micelle de caséines, cette dernière est formée de sous-micelles, lesquelles sont formées des caséines α et γ , les sous micelles sont liées entre elles par le phosphate de calcium (Vignola et al., 2002).

La coagulation du lait se traduit par la formation d'un gel, les mécanismes impliqués dans la formation du coagulum sont différentes on distingue trois types de coagulation :

III. 2 .1. La coagulation par acidification :

La coagulation par voie acide est provoquée par le ferment lactique qui transforme le lactose en acide lactique ce qui conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait (Vignola et al., 2002 ; Eck et Gillis, 2009). L' acidification rapide provoque la

floculation des caséines sous la forme d'un précipité plus ou moins granuleux dispersé dans le lactosérum (Eck et Gillis, 2009).

S'il n'y a aucune agitation les sous micelles s'associent par liaisons électrostatiques et hydrophobes pour former un gel lactique qui emprisonne toute l'eau à un pH 4,6 le gel se fragilise, si on agite le lait pendant l'acidification, il y'a floculation des micelles de caséines, ce qui provoque une synérèse, l'eau n'est plus retenu dans le gel (Vignola et al., 2002). Dans la fabrication fromagère l'acidification est utile car elle favorise l'action de la présure (Corcy et Lepage, 1991).

II.2.2. La coagulation par voie enzymatique :

Il existe un grand nombre d'enzyme protéolytique d'origine animale, végétale ou microorganisme, qui possèdent la propriété de coaguler le complexe caséinique du lait (Eck et Gillis, 2009).

Les caséines forment alors le coagulum (lait caillé), retenant les lipides mais expulsant l'eau et les protéines soluble qui vont composer le lactosérum (petit lait), la coagulation constitue l'étape principale de la fabrication d'un fromage (Sine, 2010).

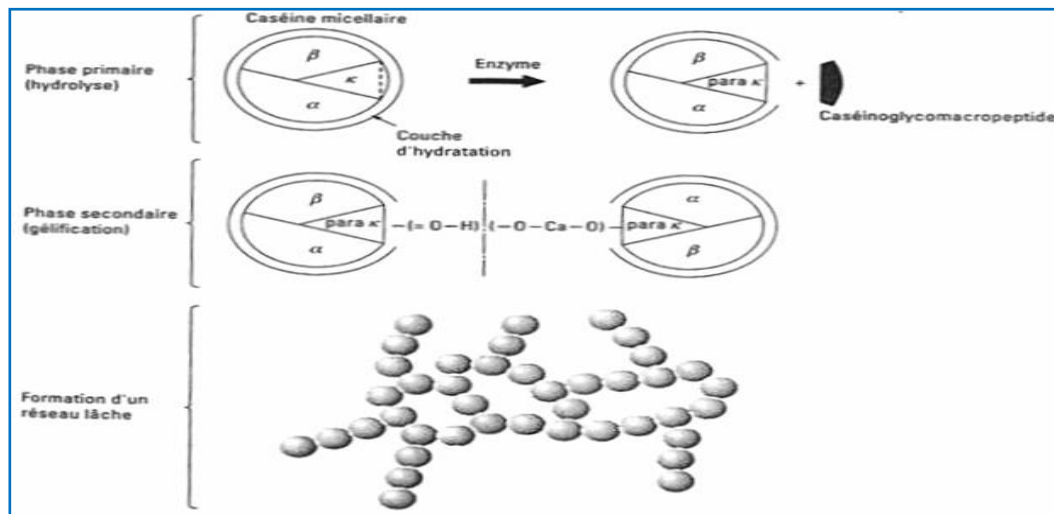


Figure n° 02 : Phase de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau (Vignola et al., 2002).

II.2.3. La coagulation mixte :

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification, la multitude de combinaison conduisant à différents états d'équilibre spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte molle à pâte pressée non cuite (Romain et al., 2008). L'emprésurage d'un lait acide déclenche un durcissement très long du gel obtenu par l'action de la présure, pouvant aller jusqu'à 9 fois le temps de prise ex : fabrication du camembert (Corcy et Lepage, 1991).

II.3. Les agents de transformation du lait :

II.3.1. La présure :

La présure de veau est la préparation coagulante traditionnelle la plus utilisée pour la coagulation du lait. De moindres quantités sont obtenues à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau (Eck et Gillis, 2009).

Les enzymes protéolytiques de la caillette des jeunes ruminants nourris au lait ont la propriété de coaguler le lait, la présure de veau contient majoritairement deux protéases à acide aspartique : la chymosine (EC 3.4.23.4) et la pepsine (EC 3.4.23.1) ces deux enzymes clivent spécifiquement à 80 - 85% les chaînes externes de la κ caséine entre les résidus Phe₁₀₅ et Met₁₀₆, provoquant ainsi la déstabilisation des micelles en réduisant les forces de répulsion électrostatique (Sine, 2010), à pH 6,6 cette phase commence lorsque 80 à 90% de caséine κ est hydrolysée (Romain et al., 2008).

L'action de la présure dépend de plusieurs facteurs :

- la température : La présure agit sur la caséine Kappa à basse température très lentement, mais sans formation de caillé, dès 45°C la présure est en partie détruite et son activité alors diminue ; vers 55°C elle est pratiquement dénaturée et son action de protéolyse devient inexistante (Corcy et Lepage, 1991).
- Le P^H : L'activité la plus élevée se situe à pH 5,5 (Eck et Gillis, 2009).
- La grosseur des micelles de caséine : plus les micelles sont grosses, plus le temps de coagulation est court.
- La richesse du lait en protéines
- La dose de la présure : l'augmentation de la dose de présure accélère la coagulation.
- Le calcium utilisable : l'ajout du chlorure de calcium et une légère acidification renforce la coagulation présure (Corcy et Lepage, 1991).

II.3.2. Autres enzymes coagulantes :

Des préparations enzymatiques coagulant le lait dans lesquelles la chymosine est remplacée plus ou moins totalement par d'autres enzymes à mode d'action analogue. Dans cette optique, un certain nombre d'enzymes ont été caractérisées. Il s'agit toujours de protéases susceptibles d'attaquer les caséines du lait et plus particulièrement la caséine κ (Swaisgood, 1982).

II.3.2.1. Les enzymes d'origine animale :

Différentes protéases digestives autres que celles contenues dans la présure ont fait l'objet d'expérimentations :

- La trypsine et la chymotrypsine extraites de pancréas , présentent une activité protéolytique élevée mais trop peu spécifique pour coaguler le lait ;ces enzymes ne sont pas employées pour la fabrication de fromage .
- La pepsine bovine et la pepsine porcine provenant de l'estomac d'animaux adultes, ont fait l'objet de nombreux essais qui ont débouché sur une utilisation industrielle (Eck et Gillis, 2009).

II.3.2.2. Les enzymes d'origine végétale :

De très nombreuses préparations coagulantes sont issues du règne végétal et sont extraites par macération des différentes parties de plantes supérieures. Parmi les espèces on trouve les feuilles et tiges du gaillet, les fleurs du charbon et de l'artichaut, elles ont servi à la fabrication de fromages fermiers mais ne donne pas des résultats satisfaisantes à l'échelle industrielle, en raison que ces préparations renferment souvent un mélange de plusieurs enzymes non spécifique au caséine κ (Eck et Gillis, 2009).

II.3.2.3. Les enzymes d'origine microbienne :

Un groupe de protéases susceptibles de coaguler le lait est fourni par les microorganismes. Actuellement, trois préparations coagulantes ayant donné des résultats satisfaisants sur le plan organoleptique sont commercialisées sur le marché international et utilisées à plus ou moins grande échelle selon les pays. Il s'agit de *Mucor miehei*, de *Mucor pusillus* et d'*Endothia parasitica*. Leur dénomination doit être « enzyme coagulante d'origine microbienne pour fromagerie » (Luquet ,1990).

II.3.3. Les ferments lactiques :

Les bactéries lactiques sont les bactéries les plus importantes puisqu'elles constituent la flore acidifiante du lait .Leur rôle essentiel est de transformer le lactose du lait en acide lactique afin d'assurer l'acidification du lait indispensable à la formation du caillé et donc au fromage .

Les bactéries lactiques ne sont actives qu'à partir de 8 à 10 C° et sont détruites par pasteurisation . les bactéries homofermentaires représentent 90 à 95% des bactéries lactiques , elles transforment le lactose en acide lactique . Ce sont les streptocoques, les entérocoques, les lactocoques, certains lactobacilles et les pédiocoques (Pradal, 2012).

Tableau n°03: Rôle des ferments lactiques (Branger et al.,2007)

Propriétés des ferments lactiques	Effets sur les produits
Transformer les sucres en acide lactique	<p>Abaissement du pH</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conservation des produits • Limitation du développement de bactéries nuisibles • Modification de la micelle de caséine <ul style="list-style-type: none"> ➤ Modification de la structure du caillé ➤ Classification des fromages suivant le niveau de déminéralisation (caillé présure, mixte, lactique) <p>Solubilisation des minéraux liés à la caséine</p> <ul style="list-style-type: none"> • Action sur l'égouttage des caillés (teneur en eau) • Action sur la texture des fromages <ul style="list-style-type: none"> Si la pâte minéralisée : texture souple homogène Si la pâte déminéralisée : texture cassante, friable <p>Diminution de la concentration en lactose</p> <ul style="list-style-type: none"> • Production de lactate <ul style="list-style-type: none"> ➤ Action sur la flaveur des fromages ➤ Orientation des fermentations futures (lactates et fermentations propioniques et butyriques)
Transformer les sucres en CO ₂	<p>Libération du CO₂</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ouverture utile en pâtes molles et pâtes persillées • Ouverture nuisible en pâtes pressées
Transformer les citrates	<p>Formation de diacétyle (arôme)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Recherche en produits frais (yaourts, beurre, pâtes fraîches , pâtes molles)
Transformer la caséine	<p>Protéolyse pendant la maturation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Activation de la croissance (peptide , acides aminés) <p>Protéolyse pendant l'affinage</p> <ul style="list-style-type: none"> • Modification de la texture (peptisation) , couleur , flaveur
Produire des polysaccharides	<p>Epaississement du milieu : Yaourts,Pâtes fraîches</p> <ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de la viscosité par libération de polysaccharide pendant la fermentation lactique.

II.3.4. Les bactériophages :

L'acidification du lait, et le bon développement des levains lactiques est une étape primordiale à la fabrication du fromages, les bactériophages constituent l'une des principales causes de perturbation de cette acidification .les phages ont la faculté de cohabiter avec leur bactérie hôte, après pénétration dans une bactérie , cette dernière est dite lysogène (Eck et Gillis, 2006).

III. Procédé de fabrication du fromage :

Le fromage est le produit de trois étapes de fabrication :

- La coagulation de la caséine qui conduit à la formation du caillé.
- L'égouttage qui sert à séparer une partie plus ou moins importante de sérum pour obtenir une caillebotte .

- L'affinage de cette caillebotte qui développe des saveurs et des textures originales.

(Corcy et Lepage,1991).

L'ensemble des méthodes utilisées permet de définir des classes associées aux trois étapes de la fabrication. On distingue :

- Deux types de coagulation
- Trois types d'égouttage
- Quatre types d'affinage

La combinaison de ces trois étapes permet de donner une description du fromage basée sur sa méthode de fabrication (Vignola et al.,2002).

III.1. La correction du lait :

Les ateliers de préparation du lait vont donc effectuer toute une série d'opération et de corrections concernant la composition du lait et ses aptitudes technologiques.

III.1.1.Réglage de la matière grasse du lait :

La matière grasse du fromage représente de 0 à 75 % de la matière sèche du produit. Donc en fonction de sa composition et de sa technologie, il faut déterminer une quantité de graisse à laisser dans le lait au moment de l'emprésurage.

Il y'a soit :

- Retrait de la matière grasse du lait.
- Apport de matière grasse du lait (Romain et al.,2008).

III.1.2. Standardisation du lait de fromagerie en matière protéiques :

Les matières protéiques du lait peuvent être insuffisante dans la matière première et, de ce fait, gêner le déroulement des opérations de fabrication, il peut être nécessaire d'en améliorer le taux. L'apport protéine laitières est sous forme de :

- Poudre de lait écrémé.
- Caséines ou caséinates alimentaires de calcium ou de sodium
- Protéines de lait et protéines de sérum préparées pour être retenues dans le fromage (Luquet, 1990).

III.1.3. Apport de colorant :

Pour pallier aux insuffisances de pigments caroténoïdes dans le lait pendant la période d'hiver, pour satisfaire à certaines habitudes de présentation de la pâte des fromage, le rocou et les caroténoïdes naturels (E160) peuvent être ajoutés au lait, destinés à la fabrication des fromages (pâtes molles, pâtes pressées) (Sine, 2010).

III.1.4.Le traitement thermique du lait :

Le traitement thermique du lait de fromagerie s'impose pour des raisons hygiéniques et technologiques. Cette action vise à détruire la flore pathogène ainsi que les bactéries pouvant perturber le déroulement de la fabrication et la conservation du fromage, tout en respectant les composants du lait et sans altérer profondément les aptitudes technologiques exigées pour la fabrication des fromages Le traitement thermique est relativement limité (H.T.S.T) (Luquet , 1990).

III.2. La maturation du lait et correction apportées avant coagulation :

L'intensité et la place de ce phénomène joue un rôle sur la nature et l'évolution du coagulum. L'état de minéralisation final du caillé est fonction de l'évolution de l'acidification depuis la maturation jusqu'à la fin de l'égouttage (Luquet , 1990).

- **Principe :**

Par l'action des ferments lactiques, la maturation entraîne un démarrage de l'acidification, développant la multiplication des micro-organismes.

Ces derniers grâce à la protection lactique, empêcheront le développement de germes indésirables.la maturation est réalisé par l'apport des propes ferments du lait en utilisant les ferments lactiques du commerce (Corcey et Lepage,1991).

La maturation du lait fait intervenir plusieurs éléments :

- Le lait : sa richesse en matières azotées, son histoire thermique et sa qualité bactériologique.
- Les levains : population et nature des germes vitesse de développement, vitesse d'acidification, activité protéolytique, possibilité de développement de bactériophage.
- Les facteurs industriels : durée de l'opération et organisation du travail, maîtrise de températures, maîtrise de la sinisation des surfaces en contact avec le lait pendant la maturation et les transferts (Luquet,1990).



Figure n°03 : La salle de maturation (la section fromagerie laiterie Sidi Saada)

III.3. La coagulation du lait :

La coagulation du lait , qu'elle soit acide , mixte ou obtenue par l'action de la présure , se traduit par la formation d'un gel consécutif à une modification physico-chimique de la micelle de caséine ([Corcey et Lepage,1991](#)).

La présure est toujours ajoutée à des faible dose de 15 à 25 ml pour 100 kg dans les fabrications de type présure, de 1à 5 ml /100 kg dans les fabrications de type lactique ([Vignola et al.,2002](#)).

La coagulation varie suivant le type de fromage , le temps de fabrication et la fermeté du caillé dépendent également de plusieurs facteurs :

- La composition du lait à l'emprésurage.
- Le maintien de la température pendant la coagulation.

Elle se décompose en deux temps distincts :

- Le temps de prise : le temps pendant lequel il y a formation du gel et passage de l'état liquide à l'état solide .
- Le temps de durcissement : temps compris entre la fin du temps de prise et le début du travail du caillé ([Corcey et Lepage,1991](#)).

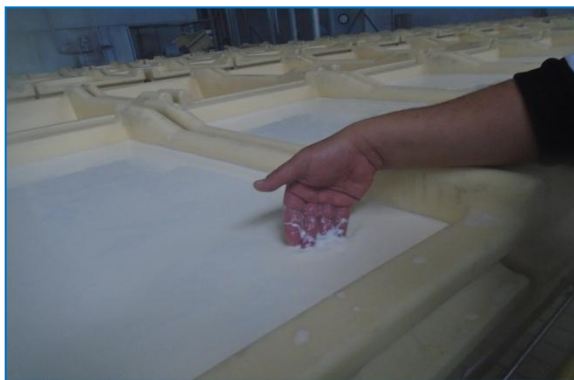


Figure n° 04: Le prise du lait
(La section fromagerie laiterie Sidi Saada)

Figure n° 5: Le durcissement du caillé de lait
(La section fromagerie Sidi Saada).



III.4. L'égouttage :

Cette phase consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement corrélatif du gel. Elle commence dans les cuves de coagulation, puis se poursuit dans les moules et enfin en hâloirs (Romain et al., 2008 ; Eck et Gillis, 2009).

L'égouttage conduit à l'obtention d'une masse de caillé dont l'extrait sec est plus ou moins concentré et qui correspond au fromage formé. Ce phénomène physique de séparation de la phase dispersante est appelé synérèse (Eck et Gillis, 2009).

L'égouttage peut être naturel ou nécessiter au contraire des actions mécaniques ou thermiques.

III.4.1. En fabrication lactique :

L'égouttage est spontané, activé par la désorganisation des protéines (micelles de caséine), grâce à l'acidification rendant le caillé poreux.

III.4.2. En fabrication présure :

Le caillé fait « bloc », le sérum ne s'écoule que très faiblement. L'extraction du sérum requiert des actions mécaniques ou thermiques (Corcey et Lepage, 1991).

III.4.3. Les actions mécaniques et techniques d'égouttage :

III.4.3.1. Le tranchage:

Les opérations d'égouttage commencent par le décaillage, qui consiste à permettre au lactosérum de se séparer du coagulum. Dans la plupart des fabrications, on coupe le gel en petits cubes de 0,5 à 2,5 cm de côté, du fait qu'on augmente la surface du caillé, une partie du lactosérum se sépare rapidement sous l'effet de la perméabilité ou de la synérèse du gel (Romain *et al.*,2008). Par ailleurs le découpage doit être fait avec douceur, car une action trop brutale conduit à la libération de petites particules de caillé qui seront ensuite perdues par entraînement avec le lactosérum et contribuent à l'abaissement du rendement fromager (Eck *et Gillis*, 2009).

Plus le fromage possède un extrait sec élevé plus il faudra découper fin, chaque stade de découpage est défini par la dimension des grains qui varie de 1 à 20 mm de côté : (Corcey *et Lepage*,1991).

1 mm = poussière

2 mm = riz

8 mm = mais

10 mm = noisette

12 mm = noix

15 mm = cube

Ainsi certains fromages fermes à pâte cuite seront coupés en cubes très fins (0,5 cm), alors que les fromages à pâte molle seront coupés en gros cubes (2,5 cm) (Vignola *et al.*,2002).

III.4.3.2. Le brassage :

Le brassage consiste à agiter modérément dans le lactosérum les grains de caillé obtenu après tranchage (Eck *et Gillis*, 2009), car les grains d'un caillé de type présure se rétractent et ont tendance à s'agglomérer puis se sédimenter au fond du bassin, il est donc nécessaire de brasser continuellement les grains après les avoir laissés se raffermir. Le brassage débute généralement 10 minutes après le coupage (Vignola *et al.*,2002).

Le temps de brassage est quand même limité par la capacité des grains d'exuder le sérum, il varie suivant le type de fabrication, il peut être fait en une ou en deux fois (Corcey *et Lepage*,1991) .

Pendant le brassage, la synérèse se poursuit ; la durée du traitement est fonction de l'augmentation de la teneur en matière sèche recherchée. Pour les pâtes pressées cuites et les pâtes dures, ce temps est de l'ordre de 90 à 120 mn (veisseyre , 1975).



Figure n°06 : Brassage d'un caillé du camembert (La section fromagerie de la laiterie Sidi Saada).

III.4.3.3. Le chauffage ou cuisson du caillé :

Le chauffage est l'opération la plus efficace pour favoriser la synérèse (Vignola et al.,2002).Le température agit en activant l'ensemble des réactions responsable de la réticulation et de la destruction du gel, elle influence aussi la viscoélasticité du gel et la viscosité du lactosérum (Eck et Gillis, 2009) .Sous l'effet de la chaleur les caséines forment de nouvelles liaisons entre les acides aminés de nature hydrophobe (Vignola et al.,2002).

Le chauffage est obtenu par circulation de vapeur ou d'eau chaude dans la double paroi des cuves de fabrication, ou par l'adjonction d'eau chaude dans le mélange de grains et de lactosérum (Eck et Gillis, 2009 ; Corcy et Lepage,1991).

L'action des bactéries diffère en ce qui concerne l'acidification ultérieure :

- Un chauffage jusqu'à 38 C°, les bactéries sont encore actives.
- Un chauffage jusqu'à 39 – 45 C°, une partie de la flore acidifiante mésophile est détruite.
- A partir de 50 – 52 C°, la flore acidifiante thermophile est neutralisée (Corcy et Lepage, 1991).

En pratique , la température est montée graduellement de 30 C° jusqu'à une température finale comprise entre 37 C° et 55 C° suivant l'effet souhaité ,la température et le temps de cuisson sont des paramètres contrôler avec précision pour obtenir une humidité et des textures reproductibles (Vignola et al.,2002).En cas d'augmentation rapide de la température lors du chauffage , il y'a formation à la surface des grains de caillé une pellicule étanche appelée coiffe (un grain mou à l'intérieur et sec de l'extérieur) qui perturbe l'élimination du sérum et entrave l'agglomération ultérieure des grains lors du pressage (veisseyre , 1975; Corcy et Lepage,1991).

Tableau n°04 : Les différentes températures de chauffage des fromages à pâte pressée
(Corcy et Lepage,1991)

Pâte pressée non cuite emprésurage chaud	> 30 C° mais pas de chauffage après découpage
Pâte pressée demi-cuite emprésurage chaud	> 30 C° et chauffage après découpage jusqu'à 45 C°
Pâte pressée cuite emprésurage chaud	> 30 C° et chauffage après découpage jusqu'à 55 C° (Mozzarella 59/60 C°)

III.4.3.4. Le pressage :

Le pressage a pour but d'évacuer les dernières portions de sérum intergranulaire subsistant dans la masse de grain fraîchement séparée du lactosérum et de donner au fromage sa forme définitive (Eck et Gillis ,2009).

Le pressage s'effectue en appliquant une pression après transfère des grains de caillé dans un contenant adapté (toile, moule ,cuve) (Eck et Gillis ,2009).Le caillé déposé dans les moules ,subit une pression appliquée de 0,2 à 6 psi sur le fromage (1,5 à 40 kPa).Le temps de pressage varie de 2 à 24 heures , la température doit demeurer entre 20 et 30 C° avec une humidité de l'air ambiant suffisante (Vignola et al.,2002).

III.4.3.5. Les retournements :

Le retournement parfait l'égouttage , plus le fromage est retourné plus les faces seront régulières, en pâte pressée , le retournement interviendra sous presse après 30 à 40 mn , il s'effectue souvent 2 à 4 fois en pâtes molles , le dernier retournement sera l'occasion du salage d'une première face (Corcy et Lepage,1991).

III.5. Le salage :

Le salage au sel sec ou en saumure qui par osmose accentue le séchage, modifie la saveur, et influe sur la maturation et sur la conservation en agissant sur la flore bactérienne et sur les activités enzymatiques (Cheftel, 1978).

Le chlorure de sodium incorporer dans le fromage possède un triple rôle :

- Il complète l'égouttage du fromage et modifie également l'hydratation des protéines et par là intervient dans la formation de la croûte.
- Il agit sur le développement des micro-organismes et l'activité des enzymes.
- Il apporte son goût caractéristique qui a comme propriété de masquer la sapidité de certaines substances apparaissant au cours de la maturation du fromage (Eck et Gillis ,2009).

III.5.1. Les méthodes de salage :

Trois méthodes de salage sont couramment utilisées :

- 1 - après démoulage saupoudrer ou frotter régulièrement chacune des surfaces du fromage avec du sel , cette méthode est utiliser pour des fromages de type suisse, comme le comté ou le gruyère.
- 2 - Plonger les fromages dans un bac de saumure, pendant un temps qui varie de 15 mn à 2 jours suivant la taille des meules, la concentration en sel et le température de la saumure. Il convient parfaitement aux pâtes molles et pressées.
- 3 - Saler les grains de fromage avant la mise en moule .c'est la technique du cantal, du cheddar et d'autres fromage apparentés.

Dans tous les cas le salage est accompagné d'une légère diminution du rendement fromager, cette perte peut atteindre 2 à 4 % suivant les fromages (Vignola et al.,2002 ; Corcy et Lepage,1991).

III.6. Le séchage :

Le séchage du fromage après démoulage est plus fréquemment utilisé sur des pâtes molles ou des fromages lactiques . En effet, ces produits ont une partie d'eau excédentaire, agent de développement de moisissures indésirables de type oïdium (peau de crapaud) ou mucor (poil de chat).

Le système le plus simple est le séchage par ventilation mécanique mais il est sujet aux variations hygrométriques saisonnières et régionales (Corcy et Lepage,1991).

III.7. L'affinage :

L'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants protéiques et lipidiques du caillé (Romain et al.,2008) .Les transformation biochimiques confèrent au caillé des caractères nouveaux. La pâte, à l'origine relativement dure, compacte, sans grande saveur, est modifiée dans sa composition, sa structure et, par suite dans son aspect, sa consistance, sa couleur. Simultanément, une saveur et un arôme nouveaux se développent (Eck et Gillis ,2009).

La période d'affinage résulte en partie de l'action hydrolysante de protéases endogène sur la caséine comme la plasmine.D'autres activités protéolytiques peuvent aussi provenir des micro-organismes assurant la transformation du lactose en acide lactique qui s'accompagne de la formation de dioxyde de carbon , à l'origine des cavités gruyère. Ainsi des exoprotéases bactériennes peuvent libérer des aminoacides jouant le rôle de précurseurs d'arôme (Sine, 2010).

III.7.1. Les agents de l'affinage :

Les enzymes impliquées dans l'affinage ont plusieurs origine : le lait, l'agent coagulant et les micro-organismes qui peuplent les pâtes (Romain et al.,2008) .

III.7.1.1. Les enzymes naturelles du lait :

Le lait contient à l'état natif un très grand nombre d'enzymes, parmi les systèmes présents, on peut citer :

- **La plasmine :** (E.C.3.4.21.7.) le lait contient un système plasmine (la plasmine et son précurseur, le plasminogène), elle appartient au groupe des protéases. L'action de l'enzyme au cours de l'affinage est appréciable et elle intervient dans les fromages à pâte pressée cuite et non cuite à affinage lent (Eck et Gillis ,2009).
- **La lipase :** la principale lipase du lait est une lipoprotéine lipase (E.C. 3.1.1.34) , son action est nulle dans le lait (Eck et Gillis ,2009). Elle n'intervient que dans les fromages au lait cru , sa fonction consiste à hydrolyser préférentiellement les acides gras à courte chaîne (Romain et al.,2008) .
- **Les autres enzymes du lait :**
 - ✓ **La phosphatase acide :** très thermorésistante , elle est présente dans le lait à faible concentration
 - ✓ **La phosphatase alcaline :** en grande partie localisée dans la membrane du globule gras, sa faible thermorésistance rend celle-ci peu probable dans les fromages de lait pasteurisé ou thermisé.
 - ✓ **La protéase acide :** présente une stabilité thermique assez élevée , agit sur les caséines au cours de l'affinage (Eck et Gillis ,2009).

III.7.1.2. Les enzymes coagulantes :

Agent coagulant ajouté au lait a une activité de protéolyse générale. Son activité est dominante dans les fromages à pâte pressée non cuite .Les produits formés sont principalement des peptides de poids moléculaire élevé (Romain et al.,2008).

III.7.1.3. Les enzymes microbiennes :

Les microorganismes interviennent au cours de l'affinage par action de leurs enzymes exo et intracellulaires. Ces enzymes proviennent de cinq groupes microbiens :

- **Les bactéries lactiques :**

Le système protéolytique des bactéries lactiques comprend d'une part, une protéase associée aux enveloppes, et d'autre part plusieurs peptidases qui sont intracellulaires, elle transforme le lactose en acide lactique, on distingue :

- ✓ **Les lactocoques** : flore dominante dans les pâtes molles et pâtes pressées non cuites ; ils ont une action protéolytique.
- ✓ **Les lactobacilles et streptocoques thermiques** : flore des pâtes pressées cuites ; ils exercent une action d'acidification et de protéolyse (Eck et Gillis ,2009 ; Romain et al.,2008).
- ✓ **Les leuconostoc** :ils produisent , à coté de l'acide lactque , des composants d'arôme et participent à l'ouverture des fromages à pâte persillée (Romain et al.,2008).

- **Les bactéries propioniques :**

Ces bactéries possèdent 2 protéase liées aux cellules actives sur la caséine (Eck et Gillis ,2009).Elles produisent à partir du lactate de l'acide propionique et du CO₂ responsable de l'ouverture des pâtes pressées cuites et contribuent à la formation de la saveur et de l'arôme de ces dernières (Romain et al.,2008).

- **Les bactéries de surface :**

Les plus fréquentes sont les microcoques et les bactéries corynéformes (*Bacterium linens*) ; elles sont présentes dans les pâtes molles à croûtes lavée ou emmargée. Elles sont dotées d'activité protéolytique et lipolytique (Romain et al.,2008).

- **Les levures :**

La plus couramment rencontrée est *Geotrichum candidum* ; elle se développe en surface des fromage en consommant l'acide lactique , produisant de l'éthanol et exerçant des actions protéolytiques (Romain et al.,2008).La libération préférentielle des acides gras insaturés qui a été observée sur fromages de camembert pourrait provenir de l'activité lipasique de ce micro-organisme (Eck et Gillis, 2009).

- **Les moisissures :**

Les deux plus courantes sont *Penicillium camemberti*, qui est une moisissure de surface des pâtes à croute fleurie, et *Penicillium roqueforti*, moisissure interne des pâtes persillées. Elles possèdent les enzymes les plus lipolytiques, à l'origine de la formation de méthylcétones, d'alcools secondaires et sont aussi dotées d'activité protéolytique (Romain et al., 2008).

IV. Les différents types de fromages en fonction du type de pâte :

Tableau n° 05: Classification des différents types de fromage en fonction du type de pâte
(veisseyre , 1975)

Type de pâte		Fromages les plus connus de la catégorie
Pressée	non cuite	Cantal, Laguiole, Morbier, Salers, Saint Nectaire, Tomme de Savoie
	demi-cuite	Abondance, Leerdammer, Pyrénées vache .
	cuite ou pâte dure	Beaufort, Comté, Emmental, Gruyère, Parmesan.
Molle	à croute fleurie	Brie, Brique chèvre ou brebis, Camembert, Coulommiers, Saint Marcellin.
	à croute lavée	Epoisses, Livarot, Maroilles, Munster, Pont l'Evêque, Reblochon, Mont d'Or
	à croute naturelle	Crottin de Chavignol
Fraiche	à pâte fraîche	Brocciu, Faisselle, Mascarpone, Picodon, Ricotta, Rocamadour, Tomme fraîche d'aligot
	à pâte filée	Mozarella
	à pâte fondue	Les fromage fondus à tartiner
Persillée		Bleu d'Auvergne, Fourme d'Ambert, Gorgonzola, Roquefort, le bleu du haut – jura , bleu d'auvergne.

IV.1.procédé de fabrication du camembert :

Le lait est porté à 32°C, puis il est additionné de présure et de ferments lactiques d'espèces choisies, le caillage a lieu dans une pièce à 25°C .Le caillé formé, il est réparti dans des moules cylindriques. L'égouttage se fait pendant plusieurs heures au cours des quelles sont effectués deux à trois retournements (Apfelbaum et al.,2004).

Quand 50% de l'eau est perdue, le fromage est salé dans une saumure , puis il est placé dans les hâloirs à température inférieure ou égale à 12 à13°C. Une des faces du fromage estensemencée par pulvérisation d'une moisissure : le *Penicillium camemberti*. Le lendemain le pourtour et l'autre face sontensemencés à leur tour . le camembert reste au hâloirs pendant 12 jours, c'est la maturation ou l'affinage, le pH du fromage augmente, la moisissure forme un feutrage blanc , l'intérieur du fromage , à partir de chaque face plane tend à devenir coulant , le fromage est à point (Cheftel, 1978) .

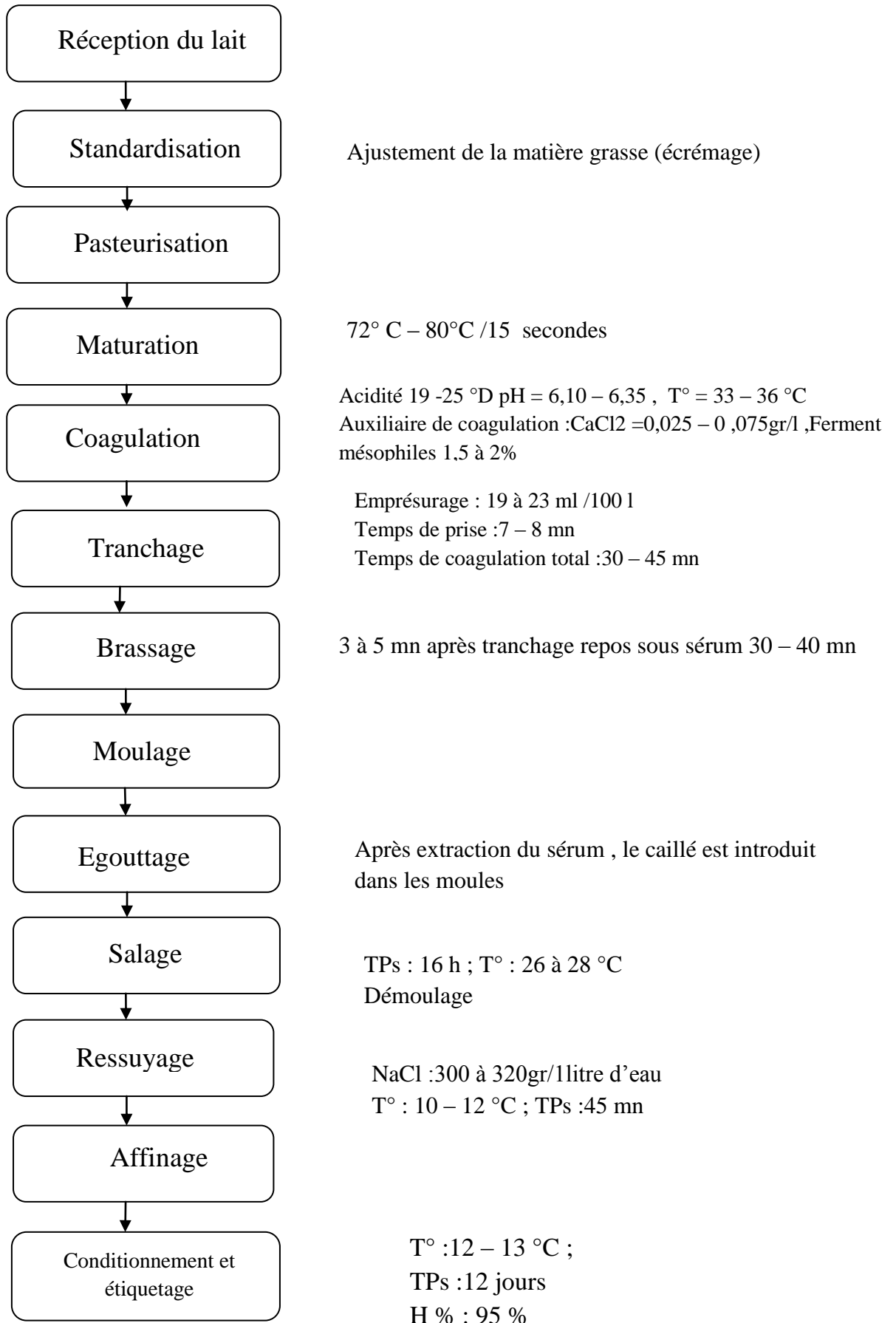


Figure n°07 : Schéma de la fabrication industrielle du camembert (Luquet,1990)

Chapitre II

La transglutaminase

La transglutaminase

Les modifications enzymatiques des protéines ont été signalés dans les industries de transformation des aliments (Tseng et Lai,2002) ils sont devenu d'un grand intérêt pour les scientifiques dans le domaine alimentaire (Koksel et al.,2001) Diverses enzymes sont utilisées pour répondre aux différents besoins tels que l'amélioration de la texture, la saveur ou la valeur nutritive, et simplifier les étapes de fabrication des aliments (Tseng et Lai,2002) Les enzymes sont généralement reconnus comme des produits sans danger pour la santé humain (GRAS) (Caballero et Bonet, 2005) ,la modification enzymatique a été suggérée comme un moyen utile en raison d'une spécificité élevée des réactions enzymatiques et du faible risque de formation des produits toxiques (Ozrenk,2006).

La transglutaminase microbienne est l'une des enzymes largement utilisé pour la modification des protéines au cours des dernières années (Tseng et Lai,2002) . Elle peut catalyser la conversion des protéines solubles à des polymères insolubles de protéines par la formation de réticule covalent non sulfide (Koksel et al., 2001).

I. Généralités sur l'enzyme transglutaminase :

I.1. Historique :

En 1957, l'introduction du terme "transglutaminase" pour décrire l'activité de transamidation observée dans le foie de porc Guinée n'était pas élucidé que 50 ans plus tard, cette classe d'enzyme aurait connue comme enzymes alimentaires modifiant (Sarkar et al., 1957).

La recherche sur les applications de transglutaminases (TG) dans les préparations protéiques de base des aliments a commencé avec l'isolement des enzymes des tissus de mammifères et les fluides corporels (Folk et Finlayson, 1977). La TG du foie de porc Guinée était la seule forme moléculaire de l'enzyme disponible dans le commerce jusqu'à la fin des années 1980.

Cependant, sa source rare, les procédures de purification extensive, ainsi que l'activité du calcium qui conduit à la précipitation des protéines dans certains procédés alimentaire tel que : la caséine, la globuline de soja ou de la myosine (Ando et al.,1989) , entraîné extrêmement le prix élevé sur le marché, résultant à une faible attractivité du potentielle des applications industrielles.

Le facteur XIII, une isoforme TG isolé à partir du sang, ne convient pas pour l'utilisation dans l'industrie agro - alimentaire car elle nécessite la thrombine pour son activation. En 1989, Ando et al.ont rapporté l'isolement de TG à partir du bouillon culturel du micro-organisme *Streptoverticillium* S-8112 (Seguro et al.,1996), qui a été identifié comme étant une variante de

Streptovercillium mobaraense, également connu sous le nom *Streptomyces mobaraensis* (Witt et Stackebrandt, 1990) .

Contrairement à de nombreux autres cas, la transglutaminase microbienne est indépendante du calcium et remarquablement stable sur une large gamme de températures et pH (Yokoyama et al., 2004). La production TGM a été lancée en 1993 et depuis elle est utilisée dans l'industrie agro alimentaire. Elle est actuellement utilisée pour la réticulation des protéines dans les produits laitiers, la viande et applications de cuisson. TGM est disponible dans le commerce et a eu le statut GRAS depuis 1998.

Selon l'Union européenne (UE) les législations relatives aux enzymes alimentaires, la transglutaminase est reconnue comme une aide à la transformation (règlement UE1332/2008) (Buchert et al., 2010).

I.2 .Définition :

Le nom complet de la transglutaminase est R-glutaminy-peptide: amine γ -glutamyl-transférase (EC 2.3.2.13) (Joy et al.,2009). La TG la plus couramment utilisée est celle d'origine bactérienne elle est connu sous l'appellation « colle de viande » car elle servait à coller les différents morceaux de viandes entre eux, elle est commercialisée sous forme d'une poudre d'enzyme lyophilisée qui est capable de créer des liaisons covalentes entre deux protéines différentes (liaisons inter-caténares) (Yokoyama et al., 2004) .

La TG microbienne est une protéine monomère et simple avec un poids moléculaire d'environ 38 000, composé de 331 acides aminés , son point isoélectrique est de pH 8,9 (Jaros et al.,2006).Elle possède un résidu de cystéine unique et deux sites de glycosylation potentiels (Thr-Asn-XXX -) (Yokoyama et al.,2004).

Nomenclature de l'enzyme :

Appellation accepté: protéine glutamine γ -glutamyltransférase

Réaction: protéine glutamine + alkylamine = protéine-N5 alkylglutamine + NH₃

Autre appellations : transglutaminase; Facteur XIIIa; fibrinoglycane; fibrine facteur de stabilisation; glutaminy-peptide γ -glutamyl transférase; transglutaminase polyamine; R-glutaminy-peptide: amine γ -glutamyl transférase

Nom systématique: protéine glutamine: amine γ -glutamyl

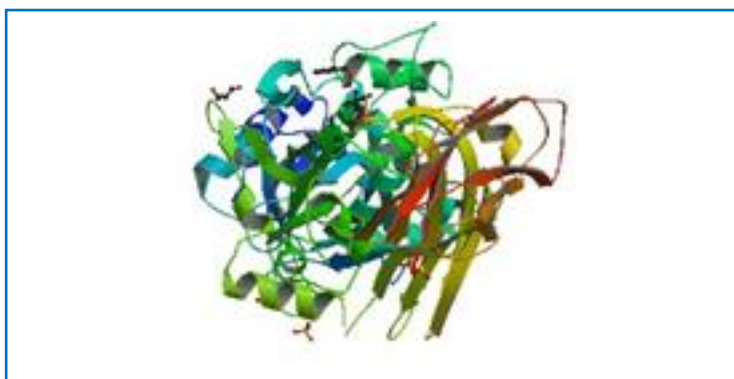


Figure n°08 : Une vue tridimensionnelle de la transglutaminase (Ando et al.,1989) .

I.3.Source de la transglutaminase :

Plusieurs types de TG ont été détectés dans les plantes dont les activités ont été proposées à être liée à l'organisation de la paroi cellulaire des plantes supérieures ou apical ,la croissance du pollen (Del Duca et Serafini,2005). En outre, l'activité de la TG a été détecté dans *Candida albicans* (agent pathogène humain) et le oomycètes *Phytophthora sojae* (plante agents pathogènes) , ainsi que dans *Saccharomyces cerevisiae* . Dans tous les cas, l'enzyme a été trouvée localiser au niveau de la paroi cellulaire, ce qui suggère son implication dans la stabilisation de la paroi cellulaire (Ando et al.,1989) .

Un rôle similaire a été émis l'hypothèse de la TG microbienne isolée de *Streptoverticillium sp.* *Streptoverticillia* sont maintenant unifié avec *Streptomyces* (Witt et Stackebrandt ,1990) .

La transglutaminase commercial a été obtenu uniquement à partir de tissus d'origine animale (TG dépendante du calcium), récemment des études ont été déclenché sur la production de TG a partir des micro-organismes (indépendant du calcium) (Ando et al., 1989; Seguro et al., 1996).

L'enzyme obtenue par fermentation microbienne a été appliquée dans le traitement des denrées alimentaires d'origines différentes. La TG extracellulaire a été purifié à partir du filtrat de culture *Streptoverticillium mobarense* (Dickinson, 1997) ; à partir de *Streptoverticillium sp* (Ando et al., 1989 ; Motoki et Nio,1983) à partir de *Streptoverticillium ladakanum* (Jiang et al.,2000) et à partir de *Streptoverticillium lydicus* (Faregmand et al., 1997) . La TG intracellulaire a également été trouvé dans *Bacillus subtilis* et dans des sphérules de *Physarum polycephalum* (Jaros et al. , 2006) .

I.4. Les propriétés de l'enzyme transglutaminase :

La transglutaminases (EC 2.3.2.13), à savoir γ - protéine-glutamine glutamyltransférase, appartient à la classe des transférases (Marx et al.,2008). Elle catalyse la formation d'une liaison isopeptidique entre le groupe de γ -carboxamides de résidus de glutamine (donateurs) et en premier ordre les groupes ϵ -aminés de différents composés, par exemple,des protéines (accepteurs d'un résidu acyle) (Abd-Rabo et al., 2010; Ozer et al., 2007).

Si la lysine est l'accepteur d'acyle, une molécule de protéine est enrichie en cet acide aminé. Le transfert d'acyle sur un résidu de lysine lié au induise chaîne polypeptidique le processus de réticulation, à savoir la formation de la réticulations intramoléculaires ϵ -(γ -Glu)Lys (Kashiwagi et al., 2002).

En outre, la transglutaminase catalyse la réaction de désamination en cas d'absence de groupes amine libres. Dans ce cas, l'eau agit comme un accepteur d'acyle (Motoki et Seguro ,1998; Kuraishi et al., 2001). Les réactions qui sont catalysés par cette enzyme conduisent à des variations significative des propriétés physiques et chimiques des protéines, telles que la modification de la viscosité, la stabilité thermique, l'élasticité et la résilience des protéines.

La TGM est active sur une large plage de températures et stable entre pH 5 et 9, elle est caractérisée par une activité indépendante du calcium. Elle est capable de réagir sans ions calcium supplémentaires, ce qui rend plus facile à manipuler et plus pratique à utiliser dans le traitement des aliments. Depuis l'isolation de la transglutaminase de *Streptovercillium sp.*, d'autres types de transglutaminases microbiennes provenant d'autres micro-organismes ont été découverte, certains d'entre eux sont signalés comme des enzymes dépendantes du calcium (Jaros et al.,2006) .

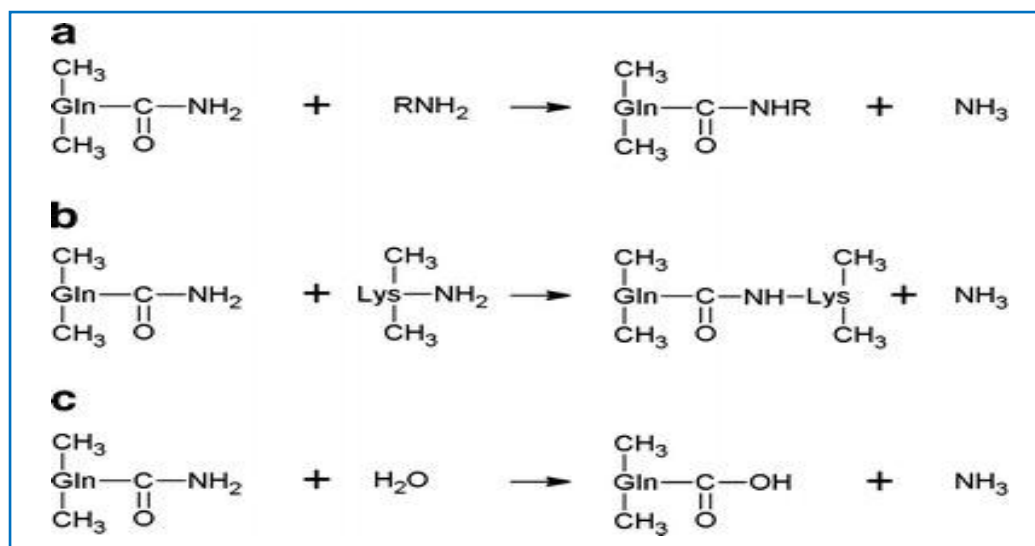


Figure n°09 : Les réactions catalysées par des transglutaminases inclus.

a un transfert d'acyle réaction; **b** réaction de réticulation entre les résidus Gln et Lys des protéines ou des peptides.**c** désamination source (Kuraishi et al.,2001)

La TGM isolée à partir de *Streptomyces sp* agit le plus efficacement à une température plus élevée que 45 ° C. Cette enzyme n'est pas stable à 50 ° C car elle perd 50% de son activité lorsqu'elle est chauffée pendant 30 min, elle est très sensible lorsqu'elle est chauffée en présence d'éthanol. L'addition des carbohydrates, tels que la maltodextrine, le saccharose, le mannose, tréhalose et le glutathion réduit, augmente significativement la stabilité thermique de l'enzyme (Cui et al.,2006). La caséine peut protéger la transglutaminase contre la dégradation par les enzymes protéolytiques extracellulaires (Junqua et al. ,1997). A des températures proches de 0°C la transglutaminase maintient son activité enzymatique totale (Yokoyama et al., 2004).

Les TG biosynthétiser à partir des bactéries sont stables à une large plage de valeurs de pH, à savoir 4,5 à 8,0. En outre, elles ne nécessitent pas d'ions de calcium pour leur activation, ce qui est en contraste avec la transglutaminases d'origine animale. Cette propriété est très souhaitable d'un point de vue pratique, pour une éventuelle utilisation dans les préparations enzymatiques, L'activité de la TGM augmente en présence des ions : (Co²⁺, Ba²⁺ et K⁺) . Mais elle fortement inhibées par les ions :(Zn²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺ et Pb²⁺) car les métaux lourds se lient au groupe thiol du résidu cystéine unique dans le centre actif (Macedo et al., 2010; Motoki et Seguro, 1998 ; Ando et al., 1989). Cela appuie fortement l'idée qu'un résidu cystéine pourrait faire partie du côté actif de TG. Cette enzyme peut être utilisé en combinaison avec un traitement à haute pression de l'aliment, car elle est capable de lier les protéines sous une haute pression (Ozrenk, 2006).

II. Le mécanisme d'action de la transglutaminase :

La TGM peut modifier des protéines par l'incorporation d'une amine, par réticulation et par désamination. L'affinité de TGM pour différents types de protéines dépend de la distribution des résidus Glu aussi bien sur la structure secondaire et tertiaire des protéines. La caséine, protéines de soja, conalbumine, la myosine du lapin et la carpe, l'actine et myosine du bœuf, sont des exemples de protéines reconnus comme des substrats appropriés pour la TG (Ionescu et al.,2008), en 1999 Sorensen et al., ont rapporté que la TG peut être utilisé pour introduire de la méthionine en caséine et les protéines de soja et de la lysine dans le gluten de blé, ce qui montre que la TG peut également être utilisé pour améliorer la valeur nutritionnelle des protéines alimentaires (Jaros et al., 2006), La formation de la réticulation ne réduit pas la qualité nutritionnelle de l'aliment parce que le résidu de lysine reste disponible pour la digestion (Chambi et Grosso,2006) .

III. La biosynthèse de la transglutaminase :

Au début, la plupart des études sur la transglutaminase ont été effectuées en utilisant la transglutaminase dérivée à partir du foie de porc d'Inde (Kuraishi et al., 2001). Cependant, la source d'origine et son extraction relativement coûteuse et les procédés de purification entravaient la large utilisation de la transglutaminase dans l'industrie (Del Duca et Serafini, 2005).

La production de la transglutaminase dérivée de micro-organismes n'a pas été signalé que jusqu'à la fin des années 1980. (Ando et al., 1989) ont explorés la possibilité de produire une transglutaminase a partir des micro-organismes.

Ils ont criblés environ 5000 souches isolées du sol recueillies à partir d'une variétés d'endroits. Parmi ces souches, *Streptoverticillium* S-8112 qui avait la capacité de produire de la transglutaminase.(Zhu et al., 1995) ont cités que d'autres souches de *Streptoverticillium* telles que : *Streptoverticillium griseocarneum* , *Streptoverticillium cinnamoneum* et *Streptoverticillium mobaraense* possèdent aussi la capacité de produire une transglutaminase.

L'activité de la transglutaminase a également été découverte dans une culture de *Streptomyces* sp. Le procédé de fermentation pour la production de transglutaminase est en principe le même pour les différents micro-organismes déjà mentionnés (Ando et al., 1989). glucose ,glycérine amidon , saccharose et dextrine peuvent être utilisés en tant que source de carbone.

Des sources inorganique peuvent être utilisés telle que l'azote organiques, par exemple, NH_4NO_3 (NH_4) $_2\text{SO}_4$, l'urée, NaNO_3 , NH_4Cl , le riz du soja, le maïs, le blé ou la farine de blé, son de blé, le soja dégraissé, le peptone, l'extrait de viande, la caséine, les acides aminés et de l'extrait de levure (Gerber et al., 1994; Zhu et al., 1995) ; les minéraux nécessaires et oligo-éléments sont le phosphate, le magnésium, le potassium, le fer, le cuivre, le zinc et es vitamines, un agent tensioactif non ionique peuvent être ajoutés si nécessaire. La culture est une fermentation aérobie de telle sorte que l'aération et l'agitation sont nécessaires (Guerra-Rodríguez et Vázquez, 2013).

La température pour la croissance et la formation du produit est comprise entre 25 °C et 35°C , et la durée de fermentation dépend des conditions de culture, elle est déterminée en fonction de la forte activité de la TG qui peut être obtenue, normalement 2 à 4 jours (Télliez-Luis et al., 2004).TGM est une enzyme extracellulaire dissous dans le bouillon de fermentation afin qu'il puisse être récupéré par une séparation de la matière solide à partir du bouillon. Les méthodes habituellement utilisées dans la purification de l'enzyme peuvent être utilisés pour la transglutaminase microbienne.

Par exemple, l'éthanol, l'acétone, l'alcool isopropylique et d'autres solvants organiques peuvent être utilisés dans le traitement en aval. Le relargage avec du sulfate d'ammonium et le chlorure de sodium, une dialyse, une ultrafiltration, une Chromatographie par échange d'ions, une Chromatographie d'absorption, la filtration sur gel, l'absorption et les méthodes de point isoelectonique peuvent être utilisés pour purifier l'enzyme (Washizu et al., 1994).

IV. Application de la transglutaminase dans l'industrie agro alimentaire :

Durant les deux dernières décennies plusieurs études sont déroulées afin d'évaluer la capacité de la TG à modifier les protéines d'intérêt alimentaire. Ainsi, beaucoup types de protéines ont été testées en tant que substrats potentiels de l'enzyme. Le principal objectif de ces recherches est d'améliorer la texture, les propriétés mécaniques et les caractéristiques émulsifiantes des protéines alimentaires pour leur emploi comme ingrédients d'aliments complexes avec une qualité améliorée (Kuraishi et al., 2001).

IV.1. Amélioration des aliments par addition de transglutaminase :

L'utilisation de la TG dans l'industrie alimentaire a commencé au Japon avec la fabrication du surimi (pâte de poisson espèce de Pollack) (Kuraishi et al., 2001).

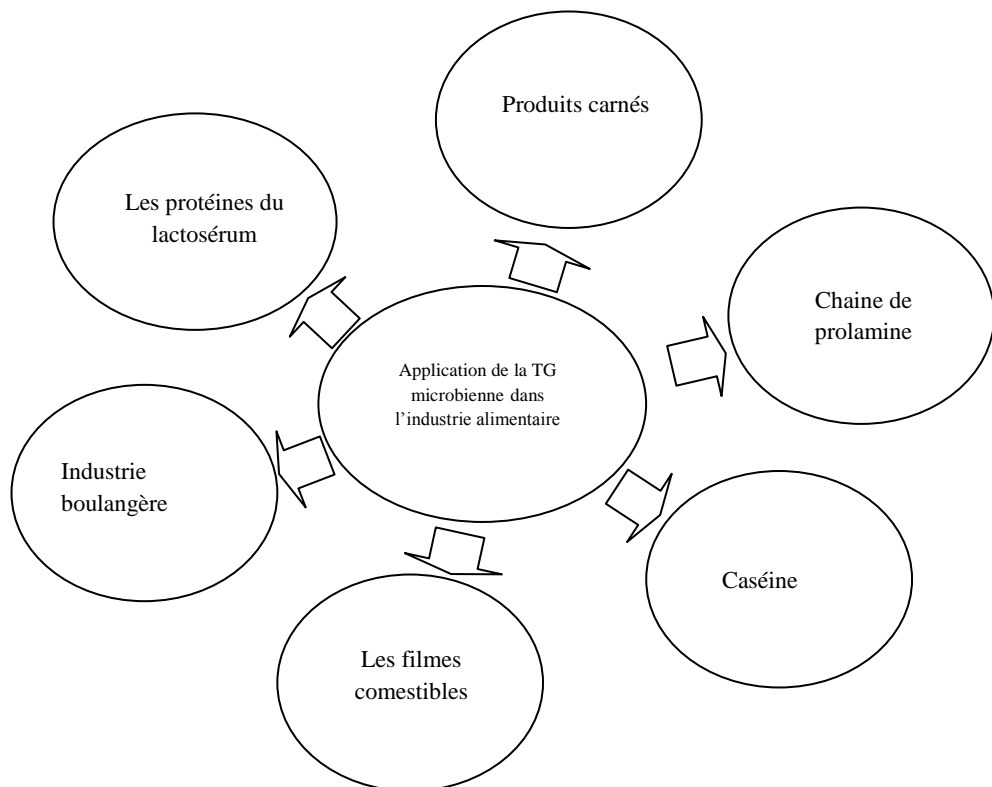


Figure n° 10: Les applications possibles de la transglutaminase microbienne (Kuraishi et al., 2001).

Il a été prouvé que l'addition de TG exogènes, soit l'isoforme sanguin ou une microbienne, au cours du processus de réglage est avantageuse afin d'obtenir une pâte de poisson avec une meilleure élasticité et résistance à la traction (Dondero et al., 2002).

En outre, tous les produits à base de poisson restructurées à l'aide de la TG microbienne ont montré une grande blancheur, qui est considéré comme un attribut important pour les consommateurs (Ramírez et al., 2006).

IV.1.1. Les produits de boulangerie :

La transglutaminase est utilisée pour améliorer la qualité de la farine, la texture et le volume du pain (Moore et al., 2006) et la texture des pâtes après la cuisson (Kuraishi et al., 1997). TGM a été utilisée pour créer de nouvelles liaisons covalentes intermoléculaires entre les protéines du gluten. Cette modification induit des changements radicaux dans ses propriétés physicochimiques ainsi que dans son comportement rhéologique. Le traitement enzymatique provoque un renforcement considérable du réseau. Les glutens modifiés étaient également moins sensibles au traitement thermique que les glutens non modifiés (Larré et al., 2000).

Des recherches ont montré que la TGM possède la capacité de modifier la viscoélasticité de la farine de blé en modifiant les protéines de blé efficacement par la formation des liaisons (c-glutamyl) avec l'acide aminé lysine conduisant à des modifications de certaines propriétés physiques importantes de la pâte issue de la farine de blé touchant ainsi l'adhésivité, l'extensibilité et la résistance maximale à l'extension (Tseng et Lai, 2002).

La TGM c'est avérée être un activateur potentiel des propriétés de cuisson en raison d'une très faible dose peut provoquer une modification évidente sur les propriétés de la pâte. Le traitement avec la TG a augmenté le volume de pâte feuilletée et croissants, conférant la résistance, les dégâts lors de la congélation. En outre, l'addition de la TG à la pâte du pain produit une augmentation significative de la résistance de la mie et le volume du pain (Gerrard et al., 2001).

IV.1.2. Les pâtes alimentaires :

Cependant, la Transglutaminase est utilisée largement dans la fabrication des nouilles et des pâtes au Japon. La transglutaminase est ajoutée lorsque la farine et d'autres ingrédients sont mélangés, avec l'addition de la transglutaminase, la texture de diverses nouilles, nouilles chinoises, udon (nouilles japonaises à base de farine de blé), soba (fabriqué à partir de sarrasin), et les pâtes sont améliorées.

Étant donné que les liaisons transversales introduites par la transglutaminase sont stables à la chaleur, la fermeté et l'élasticité des nouilles sont conservés plus longtemps, même après la cuisson. Les nouilles traitées avec la transglutaminase maintiennent une texture ferme dans la soupe

chaude. Comme la structure de la pâte est renforcée par la transglutaminase, l'amidon dans la pâte est mieux tenue dans le réseau de gluten (Tseng et Lai, 2002).

IV.1.3. Les produits carnés :

La TGM peut produire une viande restreinte par la soudure de petits morceaux de viande. La TGM fonctionne comme une colle pour lier l'ensemble des différentes denrées alimentaires. En plus d'avoir un impact positif sur la texture du produit final, l'utilisation des préparations de transglutaminase facilite une forte cohésion d'un bloc de viande sans la nécessité d'un traitement thermique ou l'addition de sel ou de phosphates (Kuraishi et al., 1997).

L'utilisation de la transglutaminase dans le traitement de la viande améliore significativement la texture du produit fini, ce qui entraîne une augmentation de sa dureté. En outre, il renforce la texture des saucisses homogénéisées faites à base de viande de porc, de bœuf ou de volaille. L'addition de la transglutaminase permet l'utilisation des matières premières de qualité inférieure, tels que le collagène, les protéines du sang et de la viande désossée mécaniquement pour la fabrication de produits à base de viande avec une valeur nutritive plus élevée en la complétant avec des acides aminés dans laquelle il est déficient (Par exemple, la lysine exogène). L'application de la transglutaminase a créé de nouvelles opportunités technologiques pour la production des saucisses fines et grossières, hachée, et viande fumée (Lorenzen et al., 2002).

Au lieu d'une viande de haute qualité, des matières premières de qualité inférieure et des additifs, tels que le lait écrémé en poudre, soja ou la farine de blé, peuvent maintenant être utilisés pour la fabrication de ces produits. L'impact de l'enzyme sur les protéines de ces matières premières donne des produits qui ne diffèrent pas dans l'apparence, la texture, l'odeur, le goût et la valeur nutritive des produits analogiques fabriqués exclusivement de viande de haute qualité (Motoki et Seguro, 1998).

IV.1.4. Les produits laitiers :

La transglutaminase a été introduite dans la production de nombreux produits, par exemple les yaourts, afin de prévenir la synérèse ou de rendre leur texture plus ferme et plus souple (Lorenzen et al., 2002). La transglutaminase modifie la caséine et permet de fabriquer des produits laitiers avec une meilleure structure et cohérence. Cette méthode est utilisée pour produire des yaourts à partir du lait incubés avec la transglutaminase (Ozer et al., 2007). Ils sont homogène, ferme et onctueuse la cohérence ainsi qu'une surface de caillé doux et sec. C'est les résultats d'une réduction de la synérèse (Lorenzen et al., 2002). Ces yaourts servent de base pour produire des crèmes glacées, crèmes desserts, boissons lactées (Nielsen, 1995; Lauber et al., 2000). La transglutaminase est aussi utilisée dans la fabrication de fromage, et le rendement du caillé a augmentée en utilisant cette enzyme dans le processus de fabrication (Kuraishi et al., 2001).

Partie II
ETUDE
EXPERIMENTALE

Introduction :

L'étude a été réalisée sur l'effet de la transglutaminase sur la qualité du fromage à pâte molle type camembert fabriqué par la laiterie Sidi Saada, notre étude consiste à faire un suivi de la qualité des échantillons de camembert traités par l'enzyme transglutaminase en deux doses différentes avant emprésurage et en parallèle avec l'addition de la présure, des analyses physico-chimiques, bactériologiques et sensorielles ont été réalisées afin de déduire l'effet de cette enzyme sur la qualité du camembert.

I - Matériels et méthodes :

I-1. Lieu du travail :

L'étude a été réalisée au niveau de la laiterie " Sidi Saada- Relizane", cette laiterie réceptionne environ 1.700.000 litres de lait cru par an. Elle dispose d'une gamme variée en produits à base de lait de vache, parmi lesquels, figure le fromage à pâte molle type Camembert objet de notre étude.

I.2. Préparation des échantillons :

I. 2.1. L'enzyme utilisée transglutaminase :

C'est une enzyme isolée d'une souche, *Streptomyce mobaraensis*, anciennement *Streptoverticillium mobaraense*, fournis par BDF ingrédients (Espagne), qui vend cette enzyme sous la forme lyophilisée. L'activité enzymatique maximale est à pH 6 - 7 et température de 50°C.

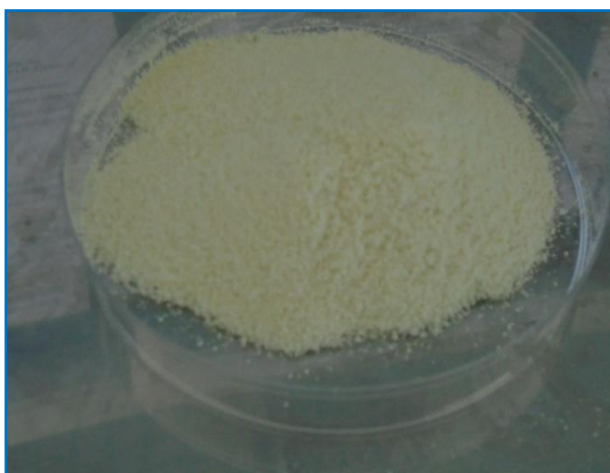


Figure n° 11: L'enzyme microbienne lyophilisée PROBIND® CH 2.0 transglutaminase

I.2.2. Les analyses physico-chimiques du lait cru pasteurisé:

Selon l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation (JORA n° 69 du 27/10/1993).

A l'aide d'un appareil Lactostar, on procède à l'analyse des différents paramètres physico-chimique du lait (Dosage : matière grasse, matière sèche non-grasse, protéine, lactose, densité, point de congélation, pH).



Figure n°12 : Le Lactostar FUNKE GERBER - laiterie Sidi Saada.

I.2.3. Les analyses bactériologiques du lait cru pasteurisé:

I.2.3.1. Préparation des dilutions :

Arrêté du 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour essai et dilutions en vue de l'examen microbiologique (JORA n° 70 du 07/11/2004).

- **Principe :**

Préparation de la dilution primaire (suspension mère) et si nécessaire, des dilutions décimales suivantes en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume, pour faciliter l'examen microbiologique.

Dilutions décimales :

Les laits étant des produits liquides constitueront d'emblée donc une solution mère.

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la SM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du TSE : cette dilution est alors au 10^{-1} .
- Introduire par la suite 1ml de la dilution 10^{-1} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du TSE : cette dilution est alors au 10^{-2} .

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la dilution 10^{-2} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du TSE ; cette dilution est alors au 10^{-3} .

I.2.3.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux :

Guiraud a montré que cette flore appelée aussi FTAM (Flore totale aérobie mésophile) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits, ainsi le nombre des germes totaux pourra donner une indication sur de l'état de fraîcheur ou de la qualité sanitaire du produit.

La flore totale aérobie mésophile est constitué d'un ensemble de microorganismes variés correspondant au germes banales de contamination (Guiraud et Rosec, 2004)

- **Mode opératoire :**

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml de la dilution de lait cru dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée.
- Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45°C .
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. Laisser solidifier sur paillasse,

- **Incubation :**

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

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

- **Lecture :**

Les colonies des G A M T se présentent sous forme lenticulaire en masse.

I.2.3.3. Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux :

Le terme coliforme se rapporte à des organismes en bâtonnets non sporogènes , gram négatifs, oxydase négatifs, capable de se développer en aérobiose à 37°C (Rodier ,1978). Ces germes sont des témoins de l'hygiène apporté au cours des étapes de fabrication du produit , souvent cela provient d'un manipulateur mal propre , ces germes indiquent aussi une contamination d'origine fécale (Bourgeois et Levean,1980) .

Le dénombrement des coliformes se fait sur milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable) à l'aide du bouillon BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant) réparti à raison de 10 ml par tubes munis d'une cloche de Durham.

1. Test présomptif :

- **Mode opératoire :**

- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif (BLBVB) à raison de trois tubes par dilution.
- A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée .
- Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

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

- **Lecture :**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- ✓ un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche),
- ✓ un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady (nombre le plus probable).

2. Test confirmatif ou test de Mac Kenzie :

Les tubes de BLBVB trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans à la fois :

- un tube de BLBVB muni d'une cloche de Durham.
- un tube d'eau peptoné exempté d'indole.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

L'incubation se fait cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

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

- ✓ un dégagement gazeux dans les tubes de BLBVB.
- ✓ un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par Escherichia Coli après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempté d'indole.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte du fait qu'*Escherichia Coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.

I.2.3.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :

Les Stréptocoques fécaux sont des streptococcies classés dans le groupe sérologique D de Lancefield : *Stréptococcus faécalis*, *Stréptococcus faecium*, *Stréptococcus durans*, *Stréptococcus bovis*, *Stréptococcus equinus*.

Ils sont caractérisés par leur aptitude à ce cultiver dans des conditions hostiles de croissance, ils supportent par exemple la présence d'un agent chimique inhibiteur comme le tellurite de potassium, l'azohydrate de sodium ou l'éthyle violet. Leur recherche met à profit cette propriété, dans des milieux contenant de l'azohydrate de sodium et éventuellement de l'éthyle violet (milieu Rothe et milieu Litsky) ils se multiplient seul tandis que le développement des autres microorganismes qui les accompagnent seront totalement inhibés (Leclerc et al., 1977).

- **Mode opératoire :**

1. Test présomptif:

- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe (S/C) à raison de trois tubes par dilution.
- A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée.
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

2. Test confirmatif sur milieu Litsky :

- A partir des tubes positifs sur milieu Rothe (S/C), on procède à un repiquage dans un tube contenant milieu Litsky.
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

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

- **Lecture :**

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

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

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

I.2.3.5. Recherche de Clostridium Sulfito-Réducteurs :

Les Clostridium sulfite réducteurs sont principalement *Clostridium perfringens* qui sont des anaérobies sporulés .Hôte habituel du tube digestif de l'homme .Caractérise par la résistance de leurs spores et par un équipement enzymatique réduisant plus ou moins activement les sulfates en sulfures , sur des milieux appropriés (milieu à l'extrait de viande foie).En présence de sulfate de sodium et alun de fer .ils donnent après 24 h et 48 h des colonies entourées d'une auréole noir par formation de sulfate de fer. Cette coloration facilite leur dénombrement (Bourgeois et Levean,1980)

- **Mode opératoire :**

- 1- Préparation du milieu :**

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

- 2- Ensemencement :**

- Les tubes contenant les dilutions de lait cru 10^{-1} et 10^{-2} seront soumis :
 - d'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes dans bain marie.
 - puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.
- A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose Viande Foie dans chaque tube, agiter bien les tubes .
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes.

- **Incubation :**

Incubés les tubes à 37°C pendant 16, 24 heures ou au plus tard 48 heures.

- **Lecture :**

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

- d'une part les colonies de Clostridium Sulfito-réducteurs sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire.

- d'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm.

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

I.2.3.6. Recherche de *Staphylococcus aureus* :

Ils appartiennent à la famille de micrococcaceae , cette espèce se caractérise par une morphologie sphérique (cocci) , groupées en amas ressemblant à une grappe , se sont des bactéries gram positives , courtes , aéro-anaérobies facultative .Les espèces les plus rencontrées sont Staphylocoques aureus et Staphylocoques épidémies.

Les *Staphylococcus aureus* sont caractérisés par la possession d'une enzyme la coagulase qui transforme le fibrinogène du plasma en fibrine, ils ont un pouvoir susceptible de sécréter des entérotoxines (Leclerc et al., 1977).

- **Mode opératoire :**

- 1- Préparation du milieu d'enrichissement :**

- Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolliti Cantonii pour y ajouter 15 ml d'une solution de Téliurite de Potassium.
- Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

- 2 - Ensemencement :**

- A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile.
- Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement comme l'indique. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

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

- **Lecture :**

- Seront présumés positifs, les tubes ayant virés au noir.
- Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue , coulée en boîtes de pétri et bien séchées.

- Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.
- Si à la dilution 10^{-3} , le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman, il n'y a pas de colonies caractéristiques ; ce tube est considéré comme négatif.
- Si par contre à la dilution 10^{-1} , le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation, et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution.

I.2.3.7. La recherche des antibiotiques :

Les antibiotiques se retrouvant dans le lait inhibent la croissance des bactéries lactiques utilisées comme ferments en retardant ou en empêchant le développement des ferments.

Par ailleurs, la présence des antibiotiques dans les produits laitiers peut créer de graves problèmes de santé pour le consommateur de lait et produits laitiers, c'est pourquoi les industries laitières recherchent leur présence par différentes techniques.

- **Principe :**

La recherche des antibiotiques est un test qui se fait dès la réception du lait cru, par une méthode appelé Beta Star Combo.

Le test Beta Star Combo est une méthode basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il permet la détection rapide dans le lait des résidus de β - lactames et de la Tétracyclines.

- **Mode opératoire :**

- 0,2 ml de lait sont mis dans un flacon récepteur.
- Celui –ci est un incubé et agiter dans un appareil « Heater block » à 47,5°C pendant 3mn.
- Une bandelette est plongé dans le tube et incubée à 47,5°C pendant 2 mn pour les β - Lactames et 3mn pour les Tétracyclines).

- **Lecture :** La lecture se fait selon la coloration de la bandelette

- **Couleur rose :** Absence des antibiotiques.
- **Absence de coloration :** présence des antibiotiques correspondant à la bandelette.



Figure n°13 : Le test de Beta Star Combo pour la recherche des antibiotiques dans le lait cru (La salle de réception du lait cru au niveau de la Laiterie Sidi saada)

I-2-4. Préparations des échantillons de Camembert :

Les échantillons sont préparés dans la salle de production de la section camembert à la laiterie Sidi Saada.

C_{TM} +P : L'échantillon témoin (lait avec présure sans addition de TGM)

C_{TG 0,30g/l}+P : Une dose de 0,30 g/l de TGM additionné en parallèle avec la présure

C_{TG 0,15g/l}+P : Une dose de 0,15 g/l TGM additionné en parallèle avec la présure

C_{TG0,30g/l}/P : Une dose de 0,30 g/l TGM additionné avant emprésurage et laisser agir pendant 1 heure après une heure d'action de TGM on ajoute la présure.

C_{TG 0,30g/l}/P : Une dose de 0,15 g/l TGM additionné emprésurage et laisser agir pendant 1 heure après une heure d'action de TGM on ajoute la présure.

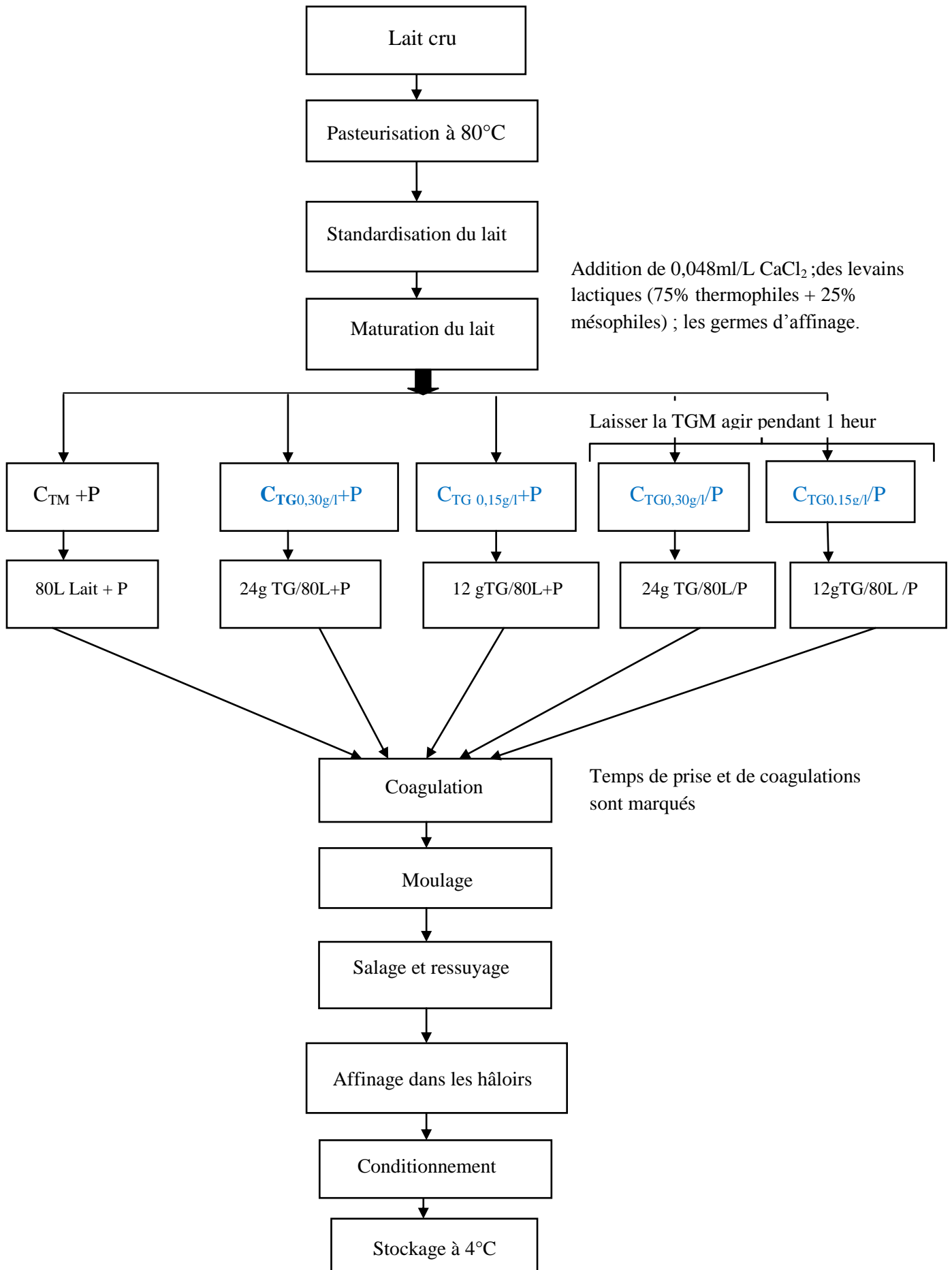


Figure n °14 : Schéma de processus de fabrication des échantillons du camembert



Figure n°15 : Les essais de lait additionné en transglutaminase et la présure

Figure n°16 : Les échantillons après salage



Figure n°17 : Les échantillons de camembert dans les hâloirs .



Figure n°18: Les échantillons de camembert conditionnés dans le séchoir .

II. Méthodes d'analyses :

Les analyses sont effectuées sur le lactosérum, le caillé après salage et sur le produit fini après l'affinage.

II.1. Les prélèvements :

Les analyses physico-chimiques portent sur un nombre total de 25 échantillons. Les prélèvements pour analyses microbiologiques sont en nombre de 5 pour chaque échantillon selon l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JORA n°35 du 27 mai 1998) .

II.2. Les analyses du lactosérum :

On procède au mêmes analyses physicochimiques appliqués sur le du produit fini (la teneur de la matière sèche, la teneur de la matière grasse , la teneur en protéine) , en plus du dosage du taux de lactose , le dosage de l'acidité titrable , et de la densité.

II.2.1. Le dosage de l'acidité titrable :

Arrêté du 18 octobre 2015 rendant obligatoire la méthode de détermination de l'acidité titrable dans le lait sec (JORA n°58 du 04/11/2015).

- **Principe :**

Prendre 10 ml de lactosérum dans un bécher, titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N, en utilisant de la phénolphtaléine comme indicateur colorée. Obtenir le nombre de millilitres de NaOH pour 10 ml de lactosérum. La quantité de solution d'hydroxyde de sodium nécessaire est en fonction de la quantité de substances tampons présente à l'état naturel dans le produit et de l'acidité ou de l'alcalinité apparue ou ajoutée (Mathieu ,1998).

- **Mode opératoire :**

- Dans un Erlen Meyer introduire 10 ml de lactosérum ajouter quelque gouttes de phénolphtaléine
- Titrer le contenu par addition, à l'aide de la burette, en agitant, de la solution d'hydroxyde de sodium , jusqu'à obtention d'une faible couleur rose persistant durant environ 5 secondes. La durée du titrage ne doit pas dépasser 45 secondes.

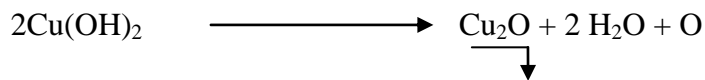


Figure n° 19: Un acidimètre (Laiterie Sidi saada).

II.2.2. Le dosage du lactose : (AFNOR, 1986).

- **Principe :**

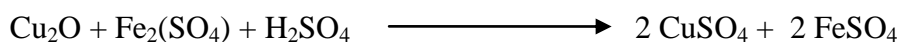
Les sucres aldéhyques ou cétoniques, glucose, lévulose, lactose, réduisent à l'ébullition la liqueur cupropotassique connue sous le nom de liqueur de Fehling.



Le dosage du lactose dans le lactosérum est effectué suivant la méthode de Gabriel Bertrand.

L'oxyde cuivreux Cu_2O précipité provenant de la réduction est dosé volumétriquement selon le mode opératoire donné par Gabriel Bertrand.

On emploie un excès de liqueur de cupropotassique .L'oxyde Cu_2O précipité est séparé par décantation et filtration, on le fait réagir sur une solution ferrique acide dont on prend un excès .la solution ferrique fait passer le cuivre monovalent à l'état divalent. Il est réduit et ramené à l'état ferreux.



Le sel ferreux formé est dose au moyen d'une liqueur titrée au permanganate de potassium .Par calcul, on obtient la quantité de sucre ayant réduit la liqueur cupropotassique.

- **Mode opératoire :**

- **Précipitation du Cu₂O :**

Dans un Erlen Meyer de 200 ml on met :

- 20 ml de lactosérum à doser au quel on lui ajoute 2 ml de ferrocyanure de potassium et 2ml d'acétate de zinc puis on complète le volume jusqu'au 200 ml d'eau distillé.
- On laisse reposer pendant 15 mn, à l'aide d'un entonnoir et un papier filtre on procède au filtrage.
- Dans un autre Erlen Meyer on prend 10 ml de filtrat et on lui ajoute 20 ml de liqueur cuivrique et 20 ml de liqueur alcaline.
- Sur une plaque chauffante et à une température douce on procède au chauffage jusqu'à ébullition, on maintient l'ébullition pendant 3 mn, on laisse refroidir la liqueur.

L'oxyde cuivrique rouge se dépose ; la couleur bleue de liqueur surnageante indique la présence d'un excès de cuivre.

- **Filtration :**

- On filtre la liqueur surnageante à la trempe sur un entonnoir filtrant en verre fritté N°4 , en ayant pris soin d'entraîner le moins possible de précipité. La surface filtrante retient la petite quantité d'oxyde cuivreux entraîné.
- Après repos de quelques minutes, on lave le précipité d'oxyde cuivreux avec environ 10 ml d'eau distillé .On agite et on laisse déposer, on décante sur filtre la liqueur surnageante, on procède à 5 lavages.



Figure n° 20: filtration de la liqueur surnageante sur un entonnoir filtrant en verre fritté N°4
(Laboratoire CACQE Oran)

➤ **Réduction du sulfate ferrique :**

- Dans un Erlen Meyer contenant l'oxyde cuivreux versé 10 à 20 ml de liqueur ferrique en remuant jusqu'à dissoudre entièrement l'oxyde cuivreux .On obtient une liqueur limpide de couleur vert eau.
- L'entonnoir filtrant rincé est placé sur la fiole à vide propre et on verse la liqueur précédente sur le filtre pour y dissoudre la petite quantité de Cu₂O qui a pu être entraînée dans la filtration .On rince l'Erlen Meyer avec de l'eau distillée, on verse sur le filtre 3 fois de suite , puis on rince le filtre avec quelques ml d'eau et on essore.

• **Dosage du sulfate ferreux formé :**

Dans la liqueur précédente contenue dans la fiole à vide, on fait écouler le permanganate de potassium à 0,1N .Le virage se fait à la goutte du vert au rose.

➤ **Calcul :**

On se reporte à la table dressées par Gabriel Bertrand .En face du nombre de ml de permanganate à 0,1N trouvé , la table donne le poids de sucre correspondant .Choisir la table qui correspond au sucre et tenir compte de la dilution de la solution.

II.2.3. 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'effleurement) la densité de l'échantillon de lactosérum à analyser. Elle est ramenée à 20°C par la formule suivante :

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

II.3.Les analyses des échantillons du camembert (produit fini) :

II.3.1. La prise de poids :

La prise de poids est réalisé à l'aide d'une balance électronique type KERN sur les différentes échantillons afin de voir la différence de poids depuis le ressuyage des échantillons après salage etendant une durée d'un mois.

II.3.2. Détermination de l'extrait sec total : (AFNOR, 1986)

• **Principe :**

La connaissance de l'extrait sec du produit est très importante dans la mesure où elle peut expliquer le comportement de la matière et son interaction avec le milieu externe. La détermination de la matière sèche est basé sur la perte d'eau suit à une dessiccation.

- **Mode opératoire :**

On pèse 03 g de fromage dans une capsule d'un poids bien déterminé l'introduire dans l'étuve à 103 °C pendant 03 heures, puis placer la capsule dans un dessiccateur pour refroidir, la pesée et l'introduire de nouveau dans une étuve jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives soit au plus de 0,10% de poids total.

- **Expression des résultats :**

Le résultat est exprimé de la manière suivante:

$$MS(\%) = 100x(P_1-P_2)/p$$

D'où: P_1-P_2 : Différence entre le poids du fromage avant et après dessiccation

P : Poids du fromage avant dessiccation



Figure n°21: Une étuve et un dessiccateur pour la détermination de l'extrait sec totale (Laboratoire CACQE Oran).

II.3.3. Détermination du P^H : (AFNOR, 1986).

- **Principe :**

Détermination en unité P^H de la différence de potentiel existant entre deux (02) électrodes plongées dans le produit à analysées (fromage camembert).

- **Mode opératoire :**

On plonger l'électrode dans le produit (fromage camembert) et en notant la valeur enregistrée bien sur après étalonnage du P^H -mètre avec l'utilisation des solutions tampons.

- **Expression des résultats :**

La valeur du P^H prise en considération correspond à la moyenne arithmétique des différentes valeurs enregistrées.

N. B : Avant chaque nouvelle mesure, on rince soigneusement l'électrode avec l'eau distillée et sécher à l'aide de papier joseph ou papier filtre.

II.3.4. Détermination de la matière grasse : (AFNOR, 1986)

- **Principe :**

Le principe est basé sur la séparation de matière grasse de fromage en une couche claire et transparente par centrifugation dans un butyromètre après attaque des éléments du produit, matière grasse et exceptée, par l'acide sulfurique, la séparation de la matière grasse est favorisée par l'addition d'une quantité d'alcool iso-amylque

- **Mode opératoire :**

- Peser 3 g de fromage camembert dans un godet du butyromètre.
- Introduire dans le butyromètre 15 ml d'acide sulfurique ($d= 1.525^*$) et ajuster avec dans un bain marie à 67 °C pendant 02 heures puis on ajoute 1 ml d'alcool iso-amylque (pour séparation les matières grasses) ajouter acide sulfurique 5 ml; centrifuger pendant 5 minutes et lire le résultat sur le butyromètre.

* $d=1.525$: H_2SO_4 à 66.14% (66.14 ml H_2SO_4 on complet a 100 ml avec l'eau distillée).

- **Mode de calcul :**

La teneur en matière grasse exprimée en g/Kg est égale à $(N'-N) \times 10$

Avec:

N': Valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse

N: Valeur atteinte par le niveau inférieur la colonne grasse.



Figure n°22 :Préparation de la prise d'essai pour le dosage de la matière grasse à l'aide d'un butyromètre



Figure n° 23: Centrifugeuse GERBER pour la détermination de la MG (Laboratoire OC Relizane)

II.3.5. Détermination du taux des protéines par formole titration (Multon, 1991).

- **Principe :**

C'est la méthode de Rose-Gottlieb proposé par Hylan et Khaled, 1984. Elle consiste à prendre 2gr de fromage au quel on lui ajoute 10 ml d'eau distillé et on agite jusqu'à ce que le fromage sera fondu, on prend 10ml d'échantillon auquel on ajoute 1 ml de phénophtaline et 0,4 ml d'Oxalate de potassium saturée. Le mélange est titré avec une solution de NaOH (N/10) jusqu'à l'apparition de la couleur rose.

Après addition de 2 ml de formaline pure, on refait le titrage jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante.

Un essai a blanc est nécessaire est consiste à ajouté 2 ml de formaline a 10 ml d'eau distillée puis titrer avec le NaOH (N/10).

- **Expressions des résultats :**

Soit V_1 : le volume de NAOH (N/10) nécessaire pour neutraliser l'échantillon après ajout de 2 ml de formaline.

Soit V_2 : le volume de NAOH (N/10) nécessaire pour neutraliser l'essai à blanc après adition de 2 ml de formaline.

La formule utilisée est:

$$(V_1 - V_2) 1.7 = \text{taux de protéine en \%}.$$

*1,7 : Est le coefficient du BAYNE.



Figure n° 24: Dispositif du dosage des protéine dans le camembert
(Labratoire O.C Relizane)

II .4. Les analyses bactériologiques du camembert:

II.4.1.Préparation des dilutions :

Arrêté du 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour essai et dilutions en vue de l'examen microbiologique ([JORA n° 70 du 07/11/2004](#)).

- **Mode opératoire :**

La dilution est généralement faite soit à l'aide d'eau physiologique , soit de solution de Ringer , ou le T.S.E (tryptone sel eau), agiter de façon prolongée l'échantillon pour remettre en suspension et d'une façon homogène les bactéries.

On pèse 10 de camembert auquel on ajoute 100 ml de T.S.E on agite vigoureusement , puis on introduit dans une série des tubes stériles correspondant au nombre de dilution à utiliser , 9 ml de T.S.E , prélever aseptiquement 1ml du produit à analyser à l'aide d'une pipette stérile et l'incorporer au premier tube. Agiter le tube de dilution 10^{-1} préparé.

A l'aide d'une nouvelle pipette stérile prélever 1ml de la dilution 10^{-1} et l'introduire dans un autre tube contenant le T.S.E , c'est la dilution 10^{-2} , agiter .Continuer de la même manière les autres dilutions voulus.

- **Durée des opérations :**

Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la dilution primaire et le mélange des dilutions et des milieux ne doit pas être supérieur à 15 minutes.

II.4.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux :

- **Mode opératoire** : C'est le même mode opératoire que celui du lait cru.

II.4.3. Les coliformes :

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées .
- Compléter ensuite chaque boîte avec environ 20 ml de gélose VRBL ou VRBG, fondue et refroidie à 45°C .
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.

➤ **Incubation** :

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

➤ **La lecture** :

- Que se soit à 37 ou à 44°C , les premières lectures se feront au bout de 24 h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse mais fluorescentes, ce qui signifie que la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV.
- Les autres colonies non fluorescentes ne sont ni des coliformes totaux ni des coliformes fécaux.



Figure n° 25 : Lampe pour lecture de colonies type FUNKE GERBER
(Laboratoire de laiterie Sidi Saada)

II.4.4. Recherche de *Staphylococcus aureus* :

Arrêté du 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre (JORA n °43 du 04/07/2004).

- **Principe :**

On inocule le la solution du camembert dans des bouillons d'enrichissement (dans celui de Giolitti et Cantoni) .Après incubation, on repique les tubes sur Chapman. Les colonies de staphylocoques qui se développent sur le milieu de Chapman sont soumises à l'épreuve de la coagulase.

- **Mode opératoire :** c'est le même que celui du lait cru .

II.4.5. Recherche de salmonella :

Arrêté du 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers ([JORA n° 42 du 15 juin 2005](#))

- **Principe :**

En général, la recherche des salmonella nécessite 4 phases successives :

- ✓ **Pré- enrichissement dans un milieu liquide :**

Ensemencement de la prise d'essai dans le milieu de pré-enrichissement approprié, puis incubation à 37° C durant 16h à 20h.

- ✓ **Enrichissement dans des milieux liquides sélectifs :**

- Ensemencement d'un milieu au tétrathionate et d'un milieu sélénite-cystine avec la culture obtenue
- Incubation du milieu au tétrathionate à 43°C et incubation du milieu sélénite cystine à 37°C durant 2 périodes de 18h à 24h.

- ✓ **Isolement et identification :**

A partir des cultures obtenues, ensemencement du milieu sélectif solide gélose au rouge de phénol et au vert brillant et gélose au sulfite de bismuth(Hecktoen). Incubation à 37° C et examen après 20h à 24h, et si nécessaire, après 40h à 48h, pour contrôler s'il y a présence de colonies, présumées être des salmonella en raison de leurs caractéristiques.

- ✓ **Confirmation :**

Repiquage des colonies présumées de Salmonella et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

- **Mode opératoire :**

- **Jour 1 : Pré-enrichissement :**

Prélever 25 gr de camembert dans un flacon stérile contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée, incuber à 37°C pendant 18 heures.

□ Jour 2 : Enrichissement :

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

- le d'un milieu au tétrathionate réparti à raison de 10 ml par tube,
- le milieu de Sélénite - Cysteïné réparti à raison de 100 ml par flacon.

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

- 0,1 ml en double pour les tubes de tétrathionate.
- 10 ml en double pour les flacons de Sélénite Cysteïné, comme l'indique le schéma n°8.

➤ Incubation :

- ✓ Le premier tube de tétrathionate sera incubé à 37°C, 24 h.
- ✓ Le deuxième tube de tétrathionate sera incubé à 43°C, 24 h.
- ✓ Le premier flacon de Sélénite sera incubé à 37°C, 24 h.
- ✓ Le deuxième flacon de Sélénite sera incubé à 43°C, 24 h.

□ Jour 3 : Isolement :

Chaque tube et chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur deux milieux gélosés différents à savoir :

- le milieu gélosé Hektoen
- le milieu gélosé Bilié lactosé au vert brillant et au rouge de phénol.

Toutes les boites ainsiensemencées seront incubées à 37°C pendant 24 h.

□ Jour 4 : Lecture des boites et Identification :

Les Salmonella se présentent de la façon suivante :

- colonies roses entourées d'une zone rouge sur gélose BLVBRP.
- colonies le plus souvent gris bleu à centre noir sur gélose Hektoen.

□ Identification morphologique et biochimique :

Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroulent comme suit :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Ensemencement d'un tube de Kligler (TSI) qui sera incubé à 37°C, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S),
- Ensemencement d'un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à 37°C, 24 h qui servira à l'agglutination sur lame.

- Ensemencement :
 - * soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Urée, Indole, Citrate de Simmons, VP, RM),
 - * ou d'une galerie biochimique API 20E.
- **Identification Antigénique :**

Cette dernière repose sur l'agglutination sur lame de verre, à partir des mêmes colonies isolées la veille sur GN inclinée en tubes , à l'aide des sérums anti O dit mélange .

II.4.6. Recherche de spores des germes d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs :

- **Méthode générale :**

C'est le même mode opératoire que celui du lait cru .

II .5. Les analyses sensorielles :

- **Objectif**

L'objectif est de positionner des produits différents selon l'intensité perçue d'une caractéristique sensorielle, la nature de la différence étant connue. Les produits sont présentés simultanément suivant un plan de présentation prédéfini (Watts et al.,1991).

- **Mode de déroulement**

Les tests sensoriels peuvent être divisés en deux catégories : affectifs et analytiques (Lawless et Heymann, 1998 ; Meilgaard et al., 1999). Les tests affectifs impliquent des consommateurs et leurs perceptions d'acceptabilité. Les tests analytiques impliquent le recours à des panélistes formés dont les réponses sont traitées comme des données instrumentales. La sélection des panélistes, leur formation et l'échelle d'évaluation adoptée sont des éléments clés de toute approche analytique descriptive.

Les tests descriptifs cherchent à décrire les produits testés qualitativement, le panel est constitué d'une quinzaine de personnes et sont pour la plupart habitués au goût du fromage camembert. La majorité des panélistes sont des Ingénieurs et Techniciens travaillant dans la structure SPA laiterie Sidi Saada.

Partie III
RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion:

Le but de cette étude est de déterminer l'effet de la transglutaminase sur la qualité organoleptique des fromages à pâte molle type camembert préparés à différentes doses de Transglutaminase. Lors de cette étude on a procédé à des analyses physico chimiques et microbiologiques de la matière première (lait cru) d'une part et un suivi de ces mêmes paramètres physico chimique et microbiologique du produit fini d'autre part en plus d'un panel de dégustation du produit fini.

I. Les analyses de la matière première :

I. 1. Les caractéristiques physico chimiques de la matière première (le lait cru pasteurisé):

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques recherchés du lait cru pasteurisé présentés dans le tableau n° 06, selon l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation (JORA n° 69 du 27/10/1993).

Tableau n° 06 : Résultats des analyses physico-chimique du lait cru pasteurisé

Les paramètres	Lait cru témoin	Norme algérienne (Arrêté interministériel du 18/08/1993)
Température C°	8	/
Matière grasse (g/l)	28	34 min
Matière sèche totale (g/l)	118	/
Matière sèche non grasse (g/l)	90	/
Taux de protéine (g/l)	32	32 g/l (norme AFNOR)
Taux de lactose (g/l)	47	/
Densité à 20 °C	1031,6	1030 - 1034
Point de congélation (C°)	-0,54	/
pH	6,68	/
Acidité (D°)	17	18 max

I.1.1. La matière grasse :

La teneur en matière grasse est de 28 g/l ce taux est faible par rapport aux normes de l'arrêté interministériel du 18/08/1993 qui tolèrent un taux de 34 g/l. selon (Coulon et Hoden, 1991), la mise à l'herbe (période coïncidant avec notre étude) s'accompagne d'une chute du taux butyreux jusqu'à 3 g/l, surtout si l'herbe offerte est jeune (Agabriel et al., 2001).

L'action des lipases du lait peut provoquer une hydrolyse partielle, le glycérol se retrouve alors partiellement estérifié (Vignola et al., 2002).

En outre, le taux butyreux contribue à la qualité gustative des fromages (Cauty et Perreau, 2009). Aussi des valeurs basses du taux butyreux jusqu'à 28 g/l, peuvent être dues à un écrémage frauduleux du lait ou bien à une traite incomplète des vaches. Selon (Apfelbaum et al., 2004) le taux de la matière grasse varie au moment de la traite de 2,5 à 5% en relation avec la quantité de lait

produite (plus la vache produit de lait ,moins il y'a de lipides et inversement) et en fonction de la saison (la vache produit moins de lait en hiver , aussi celui-ci sera plus riche en matière grasses que celui de l'été.

I.1.2. La densité :

Les analyses effectuées ont montrés que la valeur de la densité est de 1031,6 ce qui correspond aux normes de l'arrêté interministériel du 18/08/1993 qui est de 1030 à 1034. 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. Ainsi l'écémage du lait conduit à une augmentation de sa densité (Luquet, 1985).

Selon (Vignola et al.,2002) qui a montré que chacun des constituants agit sur la densité du lait. Puisque la crème à 35% possède une densité de 1.036. Etant donné que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure à 1, plus le lait contient un pourcentage élevé en matière grasse plus sa densité sera basse donc un écémage du lait augmente sa densité et un mouillage ou addition d'eau la diminuera. Cependant, (Bonnefoye et al., 2002) considèrent que pour des valeurs situées entre 1028 à 1032, la densité des laits est classée normale. D'autre part et considérant la période de l'étude, (Hassainya et al., 2006) montrent que généralement la densité du lait est maximale au printemps et minimale en automne,

I.1.3. L'acidité :

L'acidité du lait cru analysé est globalement acceptable avec une valeur de 17 D° ce qui correspond à la norme de l'arrêté interministériel du 18/08/1993 qui est de 18 D°. L'acidité retrouvée peut être naturelle. En effet, selon (Mathieu ,1998), le lait de vache en début de lactation présente une acidité titrable de 19°D à 20°D. En outre, le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, mais aussi des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (Labioui et al., 2009).

I.1.4.Le taux de protéines :

La teneur en protéines du lait cru illustré dans le tableau n° 06montre un taux de 32 g/l, cette teneur répond bien à la norme AFNOR qui est de 32 g/l , (Agabriel et al., 2001) ont par ailleurs démontré que le facteur génétique et la saison ont également un effet sur le taux butyreux et protéique du lait. Ces deux paramètres constituent de très bons indicateurs des rendements fromagers.

Selon (Croguennec et al., 2008) la teneur en protéine du lait de vache dépend de la race, du stade de lactation, de l'état sanitaire des animaux et dans une moindre mesure de la conduite des troupeaux et de l'alimentation .

I.1.5. Le taux de lactose :

Le taux de lactose dans le lait cru analysé est de 47 g/l, selon (Apfelbaum et al., 2004) le lait est constitué de 4,9 % à 5 % de glucides qui comprennent 97% de lactose. Cela est confirmé par (Romain et al., 2008) qui a déclaré que le lait contient entre 48 et 50 g/l de lactose ce qui représente 97% des glucides totaux du lait, les autres étant associés à la caséine κ , l' α -lactalbumine et aux immunoglobulines.

I. 2. Les analyses bactériologiques du lait cru pasteurisé :

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale du lait et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production jusqu'au stockage en cuve du lait cru. Les analyses bactériologiques du lait cru représentées dans le tableau n° 07 sont en général conformes selon l'arrêté interministériel du 24/01/1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23/07/1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JORA n°35 du 27 mai 1998).

Tableau n°07 : Résultats des analyses bactériologiques du lait cru pasteurisé

	Lait cru témoin	norme algérienne
Germes totaux à 30 C°	1200	10 ⁵
Coliformes fécaux	00	10 ³
Stréptocoques fécaux	00	Abs/0,1ml
Staphylococcus aureus	00	Absence
Colstridium sulfito-réducteur	00	50
Les antibiotiques	Absence	Absence

I.2.1. Flore totale mésophile aérobie :

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant de la durée de conservation du lait frais (Guinot-Thomas et al., 1995).

C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. L'énumération de cette flore pour le lait cru analysé révèle un nombre égal à 1200 ce taux inférieur à la norme édictée dans l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JORA n°35 du 27 mai 1998).

I.2.2. Streptocoques fécaux :

Les résultats des analyses effectuées révèlent l'absence des streptocoques fécaux dans le lait cru ce qui est conforme à la norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru. Les Streptocoques fécaux sont des indicateurs de contaminations fécales, et de

manipulations non hygiéniques. Selon (Waes ,1973), la thermorésistante des streptocoques D plaide en faveur du contrôle spécifique de leur nombre dans le lait cru. Ils peuvent survivre à la pasteurisation, mais non à la stérilisation. Selon (Veisseyre, 1975), les streptocoques fécaux résistent à une température de 88°C pendant 10 minutes.

I.2.3. Coliformes fécaux :

Les résultats des analyses effectuées révèlent l'absence des coliformes fécaux dans le lait cru analyser. Selon (Larpent, 1990), la présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

I.2.4. Staphylocoques aureus :

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru. Les résultats obtenus reflètent cette norme avec l'absence totale des *Staphylococcus aureus*. Selon (Dodd et Booth, 2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait.

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traire, elle peut en effet infecter six vaches qui suivent la traite d'une vache infectée, et enfin l'homme (Thieulon, 2005).

I.2.5. Les Clostridium Sulfuto réducteurs à 46°C:

Les résultats des analyses effectuées révèle l'absence des *Clostridium Sulfuto* réducteurs à 46 °C dans le lait cru ce qui est conforme à la norme Algérienne pour les *Clostridium Sulfuto* réducteurs.

1.2.6. La recherche des antibiotiques :

Les analyses effectuées sur le lait cru révèlent l'absence des antibiotiques (β - lactames et la Tétracyclines), les résultats sont considérés comme satisfaisants.



Figure n° 26: Résultat négatif (absence de β - lactames et la Tétracyclines) dans l'échantillon du lait de vache.

La présence des résidus d'antibiotiques administrés aux animaux dans un but préventif ou curatif dans le lait cru a pour effet de bloquer ou ralentir les fermentations microbiennes et conduire à une mauvaise ou une absence de coagulation du lait dans la cuve du fromager. (Vilkowske et Krienke, 1951) aurait vu que le traitement des mastites avec la pénicilline (100.000 unités par quartier) causerait pendant plusieurs jours, la présence dans le lait de quantités d'antibiotique suffisantes pour retarder la production d'acide lactique. Le maximum de concentration apte à empêcher le commencement de la fermentation.

La présence des antibiotiques dans le lait constitue un facteur limitant pour les laiteries parce qu'ils inhibent le processus de fermentation (Heeschen et Bluthgen, 1990). Les antibiotiques sont souvent à l'origine de potentiels risques toxicologiques pour le consommateur et de développement de bactéries résistantes aux antibiotiques vétérinaires (Kabir et al., 2004 ; Persoons, 2011)

Face à ces risques, l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation (JORA n° 69 du 27/10/1993) prohibe la présence des résidus des antibiotiques dans le lait de vache.

II. La fabrication des échantillons de camembert avec l'ajout de la TG microbienne:

II.1. Le temps de prise et de coagulation :

Au cours des essais de fabrication des camembert additionnée de transglutaminase on a remarqué un changement du temps de prise, les résultats portées dans le tableau n° 08 montre que :

- l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ a marqué un temps de prise de **6 mn 53s** avec un temps de coagulation égale à 26 mn par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui a marqué un changement du temps de prise égale à **4mn** avec un temps de coagulation égale à 10 mn .
- L'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ a marqué un temps de prise de **6mn 49s** avec un temps de coagulation égale à **25 mn** par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui a marqué un temps de prise égale à **2mn 30s** avec un temps de coagulation égale à 4 mn .

Ces temps de prise reflètent l'effet remarquable de la TGM dans l'accélération de la coagulation du lait par rapport au $C_{TM} + P$ qui a marqué un temps de prise égale à **9mn** avec un temps de coagulation égale à 36 à 40 mn .

Tableau n°08: Résultats du temps de prise et de coagulation des cinq échantillons.

	$C_{TM} + P$	$C_{TG0,30g/l+P}$	$C_{TG0,15g/l+P}$	$C_{TG0,30g/l/P}$	$C_{TG 0,15g/l/P}$
Temps de prise	9 mn	6 mn53s	6 mn 49 s	4 mn	2 mn 30 s
Temps de coagulation	36 à 40 mn	26 mn	25 mn	10 mn	4 mn

L'activité de la présure dépend du pH qui est de 4,20, de la température qui est de 39°C et la concentration en calcium, en plus l'effet des ferments lactiques qui favorise la coagulation. Il existe une corrélation linéaire entre la concentration en présure et le temps de coagulation, ce dernier devenant plus court à mesure que la concentration en présure augmente (Horne et Muir, 1994). Le taux de raffermissement et la fermeté du gel augmentent quant à eux avec la concentration en présure (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

L'action de la TGM sur la coagulation du lait n'est pas influencé par la présence du calcium ce qui correspond a la recherche de (Yamaguch,1999) qui a découvert que les enzymes ayant une possibilité d'augmenter le poids moléculaire de la protéine par une réaction de réticulation, le procédé de réticulation des protéines par la transglutaminase est bien connue.

Il est également connu que cette méthode a été largement utilisée principalement dans le domaine des aliments traité sur la base de la découverte d'un moyen peu coûteuse, la transglutaminase microbienne qui ne nécessite pas la présence de calcium pour la réaction.

Selon (Corcey et Lepage,1991) la coagulation du lait destiné à la fabrication du camembert est obtenu à la fois par acidification et par la présure , l'emprésurage d'un lait acide déclenche un durcissement très long du gel obtenu par l'action de présure , pouvant aller jusqu'à 9 fois le temps de prise cas de l'échantillon témoin .

Les recherches menées par (Mahmood et Sebo ,2009) et (Cozzolino et al., 2003) sur l'amélioration du rendement et les propriétés du fromage ont démontré que l'addition de la transglutaminase désactivé avec la pasteurisation avant l'addition de la présure empêche la coagulation du lait; alors que l'addition simultanée de la TGM et de la présure réduit de manière significative la résistance et la dureté du fromage, en plus de la teneur en protéines et la teneur en matières grasses dans le lactosérum.

Selon (Ozrenk,2006) la TGM est un outil utile pour modifier les propriétés rhéologiques des caséines sans endommager leurs propriétés fonctionnelles particulières. et lors de l'application TGM dans les produits laitiers, il est possible d'augmenter la résistance du gel, la viscosité de la surface, la capacité de rétention d'eau, la stabilité, la capacité de la présure et les propriétés mécaniques .

II.2. Les analyses physico chimiques du lactosérum :

Le tableau n°09 montre la différence des paramètres d'analyses entre les quatre échantillons par rapport à l'échantillon témoin ($C_{TM} + P$), puisque le lactosérum n'est pas normalisé.

II.2.1.Variation du pH :

Les analyses effectuées sur le lactosérum montre que le taux de pH des différents échantillons de lactosérum sont d'une valeur variante de 4,29 pour l'échantillon $C_{TM} + P$, et 4,40 pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l} + P$, 4,35 pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l} + P$, 4,43 pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l} / P$, et 4,38 pour l'échantillon $C_{TG 0,15g/l} / P$. Cette valeur de pH du lactosérum montre que la transglutaminase n'a aucune influence sur les variations du pH au cours de la coagulation.

II.2.2. Le taux de la matière grasse :

Les perte de la matière grasse dans le lactosérum sont faible pour tous les échantillons, cela est du a l'insolubilité des lipides dans l'eau, et au cour de la coagulation la matière grasse est retenu par les micelles de caséine avec une valeur de 0,7 g/l pour l'échantillon $C_{TM} + P$, 0,5 g/l pour les échantillon $C_{TG0,30g/l} + P$, $C_{TG0,15g/l} + P$ et $C_{TG 0,15g/l} / P$ et 0,6 g/l pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l} / P$

Tableau n°09 : Résultats des analyses physico-chimiques du lactosérum

	$C_{TM} + P$	$C_{TG0,30g/l} + P$	$C_{TG0,15g/l} + P$	$C_{TG0,30g/l} / P$	$C_{TG 0,15g/l} / P$
pH	4,29	4,40	4,35	4,43	4,38
Taux de matière grasse (g/l)	0,7	0,5	0,5	0,6	0,5
Taux de matière sèche totale (g/l)	7,5	7,6	7,8	7,2	7,5
Taux de matière sèche non grasse (g/l)	6,8	7,1	7,3	6,6	7
Acidité (D°)	22	22	22	22	23
Taux de protéine (g/l)	14	12	12	12	12
Taux de lactose %	4,19	4,8	4,46	4,5	4,3
Densité	1029	1030	1029	1029	1030

II.2.3. Le taux de la matière sèche :

Les analyses effectuées montrent aussi un taux de matière sèche semblables pour les quatre échantillons par rapport à l'échantillon témoin avec des valeurs de : 7,5 g/l pour l'échantillon $C_{TM} + P$; 7,6 concernant l'échantillon $C_{TG0,30g/l} + P$; 7,8 g/l pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l} + P$; 7,2 g/l pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l} / P$ et enfin 7,5 g/l pour l'échantillon $C_{TG 0,15g/l} / P$, ce qui indique que la TG microbienne n'a pas d'effet sur les pertes du lait .

II.2.4. Le taux de protéine :

D'après le tableau n°09 on remarque que le taux de protéines enregistrées dans les quatre échantillons est de la même valeur 12 gr/l, tandis que le taux de protéine dans l'échantillon témoin $C_{TM} + P$ est de 14 g/l, ce qui conforte l'effet de la TGM sur les protéines d'où les pertes des protéines dans le lactosérum pour les quatre échantillons additionné de TGM sont moins que celui de l'échantillon témoin fabriqué par la laiterie Sidi Saada.

Selon (Fox et Mcsweeney, 1998) environ 20% de la protéine totale du lait de vache appartient à un groupe de protéine généralement appelées protéines de lactosérum ou de sérum ou non-caséine azote. les lactosérums acides de présure contiennent également des peptides de caséine dérivés; tous les deux contiennent la protéose-peptone produite par la plasmin, principalement à partir de α -caséine, et celui-ci contient également (glyco) macropeptides produits par caillettes de K-caséine.

Les protéines contenu dans le lactosérum sont généralement des protéines soluble qui constitue une moyenne de 8 g (Luquet, 1990). Selon (Kuraishi et al., 2001) la transglutaminase réduit le taux de perte des protéines dans le lactosérum.

Des recherches ont été menés sur les protéines de lactosérum, ses recherches ont révélées que les protéines globulaires du lactosérum sont difficilement sensibles à la TGM, mais l'accessibilité de β -lactoglobuline et α -lactalbumine à une réaction catalysée par TGM peut être améliorée par un traitement avec un agent réducteur DTT (Dithiothreitol) ; qui clive les liaisons disulfures, conduisant à un dépliage de la protéine et résultant à une exposition de nouveaux sites potentiels de réticulation pour la TGM. Par ailleurs, le traitement thermique et l'application d'une pression hydrostatique élevée peut induire à une dénaturation de β -lactoglobuline, qui se traduit par une meilleure accessibilité pour les TGM qui est stable à haute pression, ce qui indique que la réticulation est possible (Reyad et Savello, 1993).

II.2.5. Le taux de lactose :

Pour le taux de lactose les analyses effectuées sur le lactosérum révèlent un taux de lactose équivalent pour tous les échantillons ($C_{TM} + P$, $C_{TG0,30g/l} + P$, $C_{TG0,15g/l} + P$, $C_{TG0,30g/l} / P$, $C_{TG 0,15g/l} / P$)

qui varie d'une valeur égale à 4,19 % pour l'échantillon témoin et 4,5 % , ce qui explique que la transglutaminase n'a aucun effet sur les glucides et particulièrement sur la teneur en lactose .

Le lactosérum est la phase aqueuse qui est extraite du coagulum lors de la fabrication des fromages , le lactosérum issu de la fabrication des pâtes molles , contient du lactose qui possède une solubilité faible par rapport à celle des autres sucre (Romain *et al.*,2008) .

II .3. les résultats des analyses du camembert :

II.3.1. Effet de la transglutaminase microbienne sur le poids :

Tableau n°10 : Résultats des variations du poids de l'échantillon C_{TM} +P

Nbre de pesés	J 1 (gr)	J+12 (gr)	J+19 (gr)	J+26 (gr)
1	285	280	250	285
2	290	230	270	270
3	280	235	278	255
4	265	280	270	257
5	250	285	290	265
6	305	255	250	260
7	260	250	255	270
8	295	295	265	255
9	275	255	260	275
10	310	250	285	260
Moyenne	281,5	261,5	267,3	265,2

Tableau n° 11: Résultats des variations du poids de l'échantillon C_{TG0,30g/l}+P

Nbre de pesés	J 1 (gr)	J+12 (gr)	J+19 (gr)	J+26 (gr)
1	310	255	257	240
2	300	280	246	235
3	275	260	242	250
4	295	255	255	238
5	285	260	260	258
6	290	260	250	240
7	290	290	280	235
8	315	260	241	230
9	330	270	255	240
10	310	265	265	250
Moyenne	300	265,5	255,1	241,6

Tableau n°12 : Résultats des variations du poids de l'échantillon C_{TG0,15g/l}+P

Nbre de pesés	J 1 (gr)	J+12 (gr)	J+19 (gr)	J+26 (gr)
1	310	300	254	250
2	310	255	290	256
3	295	260	260	255
4	310	255	250	240
5	275	260	256	250
6	270	295	255	254
7	330	260	270	244
8	305	255	254	280
9	320	270	255	270
10	300	295	280	270
Moyenne	302,5	270,5	262,4	256,9

Tableau n°13 : Résultats des variations du poids de l'échantillon C_{TG0,30g/l}/P

Nbre de pesés	J 1 (gr)	J+12 (gr)	J+19 (gr)	J+26 (gr)
1	305	260	298	280
2	295	295	302	290
3	280	275	293	365
4	275	320	305	260
5	275	290	325	300
6	310	270	290	285
7	335	265	280	290
8	325	305	240	290
9	325	300	270	255
10	325	315	300	260
Moyenne	305	289,5	290,3	287,5

Tableau n° 14: Résultats des variations du poids de l'échantillon C_{TG 0,15g/l}/P

Nbre de pesés	J 1 (gr)	J+12 (gr)	J+19 (gr)	J+26 (gr)
1	335	320	301	285
2	345	250	257	280
3	335	290	284	285
4	370	385	325	270
5	335	370	320	270
6	290	350	300	285
7	330	350	275	295
8	315	320	330	260
9	330	280	350	285
10	395	258	380	270
Moyenne	408,5	317,3	312,2	278,5

D'après l'analyse des tableaux des cinq échantillons on remarque une variation du poids :

J1 : la prise du poids durant la première journée après le salage des échantillons , on remarque que l'échantillon $C_{TM} +P$ révèle une moyenne de poids égale à **281,5 gr**, l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ a marqué un poids moyen correspond à **300 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ le poids moyen est de **302,5 gr**, tandis que l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ le poids moyen est de **305 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}/P$ la moyenne de poids est de **408,5 gr**.

J+12 : après 12 jours d'affinage dans les hâloirs le camembert diminue de poids qui est dû à la perte d'eau, l'échantillon $C_{TM} +P$ révèle une moyenne de poids égale à **261,5 gr**, l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ a marqué un poids moyen correspond à **265,5gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ le poids moyen est de **270,5 gr**, tandis que l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ le poids moyen est de **289,5gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}/P$ la moyenne de poids est de **317,3 gr**.

J+19: Après 19 jours les échantillons du camembert marquent une diminution du poids , l'échantillon $C_{TM} +P$ révèle une moyenne de poids égale à **267,3 gr**, l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ a marqué un poids moyen correspond à **255,1 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ le poids moyen est de **262,4 gr**, tandis que l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ le poids moyen est de **290,3 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}/P$ la moyenne de poids est de **312,2 gr**.

J+26 :Après 26 jours de stockage au froid les échantillons du camembert marquent les poids suivant : l'échantillon $C_{TM} +P$ révèle une moyenne de poids égale à **265,2 gr**, l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ a marqué un poids moyen correspond à **241,6 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ le poids moyen est de **256,9 gr**, tandis que l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ le poids moyen est de **287,5 gr**, pour l'échantillon $C_{TG0,15g/l}/P$ la moyenne de poids est de **278,5 gr**.

L'analyse de la variation du poids des différents échantillons montre que le poids des échantillons additionné à la TGM est plus élevés que celui de l'échantillon témoins , cela est dû à la réticulation des protéines sous l'effet de la TGM , ce poids commence à diminuer pendant la période d'affinage et après cette période , la perte de poids continue ; De nombreux travaux ont été consacrés à la valeur fromagère du lait, ce résultat se rapproche des travaux de (Maubois et Mocquot, 1967) qui ont constatés une variation considérable de la teneur en eau des fromages d'une fabrication à l'autre, voire même d'un fromage à l'autre. Ces différences de teneur en eau entraînent des variations parallèles du rendement en poids de fromage frais ou en poids de fromage sec.

Peu d'études ont été consacrées à la fabrication du camembert. (Mocquot et al., 1963) ont montré à partir de fabrications expérimentales, l'influence de la richesse du lait prise dans son ensemble, sur le rendement en fromage ; de plus ces mêmes auteurs , en triant les laits en laits

« riches » et laits « pauvres », ont tenté de définir le rôle joué par chacun des constituants: graisse d'une part, protéines d'autre part sur le rendement en fromage.

Une étude a été menée par (Maubois *et al.*,1970) dans le but de mettre en évidence les relations qui pouvaient exister dans des fabrications de fromages à l'échelle industrielle entre les différents composants du lait et le rendement en fromage de type Camembert d'une part et de type Saint-Paulin d'autre part. Cette étude résulte que l'incidence des variations de teneur en eau des fromages sur le rendement (de la transformation) du lait en fromage est si importante, dans le cas des fromages du type Camembert, elle masque le rôle joué par les deux constituants principaux du lait : protéines ou graisse. L'industriel fabricant des fromages de type pâte molle doit donc uniformiser au mieux ses fabrications (en ce qui concerne le poids moyen et la teneur en substance sèche) non seulement pour diminuer les marges de sécurité (qui autrement seraient indispensables) mais également pour mieux estimer la quantité d'un fromage de composition définie qui peut être obtenue avec le lait qu'il reçoit.

De ce fait, les relations existant entre les composants du lait de fabrication et le rendement en fromage peuvent être masquées par des différences d'égouttage dues à des facteurs bactériologiques ou technologiques que le fromager de pâte molle n'a pas su, ou n'a pas pu, contrôler, en lors de la pratique fromagère où les fromages sont souvent placés dans une atmosphère qui permet une certaine dessiccation. Pour ce qui concerne la diminution de la perte d'eau, (Hardy ,1983) et (Mpagana et Hardy ,1986) ont montré que cette diminution est provoquée par la migration du sel qui tend à s'équilibrer dans l'ensemble de la pâte.

II.3.2. Les analyses physico – chimiques du camembert :

II.3.2.1.Variation du taux de matière sèche totale :

Tableau n °15 : Résultats des variations du taux de la matière sèche totale en (%)

	J 1	J + 12	J +17	J + 24	J + 31
C_{TM} +P	40,74	46,56	46,48	48,2	48,94
C_{TG0,30g/l}+P	42	46,80	46,74	49,19	50,33
C_{TG0,15g/l}+P	41,26	46,52	46,68	49,46	49,52
C_{TG0,30g/l}/P	43,9	47,46	48,12	50,72	51,26
C_{TG 0,15g/l}/P	45,62	47,26	47,84	51,36	52,6

La norme : La norme de la matière sèche du camembert se confère à la norme codex stan 276 -1973 qui déclare que la teneur de la matière sèche est en fonction de la teneur en matière grasse dans l'extrait sec déclaré par le producteur sur l'étiquetage soit $MG/MS > 40 \%$, d'où la teneur en matière sèche minimale correspondante est de 41%.

D'après le tableau n°15, on peut déduire que le taux de la matière sèche correspond à la norme codex, on remarque aussi que les échantillons traités par la TG microbienne révèle un taux de matière sèche élevé .

J1 :le taux de la matière sèche de l'échantillon $C_{TG0,30g/l+P}$ est de 42% par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui présente un taux de matière sèche égale à 43,9 % ; le taux de la matière sèche de l'échantillon $C_{TG0,15g/l+P}$ est de 41,26 % par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui présente un taux de matière sèche égale à 45,62% ;ce qui reflète l'effet de la TGase sur la réticulation des protéines surtout pour les deux échantillons $C_{TG0,30g/l/P}$ et $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui ont subi une réaction pendant 1 heure avec la TGase qui ont présenté un taux de matière sèche élevée par rapport aux autre échantillons.

J + 12 : le taux de la matière sèche des échantillons après affinage marque une légère variation ,avec un taux de 46,80% pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l+P}$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui a présenté un taux de matière sèche égale à 47,46%, l'échantillon $C_{TG0,15g/l+P}$ a présenté un taux de matière sèche égale à 46,52 % par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui a marqué un taux de matière sèche égale à 47,26 % , tandis que l'échantillon témoin révèle un taux de matière sèche égale à 46,56% .

J +17 : le taux de la matière sèche des échantillons après affinage marque une légère variation ,avec un taux de 46,74% pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l+P}$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui a présenté un taux de matière sèche égale à 48,12%, l'échantillon $C_{TG0,15g/l+P}$ a présenté un taux de matière sèche égale à 46,68% par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui a marqué un taux de matière sèche égale à 47,84% , tandis que l'échantillon témoin révèle un taux de matière sèche égale à 46,48 % .

J + 24 : le taux de la matière sèche des échantillons après affinage marque une légère variation ,avec un taux de 49,19% pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l+P}$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui a présenté un taux de matière sèche égale à 50,72%, l'échantillon $C_{TG0,15g/l+P}$ a présenté un taux de matière sèche égale à 49,46% par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui a marqué un taux de matière sèche égale à 51,36% , tandis que l'échantillon témoin révèle un taux de matière sèche égale à 48,2 % .

J + 31 : le taux de la matière sèche des échantillons après affinage marque une légère variation ,avec un taux de 50,33 % pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l+P}$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui a présenté un taux de matière sèche égale à 51,26 % , l'échantillon $C_{TG0,15g/l+P}$ a présenté un taux de matière sèche égale à 49,52% par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui a marqué un taux de

matière sèche égale à 52,6% , tandis que l'échantillon témoin révèle un taux de matière sèche égale à 48,94 % .

L'extrait sec est une variable explicative observée dans notre travail alors qu'il est généralement considéré comme le facteur dominant de la texture des fromages. L'étude par régression multiple progressive effectuée par (Ruegg et Blanc,1976) indique d'ailleurs que l'extrait sec est la variable la plus explicative de la texture. Ils révèlent cependant que les variations de pH ont une plus grande influence sur la texture que les variations d'extrait sec.

II.3.2.2.Variation du taux de matière grasse :

Tableau n°16 : Résultats des variations du taux de la matière grasse en (gr/l)

	J 1	J + 12	J + 17	J + 24	J + 31
C_{TM} +P	20	22,5	22	24	22
C_{TG0,30g/l}+P	17,5	22	22,5	24	21
C_{TG0,15g/l}+P	20,5	22	23	23	22,5
C_{TG0,30g/l}/P	21	21	23	24	21,5
C_{TG 0,15g/l}/P	23	22	23	24	22

La norme : La norme de la matière grasse du camembert se confère à la norme codex stan 276 - 1973, elle exprimé en matière grasse laitière dans l'extrait sec (40% à 45%),soit 18,4g/l min à 20,7 g/l max.

D'après le tableau n°16, on peut déduire que le taux de la matière grasse correspond à la norme codex, on remarque aussi que la TG microbienne n'a pas un effet sur la variation de la matière grasse.

J1 :le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,30g/l}+P est de 17,5g/l par rapport à l'échantillon C_{TG0,30g/l}/P qui présente un taux de matière grasse égale à 21g/l; le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,15g/l}+P est de 20,5 % par rapport à l'échantillon C_{TG 0,15g/l}/P qui présente un taux de matière grasse égale à 23 g/l; pour l'échantillon témoin le taux de la matière grasse est de 20 g/l.

J + 12 : le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,30g/l}+P est de 22 g/l par rapport à l'échantillon C_{TG0,30g/l}/P qui présente un taux de matière grasse égale à 21g/l; le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,15g/l}+P est de 22% par rapport à l'échantillon C_{TG 0,15g/l}/P qui présente un taux de matière grasse égale à 22g/l; pour l'échantillon témoin le taux de la matière grasse est de 22,5g/l.

J +17 : le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,30g/l}+P est de 23 g/l par rapport à l'échantillon C_{TG0,30g/l}/P qui présente un taux de matière grasse égale à 24 g/l; le taux de la matière grasse de l'échantillon C_{TG0,15g/l}+P est de 26 % par rapport à l'échantillon C_{TG 0,15g/l}/P qui présente

un taux de matière grasse égale à 24 g/l; pour l'échantillon témoin le taux de la matière grasse est de 23 g/l.

J + 24 : le taux de la matière grasse de l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ est de 25 g/l par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui présente un taux de matière grasse égale à 24 g/l; le taux de la matière grasse de l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ est de 15 g/l par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui présente un taux de matière grasse égale à 24 g/l; pour l'échantillon témoin le taux de la matière grasse est de 26 g/l.

J + 31 : le taux de la matière grasse de l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ est de 25,5 g/l par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui présente un taux de matière grasse égale à 21,5 g/l; le taux de la matière grasse de l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ est de 26,5 g/l par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui présente un taux de matière grasse égale à 22 g/l; pour l'échantillon témoin le taux de la matière grasse est de 26 g/l.



Figure n° 27: La lecture de la matière grasse de deux échantillons de camembert sur le butyromètre.

L'analyse des résultats d'analyses illustrent dès le premier jour de fabrication que les échantillons répondent à la norme codex concernant le taux de la MG, qui varie entre 17,5 g/l à 23g/l, le taux butyreux augmente légèrement pour diminuer après un temps d'affinage, cela est due à l'action de la lipolyse au cours de l'affinage sous l'effet de la lipase des bactéries lactiques.

Selon (Vignola et al.,2002) la coagulation correspond à une déstabilisation des micelles de caséines qui flocculent puis se soudent pour former un gel emprisonnant des éléments du lait, le caillé produit contient la caséine et la matière grasse .

Les protéines jouent un rôle majeur dans la texture des fromages car elles en constituent la seule phase solide continue. En effet, des études par microscopie électronique ont révélé qu'elles forment un réseau qui piège les globules gras et le lactosérum. Toute modification de la nature des protéines présentes dans le fromage aura une répercussion sur ses propriétés rhéologiques . La

protéolyse conduit à une pâte moins ferme et moins élastique (Vassal et al., 1986) ; (Lebars et al., 1982) ont trouvé les mêmes allures d'évolution lors de leur étude sur le camembert.

La TGM n'a pas d'effet directe sur la matière grasse, mais son action sur la caséine du lait est connue rappelant que les caséines principales protéines du lait sont de bons substrats particulièrement pour la TGM cela est dû principalement à leur nature souple avec peu ou pas de structure secondaire, en plus de l'absence de liaisons disulfures entre caséines α - et β , facilite la réaction de réticulation de l'enzyme (Jaros et al., 2006) ; en outre la formation de ce réseau protéique peut retenir la matière grasse d'où l'effet indirecte de la TGM.

Néanmoins le taux butyreux diminue au cours de l'affinage pour atteindre un taux de 22 g/l pour tous les échantillons cela est dû à une lipolyse sous l'action de l'enzyme la lipase bactérienne en libérant un diglycéride qui va subir d'autres dégradations biochimiques et un acide gras libre car, soulignant que la lipase naturelle du lait est détruite durant la pasteurisation (Vignola et al., 2002).

II.3.2.3. Variation du pH :

Tableau n° 17: Résultats des variations du pH.

	J 1	J + 12	J + 17	J + 24	J + 31
C_{TM} +P	4,96	4,26	4,55	5,06	6,06
C_{TG0,30g/l}+P	5,01	5,3	4,37	5,08	6,85
C_{TG0,15g/l}+P	4,98	4,89	4,82	5,08	5,57
C_{TG0,30g/l}/P	4,93	4,89	4,93	5,06	5,90
C_{TG 0,15g/l}/P	4,95	4,77	4,92	5,36	6,80

La variation du pH des échantillons traités par la transglutaminase par rapport au témoin montre une variation normale du pH du premier jour de production avec un pH acide, jusqu'à l'affinage du camembert avec un pH neutre. L'ajout de la transglutaminase n'a aucun effet sur les variations de la valeur de pH.

L'influence du pH sur la texture du camembert a été étudiée par (Vassal et al., 1986). En incubant des caillés nonensemencés en *Penicillium camemberti* en présence d'une atmosphère ammoniacale, l'ammoniac se fixe en périphérie et simule les variations de pH créées par le *Penicillium* sans qu'il y ait de protéolyse. Des variations de texture sont observées entre pH 4,5 et 6,0. Elles sont peu importantes lorsque le pH reste proche de 4,5 mais deviennent beaucoup plus lorsqu'il est voisin ou supérieur à 5,0.

Cela révèle que le pH est un paramètre qui influence le plus sur la texture du camembert. Son augmentation, qui est due à la consommation de l'acide lactique et à la production de composés alcalins par la flore de surface et principalement par le *Penicillium*, joue donc un rôle majeur dans l'amollissement de la pâte du camembert. Ceci est vérifié l'augmentation du pH reste non négligeable

(pH de l'ordre de 5,5-6,0 en fin d'affinage au lieu de 4,5 après fabrication (Lenoir, 1963).

Sur des fromages à pâte molle dépourvus de flore de surface et de forte teneur en eau (environ 59 %), (Noomen,1978) a observé que le pH est également un facteur majeur pour l'amollissement de la pâte, une valeur de 5,2 permettant d'obtenir une pâte très souple.

Au cours de la maturation du camembert l'élévation du pH et l'augmentation de la protéolyse se produisent conjointement. Les deux phénomènes sont due à la flore de surface et présentent des courbes d'évolution voisines (Lenoir, 1963).

L'action de la présure, en particulier sur la caséine α_{s1} , serait également nécessaire pour obtenir le ramollissement de la pâte. L'influence de l'augmentation du pH sur la texture peut s'expliquer par son action sur les caséines.

Des études sur le camembert traditionnel ont montré le pH est, après fabrication, de l'ordre de 4,5 à 4,6, c'est-à-dire proche du point isoélectrique des caséines. Lorsqu'il remonte, la charge nette des caséines augmente et les interactions protéines-protéines et protéines-eau sont modifiées. Les caséines s'éloignent de leur zone d'insolubilité et leur capacité de sorption d'eau augmente (Ruegg et Blanc, 1976). Ces modifications influent sur le réseau protéique tridimensionnel qui constitue la « charpente » des fromages et expliquent les variations de textures observées.

II.3.2.4.Variation du taux de protéines :

Tableau n°18 : Résultats des variations du taux de protéines en (%).

	J 1	J + 12	J + 17	J + 24	J + 31
C_{TM} +P	18,4	19,89	19	18,7	19,7
C_{TG0,30g/l}+P	19,9	20,06	22	22,5	20,1
C_{TG0,15g/l}+P	20	20,23	22,25	22	19,2
C_{TG0,30g/l}/P	21,8	22,2	23,7	20	19,7
C_{TG 0,15g/l}/P	22	22,2	22,9	20	19,7

D'après l'analyse du tableau n°18, on remarque une variation du taux de protéine par rapport à leur témoin.

J1 :le taux de protéine de l'échantillon C_{TG0,30g/l}+P est de 19,9 % par rapport à l'échantillon C_{TG0,30g/l}/P qui présente un taux de protéine égale à 21,8 % ; le taux de protéine de l'échantillon C_{TG0,15g/l}+P est de 20 % par rapport à l'échantillon C_{TG0,15g/l}/P qui présente un taux de protéine égale à 22 % ; pour l'échantillon témoin C_{TM} +P le taux de protéine est de 18,4 % ; ce qui reflète l'effet de la TGase sur la réticulation des protéines surtout pour les deux échantillons C_{TG0,30g/l}/P et C_{TG 0,15g/l}/P qui ont subi une réaction pendant 1 heure avec la TGase qui ont présenté un taux de protéine élevée par rapport aux autre échantillons.

J + 12 : le taux de protéine des échantillons après affinage marque une légère variation, avec un taux de 20,06 % pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui a présenté un taux de protéine égale à 22,2 %, l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ a présenté un taux de protéine égale à 20,06 % par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui a marqué un taux de protéine égale à 22,2% , tandis que l'échantillon témoin $C_{TM} +P$ révèle un taux de protéine égale à 19,89 % .

J +17 : le taux de protéine des échantillons après affinage marque une légère variation ,avec un taux de 22 % pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui a présenté un taux de protéine égale à 23,7 %, l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ a présenté un taux de protéine égale à 22,25% par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui a marqué un taux de protéine égale à 22,9 % , tandis que l'échantillon témoin $C_{TM} +P$ révèle un taux de protéine égale à 19 % .

J + 24 : le taux de protéine des échantillons après affinage marque une légère variation, avec un taux de 22,5 % pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui a présenté un taux de protéine égale à 20 %, l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ a présenté un taux de protéine égale à 22 % par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui a marqué un taux de protéine égale à 20 % , tandis que l'échantillon témoin $C_{TM} +P$ révèle un taux de protéine égale à 18,7 % .

J + 31 : le taux de protéine des échantillons après affinage marque une légère variation, avec un taux de 20,1 % pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l}+P$ par rapport à l'échantillon $C_{TG0,30g/l}/P$ qui a présenté un taux de protéine égale à 19,7 %, l'échantillon $C_{TG0,15g/l}+P$ a présenté un taux de protéine égale à 19,2 % par rapport à l'échantillon $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui a marqué un taux de protéine égale à 19,7 % , tandis que l'échantillon témoin révèle un taux de protéine égale à 19,7 % .

Dans le cas précis du camembert, on a observé un amollissement de la partie externe du fromage au cours de la maturation. Cette zone modifiée s'étend progressivement vers l'intérieur et dans le cas des fromages ayant une teneur en eau, trop élevée, on peut même observer l'obtention d'une pâte coulante. Ce changement de texture était généralement attribué à l'activité des protéases synthétisées par le *Penicillium camemberti* (Koryc et al., 1983). En fait, (Lenoir ,1963) et (Noomen, 1978) ont montré que la diffusion de ces enzymes est limitée aux premiers millimètres sous la croûte et ne peut, par conséquent, expliquer à elle seule le phénomène rhéologique observé. Outre la protéolyse, d'autres paramètres physico-chimiques gouvernent la texture des fromages, parmi lesquels interviennent en premier lieu les teneurs en eau, en matière grasse mais aussi les teneurs en calcium, en sel et le pH (Chen et al., 1979).Ce qui explique par la double activité du *Penicillium* (protéolytique et désacidifiante) lors de sa croissance. Parmi les corrélations entre l'effet de la TGM et les autres variables, taux de protéine et le matière sèche présentent des valeurs élevées respectivement de $C_{TG0,30g/l}/P$ et $C_{TG 0,15g/l}/P$ qui présente un taux de protéine et matières sèche plus

élevés que les autres échantillons , malgré la protéolyse que le camembert peut subir pendant l'affinage. Lors de la régression multiple progressive, trois variables ont été retenues pour expliquer la variation de l'effet la TGM ,Ce sont par ordre d'importance l'extrait sec, le poids et le taux de protéine.

Dans différentes études, les corrélations entre la composition ou les paramètres de fabrication des fromages et leurs propriétés texturales ont été examinées la plupart de ces études ont été réalisées pour spécifier l'importance de l'affinage du fromage. L'étude des propriétés des fromages a montré que leur fermeté, mesurée par pénétrométrie, évolue lors de l'affinage (Lebars et al., 1982).

Les protéines du lait, en particulier la caséine, ont le potentiel d'être de bons substrats pour la réticulation par la TG microbienne (Sharma,2001). La réticulation de protéines conduit à la formation de dimères, trimères et plus grande protéine polymères. Sans aucune interférence, la réticulation se poursuivra jusqu'à ce que la glutamine ou lysine deviennent indisponibles à l'enzyme. Dans des conditions appropriées de : pH, une concentration en protéine et un rapport substrat / enzyme , la gélification de la protéine réticulée est souvent l'effet principal (Schorsch et al.,2000) .

II.3.3.Les analyses microbiologiques du camembert :

Tableau n°19 : Résultats des analyses microbiologiques des échantillons du camembert.

	$C_{TM +P}$	$C_{TG0,30g/l+P}$	$C_{TG0,15g/l+P}$	$C_{TG0,30g/l/P}$	$C_{TG 0,15g/l/P}$	Norme
Germes totaux à 30 C°	4000	3900	4400	4040	4090	/
Coliformes fécaux	206	150	200	100	240	10^2
Coliformes totaux	15	20	20	30	10	10
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence
Staphylocoques	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10^2
Clostridium sulfito-réducteur	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1

Norme : selon le l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JORA n°35 du 27 mai 1998) .

Les analyses bactériologiques montre l'absence des germes contaminants (*Staphylocoques aureus* , *Clostridium SR*, et les salmonelles) dans les différentes échantillons du camembert, l'absence de ces germes est la conséquence d'utilisation de lait de bonne qualité bactériologiques et aussi à une bonne pasteurisation, par contre les analyses bactériologiques révèle

la présence des germes totaux et des coliformes fécaux qui dépasse les normes prescrit , cela est dû à une contamination et le non respect des bonnes pratiques de manipulation.

Sauf pour l'échantillon $C_{TG0,30g/l/P}$ qui se trouve dans le seuil de la norme pour les coliforme fécaux et l'échantillon $C_{TG 0,15g/l/P}$ qui se trouve dans le seuil de la norme des coliformes totaux.

En remarque aussi que la TGM n'a aucun effet sur la charge microbienne et son développement dans le camembert.

II.3.4. Les analyses sensorielles :

Aucun instrument ne peut reproduire ou remplacer la réaction humaine, ce qui fait que l'élément «évaluation sensorielle» de toute étude alimentaire est essentiel .Un panel d'analyse sensorielle doit être considéré comme un instrument scientifique si on veut obtenir des résultats fiables et valides (Watts et al.,1991).

L'empirisme gustatif repose sur la perception des odeurs , des sapidités , des saveurs, des textures et des températures aurait donc ses limites parcequ'une saveur n'est pas un objet mais une qualité , en d'autre terme une image sensorielle acquise - donc réactivé dans la mémoire – qui ne peut que faire l'objet d'une reconnaissance (Erman ,2009) .

Les membres du jury de la laiterie ont procédé à donner des termes descriptifs de la texture et de l'arôme qui ont été librement émis par les membres du groupe au cours de dégustation de camembert traités par l'enzyme TGM fabriqué au niveau de la Laiterie de Sidia saada.

A partir de ces résultats, des fiches de dégustation ont été mises au point par les membres du groupe de façon à tendre vers une unité de langage. La technique d'analyse descriptive quantitative utilisée a permis de distinguer par quels caractères de texture et de saveur les fromages expérimentaux fabriqués à la laiterie Sidi saada (à partir de lait de vache cru) se distinguaient de fromages traités par l'enzyme TGM , les résultats des tests de dégustation des échantillons de camembert sont résumés dans le tableau .

Une bonne corrélation a été observée avec les appréciations du jury en ce qui concerne la texture et la fermeté des fromages par rapport au analyses effectuées .tout les fromages ont été appréciés par les dégustateurs , la majorité des membres de jury de dégustation interrogés lors de l'évaluation sensorielle estiment que les échantillons de camembert dégustés sont de bonne qualité organoleptique , d'où il ressort après l'analyse des fiches de dégustations que le camembert fabriqué à base de lait de vache cru avec une dose de 0,15 g/l de transglutamiase microbienne avant emprésurage ($C_{TG 0,15g/l/P}$) est le plus apprécié que les autres échantillons de camembert .

Tableau n° 20 :Résumé des résultats d'analyses sensorielles du camembert traités par l'enzyme Transglutaminase microbienne

Les échantillons		C _{TG0,30g/l+P}	C _{TG0,15g/l+P}	C _{TG0,30g/l/P}	C _{TG 0,15g/l/P}
Etat de la surface (la croûte)	Surface	duveteux	duveteux	duveteux	duveteux
	Etat	Fine	Fine	Fine	Fine
	Couleur	Blanche	Blanche	Blanche	Blanche
Pâte	Couleur	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle
	Elasticité	Fondante et pâteuse	Pâteuse	Fondante et pâteuse	Pâteuse et peu cassante
	Homogénéité	homogène	homogène	homogène	homogène
Arômes	Lactique	Lactique (petit lait)	Lactique (petit lait)	Lactique (petit lait)	Lactique (petit lait)
	Animal				
	Autre				
Intensité		Typée	Typée	Typée	Typée
Saveurs	Confirmer ou infirmer les arômes perçus en olfactif	Salé légèrement acide	Peu salé	Légèrement salé	Neutre
	Décrire la saveur, la sensation et la finale en bouche	Agréable et fondante	Agréable et onctueuse	Agréable et onctueuse	Agréable et fondante
<p>Conclusion : l'échantillon C_{TG 0,15g/l/P} avec une dose de 0,15 gr/l de TGase est le plus apprécié par les dégustateurs est l'échantillon C_{TG 0,15g/l/P} en premier lieu et l'échantillon C_{TG0,15g/l+P} en deuxième lieu .</p>					

Conclusion

Conclusion

A travers cette étude, nous avons évalué le l'effet de la transglutaminase sur la qualité organoleptique du fromage à pâte molle type Camembert. Ainsi, des échantillons de lait cru traités avec de dose différentes de l'enzyme TG microbienne 0,30g/l et 0,15 g/l avant et après emprésurage pour l'obtention d'un camembert. Le temps de prise et de coagulation ont été enregistré reflète l'effet de la transglutaminase microbienne sur la coagulation du lait.

Les échantillons de camembert ont fait l'objet d'une étude microbiologique portant sur cinq flores bactériennes. Nous avons également déterminé quelques caractéristiques physico-chimiques des échantillons de camembert ainsi qu'une éventuelle analyse sensorielle .

Les résultats des analyses physico-chimiques ont révélés que le poids des échantillons de camembert traités par la TGM varie avec une moyenne de 329 gr après salage et 285,7 gr après l'affinage pour atteindre un poids moyen égale à 266,12 gr après 26 jours. Toutefois les valeurs de pH de tous les échantillons varient selon le stade d'affinage du camembert ce qui indique l'enzyme TGM n'a aucun effet sur les variations de pH enregistrer, pour le taux de l'extrait sec les analyses ont révélés que le taux de la matière sèche varie durant les différents stade surtout au cours de l'a affinage compris dans des intervalles correspondant aux normes codex retenues pour ce produit, avec une moyenne d'extrait sec variant de 47,012% et 48,29 %. Toutefois, le taux butyreux est en moyenne, 21 g/l à 22 g/l, il dépend essentiellement du facteur alimentaire, en ce qui concerne le taux de protéine le taux varie entre 20% à 22 % mais diminue au cours de l'affinage cela est due à la protéolyse , les variations du pH marquent des valeurs comprise entre 4 durant le premier jour de fabrication et continue a augmenter pour atteindre une valeur significatif égale à 6 durant l'affinage cette variation explique les réactions produite au cours de l'affinage sous l'effet des enzymes d'affinage. Ces résultats reflète l'effet de la TGM sur la réticulation des protéines par la variation du taux de protéines et le taux d'extrait sec ainsi l'augmentation du poids ce qui influe sur le rendement et son effet indirecte sur le taux butyreux.

Les résultats microbiologiques reflètent l'absence des germes pathogènes mais la présence des coliformes totaux et des coliformes fécaux dépassent les normes national prescrites pour ce produit ; il faut signaler que la TGM n'a aucun effet sur la charge microbienne du camembert , son action est spécifique au protéine du lait (la caséine).

L'analyses sensorielles des échantillons de camembert traités avec la TGM ont révélés que ces échantillons sont appréciés par les personnes dégustateurs , surtout le camembert traité avec 0,15 g/l de TGM avant emprésurage qui présente une bonne texture .

Pour notre part, nous envisageons de poursuivre ce travail pour l'élargissement de l'étude de l'effet de la TGM sur d'autres produits ,car les perspective de l'utilisation des enzymes dans l'industrie alimentaire représente un défi pour les scientifiques , dans le but d'améliorer la qualité de ses produits , et de s'abstenir des additifs alimentaires que les recherches actuelles ont prouvé d'un jour à l'autre son effet néfaste sur la santé du consommateur ; ce qui oblige les chercheurs , et les législateurs, ainsi que les technologues de trouver d'autres source de produits améliorant la qualité des aliments et qui ne présentent pas un risque sur la santé et l'intérêt matériel du consommateur .

Pour cela on suggère ici les perspectives les plus pertinentes aux résultats obtenus dans cette étude :

- Approfondir les études sur l'effet de la TGM sur l'amélioration de la qualité des produits laitiers en introduisant des méthodes de recherches plus sophistiqué.
- Vu son effet sur la coagulation et l'amélioration du produit fini on suggère d'étudier les possibilités d'application de la TGM chez les industries laitières , mais dans le sens d'apparition d'une législation approprié .
- Consacrées des études de caractérisation de nouveau produits de la famille de TG, ainsi que de diversifier son applications dans les secteurs industriels .
- L'extraction de la TG microbienne industriellement a partir des microorganisme.
- Trouvez d'autre source de produits texturants et améliorants d'origine naturelle pour remplacer les additifs alimentaires artificielle utilisé en industrie alimentaire .

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- **Abd-Rabo FHR., EI-Dieb SM., Abd-EI-Fattah AM., Sakr SS .(2010).**Natural state changes of cows' and buffaloes' milk proteins induced by microbial transglutaminase. *Journal Américain Sciences*.pp: 612–620.
- **Adhikari, K., Heymann, H., et Huff, H. E. (2003).** Textural characteristics of low fat, full fat and smoked cheeses: sensory and instrumental approaches. *Food Quality and Preference review*. 14, 211- 218.
- **Agabriel C., Coulon J.B., Journal C. et De Rancourt B. (2001).** Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du massif central. *INRA. Prod. Anim.*, 14(2). pp : 119-128.
- **Alais C.,Linden G.,Miclo L.(1997) .**Biochimie alimentaire .*Edition Masson. Paris*.pp:180 - 183.
- **Ando H, Adachi M, Umeda K, Matsuura A, Nonaka M, Uchio R, Tanaka H and Motoki M.(1989).** Purification and characteristics of novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry journal*. 53,2613–2617.
- **Apfelbaum M., Romon M. et Dubus M.(2004).**Diététique et nutrition. *Edition Masson .Paris*. pp: 314 -319.
- **Association Francaise de Normalisation –AFNOR .(1986).** Fromages, Recueil de normes françaises. Laits et produits laitiers. Méthodes d'analyse. *AFNOR Edition .Paris*.pp: 104-105.

B

- **Bonnefoye C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. *Edition Biosciences et Techniques.Paris*. pp :138.
- **Branger A. , Richer M. M. et Roustel S. (2007).** Microbiochimie et alimentation .*Edition Educagri . Dijon* . pp : 169 - 231.
- **Buchert J., Ercili-Cura D., Gasparetti C., Monogioudi E., Faccio G.,Mattinen M., Boer H., Partanen R., Selinheimo E., Lantto R., and Kruus K.(2010).** Crosslinking food proteins for improved functionality. In Doyle, M. P.and Klaenhammer, T. R. (Co-Eds.). *Annual Review of Food Science and Technology*. vol. 1 .pp: 113–138.
- **Bourgeois C. et Levean J.Y.(1980).**Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro- alimentaires.volumeIII . *Edition Technique et Documentation . APRIA. Paris* : 126-140.
-

C

- **Caballero P.A et Bonet A.(2005).** Effect of microbial transglutaminase on the rheological and thermal properties of insect damaged wheat flour. *Journal of cereal science* . pp: 42, 93-100.
- **Cauty I. et Perreau J-M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2eme édition France Agricole.
- **Chambi H. et Grosso C. (2006).**Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with Transglutaminase . *journal of Food research international*.39. pp:458-466.
- **Cheftel J.C. (1978).**Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments-volume Iet II. *Edition technique et documentation Lavoisier.Paris*.pp :381.
- **Chen A.H., Larkin J.W., Clark C.J. et Irwin W.E. (1979).** Textural analysis of cheese . *Journal Dairy of Science* . 62, 901-907.
- **Codex alimentarius .(2007).** Lait et produits laitiers, organisation mondiale de la santé - OMS - et organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture - FAO - , Première édition . pp : 55 à 61 , 176 à 180.
- **Corcy J.C. et Lepage M .(1991).** Fromages fermiers techniques et traditions . *Edition Rustique. Paris*. pp :113.
- **Coulon J.B. et Hoden A. (1991).** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (5).pp: 361-367.
- **Cozzolino A., Di Pierro P., Mariniello L., Sorrentino A., Masi P.et Porta R. (2003).** Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. *Biotechnology Applied and Biochemistry reveiw*. 38:289 – 195.
- **Croguennec T., Romain J. et Brulé G.(2008).** Fondements physicochimiques de la technologie laitière. *Edition Technique et documentation .Paris* :143 – 145.
- **Cui L., Zhang D.X., Huang L., Liu H., Du G.C. et Chen J. (2006).**Stabilization of a new microbial transglutaminase from *Streptomyces hygrosopicus* WSH03–13 by spray drying Process Biochemical. *Annual Review of Food Science and Technology*. 41:1427–1431.

D

- **Debry G. (2001).**Lait, nutrition et santé ..*Edition Technique et documentation Lavoisier. Paris*.pp :17-53.
- **Del Duca S. et Serafini-Fracassini D.(2005).** Transglutaminases, Family of Enzyme with Diverse Functions. *Edition Karger Press, Basel*, vol. 38, pp: 223.
- **Dickinson L.(1997).**Enzymic crosslinkings as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization . *Trends in Food Science and Technology*. 8,334-339.
- **Dodd FH. et Booth J. (2000).** Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. *Edition Andrews A.H. London*. pp: 213-255.
- **Dondero M., Curotto E., et Figueroa V.(2002).**Cross-linking protein using transglutaminase . *Food Science Technology International review*. 8(1): 49.

E

- **Eck A. et Gillis J.C. (2009).** Le fromage .*Technique et documentation Lavoisier. Paris* :891
- **Erman M.(2009).** Le gout dans tous ses états . *Edition Peter lang scientifiques internationales . Paris* . pp :59.

F

- **Faergemand M., Otte J., et Qvist K. B.(1997).** Enzymatic cross-linking of whey proteins by a Ca²⁺ independent microbial transglutaminase from *Streptomyces lydicus*. *Food Hydrocolloids review* . pp: 11, 19–25.
- **Folk, J.E., Finlayson, J.S. (1977).** Advanced Proteins. *Biotechnology Applied and Biochemistry reveiw* . pp: 31, 1.
- **Fox P. F. et McSweeney P.L. H.(1998).** Dairy Chemistry and Biochemistry -Physical properties of milk. *Blackie Academic and Professional . London* .pp: 437-462.

G

- **GATT (1994).**Accord general sur les tarifs douaniers et le commerce - le marché mondial des produits laitiers - *Arrangement international relative au secteur laitier.Genève* .
- **Gerber U., Jucknischke U., Putzien S. et Fuchsbauer H.L .(1994).** A rapid and simple method for the purification of transglutaminase from *Streptoverticillium mobaraense*. *Biochemistry Journal*. 299:825–829.

- **Gerrard J.A., Fayle SE., Brown PA., Sutton KH., Simmons L. et Rasiah I.(2001).** Effects of microbial transglutaminase on the wheat proteins of bread and croissant dough. *Journal Food Science*. 66:782–786.
- **Guerra-Rodríguez E. et Vázquez M.(2013).** Evaluation of a novel low-cost culture medium containing exclusively milk, potato and glycerol for microbial transglutaminase production by *Streptomyces mobaraensis*. *Chemistry Engeneering Research journal* .10 :1016.
- **Guinot Thomas P., Ammouy M. et Laurent F. (1995).** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal N° 5*: 211-223.
- **Guiraud J.P.et Rosec J.P. (2004).**Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR. Paris* .pp : 96 , 163 ,183,200.

H

- **Hardy J. (1983)** .Diffusion et distribution du chlorure de sodium dans les fromages.Influence sur l'activité de l'eau et les propriétés de sorption de l'eau. Thèse de Sciences, Institut national polytechnique de Lorraine.
- **Hassainya J., Padilla M. et Tozanli S. (2006).** Lait et produits laitiers en méditerranée. Des filières en pleine restructuration. *Edition Karthala .Paris* .pp :15 – 84.
- **Heeschen W.H.et Blüthgen A.(1990).**Veterinary drugs and pharmacologically active compounds residues and contaminants in milk and milk products, *IDF special issue*. 9101. pp:16-39.
- **Horne D. S. et Muir D. D.(1994).** Influence of κ -casein phenotype on the rennet coagulation time of bovine milk. *Milchwissenschaft* .49(7): 386-388.

I

- **Ionescu A.,produ I.A., Daraba A., Porneala L. (2008).**The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart. *Journal of food science* 39:225–230.

J

- **Jaros D., Partschefeld C., Henle T., et Rohm H. (2006).**Transglutaminase in dairy products. chemistry,physics,applications. *Journal of Texture Studies*. 37:113-155.
- **Jiang S.T., Hsieh J.F., Ho M.L. et Chung Y.C. (2000).** Combination effects of microbial transglutaminase reducing agent and protease inhibitor on the quality of hairtail surimi . *Journal of food science* . 65(2) .pp:241-245.
-

- **Journal officiel N°69 du 27/10/1993** . Arrêté interministériel du 18/08/1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
- **Journal officiel N°35 du 27/05/1998** .Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- **Journal officiel N°43 du 04/07/2004** . Arrêté du 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre .
- **Journal officiel N°70 du 07/11/2004** . Arrêté du 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour essai et dilutions en vue de l'examen microbiologique .
- **Journal officiel N° 42 du 15 juin 2005** . Arrêté du 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers.
- **Journal officiel N°58 du 04/11/2015** .Arrêté du 18 octobre 2015 rendant obligatoire la méthode de détermination de l'acidité titrable dans le lait sec.
- **Joy I., Lagrain B. et Delcour J.A.(2009)**. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the Protein network during breadmaking-A . *Journal of cereal science*. 50:11- 21.
- **Junqua M., Duran R., Gancet C. et Goulas P.(1997)**.Optimization of microbial transglutaminase production using experimental designs . *Application Microbiol Biotechnology review* . 48:730-734.

K

- **Kabir J., Umoh V.J., Audu-Okoh E., Umoh J.U. et Kwaga J.K.P.(2004)**. Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State. Nigeria. *Food Control*. 15, 99-105.
- **Kashiwagi T., Yokoyama K., Ishikawa K., Ono K., Ejima D., Matsui H., Suzuki E.(2002)**. Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptoverticillium mobaraense* . *Journal of Biology and Chemistry* . 277:44252– 44260.
- **Koksel H., Sivri P.K., et Steffe J.F.(2001)**. Effect of Transglutaminase enzyme on fundamental rheological properties of sound and bug-damaged wheat flour doughs .*Cereal Chemistry journal* .78(1):26-30.
- **Koryc A.D., Vassal L., Riradeau –Duma B.S. et Mocquot G. (1983)**. Studies on lipid oxidation during ripening of Camembert cheese and its impact on cheese flavor. *Science Aliments review* . 3: 79-90.

- **Kuraishi C., Yamazaki K., et Susa Y. (2001).** Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *International Food Review*. 17: 221–246 .

L

- **Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E. et Ouhssine M. (2009).** Etude physico-chimique et Microbiologique de laits crus . *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* . 148 : 7-16.
- **Larpen J.P. (1990).** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire . *Edition technique et documentation Lavoisier* . Paris . pp: 201-215.
- **Larré C., Denery-Papini S., Popineau Y.,Deshayes G., Desserme C. et Lefebvre J.(2000).** Biochemical Analysis and rheological properties of gluten modified by transglutaminase. *Cereal Chemistry journal*. 77(2) :121-127.
- **Lauber S., Henle T. et Klostermeyer H.(2000).** Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. *Europeen Food Research Technology journal* . 210:305–309.
- **Lawless H.T. et Heymann H.(1998).** Sensory Evaluation of Food: Principles and practices. *Edition springer* . Paris.pp :416.
- **Leclerc H.,Buttiaux B. et Guillaume J.P. et Wattre P. (1977).**Microbiologie appliqué.*Edition Doin* . Paris . pp :17 – 30.
- **Le Bars O., Vassal L. et Cripion J.C. (1982).** Méthode d'étude de la texture du camembert par pénétrométrie. *Congré International du Lait* .1A : 502.
- **Lenoir J. (1963).** Etude sur la dégradation des protides au cours de la maturation du Camembert. *C.R. Acad. Agric.* 48.160-169.
- **Lorenzen P.C., Neve H., Mautner A., et Schlimme E. (2002).**Microbial transglutaminase in dairy products . *International Journal of Dairy Technology* . 55:152.
- **Luquet F. M. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie . *Edition technique et documentation Lavoisier* . Paris . pp :105.
- **Luquet .F.M et Bonjeau – linczowski Y. (1986)** . Lait et produits laitiers – qualité –énergie et table de composition . *Edition technique et documentation Lavoisier* . Paris.pp :110 .
- **Luquet .F.M.(1990).** Laits et produits laitiers vache. Brebis .chèvre .*Edition technique et documentation .Lavoisier* . Paris . pp :3- 87-132 - 154 .

M

- **Macedo J.A., Cavallieri A.L.F., daCunha R.L. et Sato H.H.(2010).** The effect of transglutaminase from *Streptomyces sp.* CBMAI 837 on the gelation of acidified sodium caseinate. *International Dairy journal*. 20:673–679.
- **Mahmood WA. et Sebo NH. (2009).** Effect of microbial transglutaminase treatment on soft cheese properties. *Mesopotamia Journal of Agriculture* : 37.
- **Marx C.K., Hertel T.C. et Pietzsch M.(2008).** Random mutagenesis of a recombinant microbial transglutaminase for the generation of thermostable and heat sensitive variants. *Journal of Biotechnology*.pp:136,156,162.
- **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. *Edition Technique et Documentation Lavoisier. Paris* . pp :68 – 120.
- **Maubois J.L. et Mocquot G. (1967).** Comment ramener à la même teneur en substance sèche des fabrications de fromage en vue de comparer les « rendements » respectifs du lait en fromage. *Revue Lait France*. 239, 15-18.
- **Maubois J.L., Ricordeau G., Mocquot G., Dupont J.Y., Gervais E. et Barbier N.(1970).** Etude des rendements en fromagerie de Camembert et de Saint-Paulin. *Le Lait.INRA Editions*. 50 (497). pp :351-373.
- **Meilgaard B. ,Morten C. , Thomas C. et Gail V. C.(1999).** Sensory Evaluation Techniques. *Edition Taylor and Francis . Paris*.
- **Moore M.M., Heinbockel M., Dockery P., Ulmer M.H. et Arendt E.K.(2006).** Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chemistry review*. 83:28–36.
- **Mocquot G., Blanc-Patin E., Saincliver M.,Rousseaux P. et Jeunet R.(1963).** Relation entre la teneur du lait en matière azotée et le poids de fromage obtenu. *International Dairy journal*. 203 : 269-276.
- **Motoki M. et Nio N. (1983).** Cross linking between different food proteins by transglutaminase. *Journal of Food Science*. 48,561 -566.
- **Motoki M. et Seguro K .(1998).** Transglutaminase and its use for food processing. *Trends Food Science Technology* . 9:204 –210.
- **Mpagana M. et Hardy J. (1986).** Effect of salting on some rheological properties of fresh camembert cheese as measured by uniaxial compression. *International Dairy journal*. 41 :210-213.

- **Multon J.L. (1991).** Technique d'analyse et de contrôle de qualité, principes généraux et aspect législatifs . *Edition Technique et documentation Lavoisier* . Paris: 106.

N

- **Nielsen PM .(1995).** Reactions and potential industrial applications of transglutaminase. *Review of literature and patent. Food Biotechnology.* 6:119–156 .
- **Noomen A. (1978).** Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheeses (Meshanger type). 2. Activity of rennet. *Neth. Milk Dairy Journal.*, 32, 49-68.

O

- **Ozer B., Kirmaci H.A., Oztekin S., Hayaloglu A. et Atamer M .(2007).** Incorporation of microbial transglutaminase into non - fat yogurt production. *International Dairy technology Journal.* 17:199–207.
- **Ozrenk E.(2006).** The use of transglutaminase in dairy products. *International journal of dairy technology.* vol 59 .N°1.

P

- **Persoons D. (2011).** Antimicrobial use and resistance in Belgian broiler production. PhD thesis, Ghent University, Belgium.
- **Pradal M. (2012).** La transformation fromagère caprine fermière. *Edition Technique et documentation Lavoisier.* Paris.pp : 110.

R

- **Ramirez, J.A., Del Angel A., Velazquez, G., et Vázquez, M. (2006).** Microbial Transglutaminase application in food industry . *Europeen Food Research Technology journal:*223, 341.
- **Reyad M. et Savello P.A. (1993).** Solubility and hydrolyzability films produced by transglutaminase C - talytic crosslinking of whey protein . *Journal of dairy science* . Vol 76.Issue 1, 29-35.
- **Rodier J. (1978)** .L'analyse de l'eau . *Edition Dunnod technique* . Paris . pp:1342.
- **Romain J., Croguennec T. , Mahaut M.,Schuck P. et Brulé G. (2008).** Les produits laitiers . *Edition technique et documentation Lavoisier* . Paris .pp: 39 - 40.
- **Ruegg M. et Blanc B. (1976).** Effect of pH on water vapor sorption by caseins. *Journal of Dairy Science* .59 : 1019-1024.

S

- **Sarkar N.K., Clarke D.D., et Waelsch H. (1957).** Biochimie and Biophysic. Acta.:25, 451.
- **Schmidt D.G. (1982).** Association of caseins and casein micelle structure, in Developments in Dairy Chemistry, Vol. 1: Proteins .Edition. P.F. Fox. Applied Science. London.pp:61-86.
- **Schorsch C., Carrie H., Clark A.H. et Norton I.T. (2000)** .Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels.*Intrenational Dairy Journal* . 10 : 519 - 528.
- **Seguro K., Nio N., and Motoki M. (1996).** Macromolecular Interactions in Food Technology. ACS Symposium Series 650, Am. Chem. Soc., Paris. pp: 271.
- **Sharma R. (2001).** Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -Glutamyl) Lysine and the susceptibility of individual proteins towards cross-linking. *International Dairy Journal*. 11: 785–793.
- **Sine .J.P.(2010).** Enymologie et applications .Edition Ellipses . Paris .pp :304 - 305.
- **St-Gelais D. et Tirard-Collet P. (2002).** Fromage . Dans : Science et technologie du lait : transformation du lait. *Presses internationales Polytechnique. Montréal.* pp: 349-415.
- **Swaisgood H.E. (1982).** Chemistry of milk protein. In Developments in Dairy Chemistry.
1 - Proteins : 1-60. Edition. P.F. Fox. Applied Science. London: 34-75.

T

- **Télléz-Luis S.J., González-Cabriales J.J., Ramirez J.A. et Vázquez M.(2004).** Production of transglutaminase by *Streptoverticillium ladakanum* NRRL-3191 grown on media made from hydrolysates of sorghum straw. *Food Technology and Biotechnology reveiw.* 42:1–4.
- **Thieulon M. (2005).** Lait pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d’agriculture du Cantal.* pp :1-2.
- **Tseng C.S. et Lai H.M. (2002).** Physicochemical properties of wheat flour dough modified by microbial transglutaminase . *Journal of food science.*Vol.67.N°2.

V

- **Vassal I., Monnet V., Le bars D., Roux C. et Gripon .J.C.(1986).** Relation entre le pH, la composition chimique et la texture des fromages de type Camembert. *INRA Laboratoire de Biochimie et Technologie Laitières. France.*
- **Veisseyre R. (1975).** Technologie du lait – constitution , récolte, traitement , et transformation du lait-. Edition Maison Rustique 3^e édition. Paris.PP:508.

- **Vignola C.L., Angers P., Bazinet L. et Boutonnier J.L.(2002).**Science et technologie du lait – transformation du lait- . *Presses internationales polytechniques . Canada . pp :572.*
- **Vilkowske H. H. et Krienke W. A.(1951).** Influence of penicillin on the acid lactic production of certain lactobacilli. *Journal Dairy Science:* 1030.

W

- **Waes G. (1973).** Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. *international dairy journal . 528:520-528.*
- **Walstra P. et Jenness F. (1984).** Dairy chemistry and physics.wiley and sons. *Blackie Academic and Professional. London . pp :80 – 110.*
- **Washizu K., Ando K., Koikeda S., Hirose S., Matsuura A., Takagi H., Motoki M. et Takeuchi K. (1994).** Molecular cloning of the gene for microbial transglutaminase from *Streptovercillium sp* and its expression in *Streptomyces lividans*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry journal.* 58:82–87.
- **Watts B.M., Ylimaki G.L., Jeffery L.E. et Elias L.G.(1991).** Méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments .*Edition Centre de recherches pour le développement international CRDI .Ottawa. pp:35 - 40.*
- **Witt D. et Stackebrandt E. (1990).** System application in Microbiology. *Biology and chemistry journal : 13- 361.*

Y

- **Yamaguch S. (1999).**Method for cross –linking protein by using enzyme . *international dairy journal . United Kingdom.*
- **Yokoyama K., Nio N. et Kikuchi Y.(2004).**Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbioly and Biotechnology journal.* 64:447–454.

Z

- **Zhu Y., Rizeman A., Tramper J. et Bol J.(1995).** Microbial transglutaminase a review of its production and application in food processing . *Applied Microbiology and Biotechnology journal.* 44:277 - 282.

Annexes

Annexe n°1

Composition des solution utilisés dans les analyses physicochimique :

❖ Préparation de la phénolphtaléine :

Constituants	Quantité
phénolphtaléine	1 g
Méthanol ou éthanol	100 ml

Agiter bien la solution pour dissoudre le phénolphtaléine dans l'éthanol .

❖ Préparation de NaOH 0,1 N :

Constituants	Quantité
NaOH	4 g
Eau distillé	1000 ml

❖ Préparation de la liqueur tartrique alcaline :

Constituants	Quantité
Tartrate double Na,K NaK(COO)₂(CHOH)₂ 4H₂O	4 g
NaOH	150 g
Eau distillé	1000 ml

❖ Liqueur ferrique :

Constituants	Quantité
Sulfate ferrique Fe₂(SO₄)₃	50 g
Acide sulfurique H₂SO₄ (d=1,84)	200 ml
Eau distillé	1000 ml

❖ Liqueur cuivrique :

Constituants	Quantité
Sulfate de cuivre CuSO₄	40 g
Eau distillé	1000 ml

❖ Acétate de zinc 30% M/V:

Constituants	Quantité
Acétate de zinc Zn (CH₃COO)₂·2H₂O	30g
Eau distillé	1000 ml

❖ **Ferrocyanure de potassium 15 % M/V:**

Constituants	Quantité
Ferrocyanure de potassium $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$	15g
Eau distillé	1000 ml

❖ **Solution permanganete de potassium 0,1 N :**

Constituants	Quantité
Permanganete de K ($KMnO_4$)	3,3 g
Eau distillé	1000 ml

❖ **Acide sulfurique H_2SO_4 :**

L'acide sulfurique doit avoir une masse volumique, à 20° C, de $(1,522 \pm 0,005)$ g/ml, ce qui correspond à une fraction volumique de 61,72 % à 62,63 % de H_2SO_4 .

❖ **Alcool iso-amylique :**

Une fraction volumique d'au moins 99% d'alcool iso-amylique doit être composée :

- ✓ des alcools primaires 3-méthylbutane-1-ol et 2-méthylbutane-1-ol,
- ✓ les seules impuretés notables tolérées étant le 2-méthylpropane-1-ol et le butane-1-ol.
- ✓ Il doit être exempt de pentanols secondaires, de 2-méthylbutane-2-ol, furane-2-al (furfural, furane-2-carboxaldéhyde, 2-furaldéhyde), d'essence et de dérivés du benzène.
- ✓ Seules des traces d'eau peuvent être tolérées .
- ✓ masse volumique à 20° C de 0,808 g/ml à 0,818 g/ml.

❖ **Oxalate de potassium 0,1 N :**

Constituants	Quantité
Oxalate de potassium ($K_2C_2O_4$)	9,21 g
Eau distillé	1000 ml

❖ **Formaline (formaldéhyde) : CH_2O concentration :36% .**

Annexe n°2

Composition des milieux de cultures :

❖ **Composition du milieu PCA “Plate Count Agar”
ou la gélose glucosée à l’extrait de levure :**

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	5,0 g
Extrait autolytique de levure	2,5 g
Glucose	1,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g
Eau distillée	1000 ml
pH du milieu prêt-à-l’emploi à 25°C	7,2

❖ **Bouillon lactosé bilié au vert brillant à 2% (Simple concentration) BLBVB ou VRBL**

Constituants	Quantité en g/l
Péptone pepsique de viande	10 g
Bile de bœuf déshydraté	20 g
Lactose	10 g
Solution de vert brillant à 0,33%	10 ml
Eau distillée	1000 ml
pH	7,2

Répartir en tube à essai de 9 ou 10 ml , ajouter éventuellement une cloche de durham.
Autoclaver à 120 °C pendant 15 mn.

❖ **Eau peptonée exempte d’indole :**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone exempte d’indole	15 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,2

Répartir en tube à essai de 8 ou 10 ml, autoclaver à 120 °C pendant 15 mn

❖ **Rothe simple concentration :**

Constituants	Quantité en g/l
Tryptose	20 g
Glucose	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate dipotassique	2,7 g
Phosphate monopotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,2 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7

Répartir en tube à essai (9 ou 10 ml) , autoclaver à 115 °C pendant 20 mn

❖ **Litsky :**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone ou tryptone	20 g
Glucose	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate dipotassique	2,7 g
Phosphate monopotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,3 g
Ethyl violet	0,5 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7

Répartir en tube à essai (8 à 10 ml) , autoclaver à 115 °C pendant 20 mn.

❖ **Giolittie et Contoni (Bouillon d'enrichissement pour *Staphylococcus aureus*)**

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Extrait de levure	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Manitol	20 g
Chlorure de sodium	5 g
Glycine	1,2 g
Pyruvate de sodium	3 g
Eau distillée	1000 ml
pH	6,9

Autoclaver à 115 °C pendant 20 mn.

❖ **Gélose Chapman (gélose manité) :**

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	5 g
Extrait de viande	1g
Peptone pepsique de viande	5 g
Manitol	10 g
Chlorure de sodium	75 g
Rouge de phénol	25 g
Agar agar bactériologique	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

Répartir en flacon de 250 ml , autoclaver à 120°C pendant 15 mn.

❖ **Bouillon sélénite cystéine :**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	5 g
Phosphate de sodium	10 g
Lactose	4 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7

Autoclaver à 121 °C pendant 15 mn .

❖ **Gélose Hecktoen :**

Constituants	Quantité en g/l
protease	5 g
Chlorure	1g
Extrait de levure	5 g
Sels biliaires	10 g
Thiosulfate de ferromoniacal	75 g
Rouge de phénol	25 g
Agar agar bactériologique	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

Autoclaver pendant 15 mn à 120°C

❖ **Gélose Viande Foie :**

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande foie	30 g
Glucose	2 g
Amidon	2 g
Gélose	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,6

Autoclaver à 115°C pendant 20 mn.

❖ **Gélose VRBL ou VRBG (Violet Red Bile with Lactose agar) :**

Constituants	Quantité en g/l
Lactose	10 g
Peptone gélatiné	7g
Chlorure de sodium	5 g
Extrait de levure	3 g
Sels biliaires	1,5 g
Rouge neutre	0,03 g
Crystal violet	0,002
Agar agar bactériologique	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,3

Autoclaver pendant 10 min à 110°C .

❖ **Bouillon Tryptone-sel :**

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	1 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillé	1000 ml
pH	7,2

Annexe n°3

Tables de Mac Grady : pour le calcul du nombre le plus probable .

<i>2 tubes par dilution</i>		<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

<i>5 tubes par dilution</i>							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Annexe n°4

Extrait de l'arrêté Interministériel du 24 janvier 1998 (JORA n°35 du 27 mai 1998)

Les normes microbiologiques du lait cru

8 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
ANNEXE I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES			
TABLEAU I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS			
PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

Annexe n°5

Extrait de l'arrêté Interministériel du 24 janvier 1998 (JORA n°35 du 27 mai 1998)

Les normes microbiologiques des fromages à pâtes molle

Aouel Safar 1419 27 mai 1998		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		9
TABLEAU I (suite)				
PRODUITS	n	c	m	
7. Lait déshydraté destiné aux industries alimentaires:				
— germes aérobies à 30° C	1	—	2.10 ⁶	
— coliformes	1	—	1	
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	2	absence	
— antibiotiques	1	0	absence	
8. Yaourts ou yoghourts :				
— coliformes	5	2	10	
— coliformes fécaux	5	2	1	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10	
— levures	5	2	<10 ²	
— moisissures	5	0	absence	
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence	
9. Lait acidifiés :				
— coliformes	5	2	3.10 ⁴	
— coliformes fécaux	5	2	30	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	3.10 ²	
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence	
10. Fromages frais :				
— coliformes	5	2	10	
— coliformes fécaux	5	2	1	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10	
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence	
— <i>Listeria monocytogene</i>	5	0	absence	
11. Fromages à pâtes molle :				
— coliformes	5	2	10 ²	
— coliformes fécaux	5	2	10	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10 ²	
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	2	1	
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence	
— <i>Listeria monocytogene</i>	5	0	absence	
12. Fromages à pâtes dure et demi-dure :				
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10 ²	
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence	
— <i>Listeria monocytogene</i>	1	0	absence	
13. Glaces et crèmes glacées :				
13.1. Glaces et crèmes glacées de consommation :				
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴	
— coliformes	5	2	10 ²	
— coliformes fécaux	5	2	1	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10	
— <i>Salmonella</i>	10	0	absence	
13.2. Préparation pour glaces et crèmes glacées :				
— germes aérobies à 30° C	5	2	2.5.10 ⁴	
— coliformes	5	2	10	
— coliformes fécaux	5	2	1	
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10	
— <i>Salmonella</i>	10	0	absence	

Annexe n°6




Dosage du lactose (Technique G. BERTRAND)

KMnO₄ 0.1 N	Lactose hydraté	KMnO₄ 0.1 N	Lactose hydraté	KMnO₄ 0.1 N	Lactose hydraté
5.0	23.6	9.0	43.5	13.0	64.1
5.1	24.1	9.1	44.0	13.1	64.7
5.2	24.6	9.2	44.5	13.2	65.2
5.3	25.1	9.3	45.0	13.3	65.7
5.4	25.6	9.4	45.5	13.4	66.2
5.5	26.1	9.5	46.0	13.5	66.8
5.6	26.6	9.6	46.5	13.6	67.3
5.7	27.1	9.7	47.1	13.7	67.8
5.8	27.6	9.8	47.6	13.8	68.4
5.9	28.0	9.9	48.1	13.9	68.9
6.0	28.5	10.0	48.6	14	69.4
6.1	29.0	10.1	49.1	14.1	69.9
6.2	29.5	10.2	49.6	14.2	70.5
6.3	30.0	10.3	50.1	14.3	71.0
6.4	30.5	10.4	50.6	14.4	71.5
6.5	31.0	10.5	51.2	14.5	72.0
6.6	31.5	10.6	51.7	14.6	72.6
6.7	32.0	10.7	52.2	14.7	73.1
6.8	32.5	10.8	52.7	14.8	73.6
6.9	33.0	10.9	53.2	14.9	74.1
7.0	33.5	11.0	53.7	15.0	74.7
7.1	34.0	11.1	54.2		
7.2	34.5	11.2	54.8		
7.3	35.0	11.3	55.3		
7.4	35.5	11.4	55.8		
7.5	36.0	11.5	56.3		
7.6	36.5	11.6	56.8		
7.7	37.0	11.7	57.4		
7.8	37.5	11.8	57.9		
7.9	38.0	11.9	58.4		
8.0	38.5	12.0	58.9		
8.1	39.0	12.1	59.9		
8.2	39.5	12.2	60.0		
8.3	40.0	12.3	60.5		
8.4	40.5	12.4	61.0		
8.5	41.0	12.5	61.5		
8.6	41.5	12.6	62.1		
8.7	42.0	12.7	62.6		
8.8	42.5	12.8	63.1		
8.9	43.0	12.9	63.6		

Annexe n°7

: Nom du dégustateur date :

Fiche d'analyse sensorielle comparative du fromage

<u>Examen</u>	Nom du produit	Nom du produit	Nom du produit	Nom du produit	Points à examiner	<u>vocabulaire</u>
<u>Visuel</u> 					<u>Etat de la surface</u> Surface Etat Couleur	Surface : Lisse, plissée, sèche, humide, farineuse, brillante, duveteuse. Couleur : Blanche, jaune, crème
					<u>Pâte</u> Elasticité Homogénéité Couleur	Couleur élasticité homogénéité Blan célastique souple homogène Blanc crème ferme crevasse Ivoire crème sableux Jaune pâle-paille cassant friable
<u>Olfactif</u> 					<u>Arôme</u> Lactique Animal autre	Lactique Animal autres Lait frais étable diacetyl Petit lait caractéristique fermenté Yogourt animal synthétique
					<u>Intensité</u> Fort Fade Typée piquante	Crème
<u>Gustatif</u> 					<u>Saveurs</u> 1-confirmez ou infirmer les arômes perçus en olfactif 2-décrire la saveur, la sensation et la bouche	Description saveur description des sensations description de la final en bouche douceur agréable très typique acide piquant riche en arôme salée crémeux intense amère fondant sucrée onctueux plutôt courte
					<u>conclusion</u>	

Résumé

Le but de cette étude est de voir l'effet de l'enzyme microbienne PROBIND® CH 2.0 transglutaminase extraite de bactérie *Streptomyces mobaraensis* appelé anciennement *Streptoverticillium mobaraense* sur la qualité du camembert, cette enzyme est largement utilisée dans l'industrie alimentaire (les produits de charcuterie, produits de boulangerie, les produits à base de poisson et les produits laitiers), la TGM catalyse la réticulation des protéines dans les globulines de soya, les protéines de blé, les protéines des œufs, les protéines du lait cette réticulation est irréversible et offre aux protéines des propriétés telles que la thermo stabilité, la capacité de rétention d'eau, ce qui confère au produit alimentaire des propriétés rhéologiques et physicochimiques dues à cette réticulation.

Les essais réalisés dans ce sens ont décelé que l'addition de la TGM à raison de 0,15 g/l et 0,30g/l avant l'addition de la présure dans un lait cru pasteurisé contenant des ferments lactiques et CaCl₂ permet une coagulation rapide du lait, et influe d'une façon significative sur le taux de protéines et le taux d'extrait sec, ainsi que sur le rendement fromagère par rapport aux échantillons de camembert préparés sans addition de TGM, tandis que cet enzyme n'a aucun effet sur les variations du pH, mais une attention peut être attirée sur son effet indirect sur le taux de la MG qui peut être traduit par la formation du réseau protéique sous l'effet de la coagulation présure plus l'effet de la TGM qui emprisonne les molécules grasses. Par sa capacité de réticuler les protéines qui leur procurent la propriété de rétention d'eau, la TGM diminue la synérèse des fromages étudiés.

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que la TGM n'a aucun effet sur la flore bactérienne qui pousse dans le camembert, cela est confirmé par la présence des germes totaux à 30°C, les coliformes totaux et les coliformes fécaux.

Une analyse du lactosérum issue des échantillons de laits traités par la TGM montre son effet sur les pertes, d'où on a déduit que la TG microbienne n'a aucun effet sur les pertes de lactose, MG, sel minéraux, mais son effet a été touché sur les pertes de protéines d'où on a remarqué que le taux de protéines de lactosérum perdu des échantillons traités par la TGM est moins que celui de l'échantillon témoin fabriqué sans la TGM.

Mots clés : La transglutaminase microbienne, camembert, lactosérum, coagulation, la qualité, protéines.

Abstract

The aim of this study is to see the effect of microbial enzyme PROBIND® CH 2.0 transglutaminase extracted from bacteria *Streptomyces mobaraensis* formerly called *Streptoverticillium mobaraense* in the camembert quality, this enzyme is widely used in the food industry (meat products, bakery products, fish products and dairy products), the MTG catalysis cross-linking of proteins in soybean globulins, wheat proteins, egg protein, milk proteins, that cross-linking is irreversible and provides protein of such as thermal stability properties, water holding capacity, which gives the food product rheological and physicochemical properties result of the cross-linking.

The tests which realized in this way have detected that the addition of the MTG at 0.15 g / l and 0.30 g / l before the addition of rennet to mature milk with lactic ferments and CaCl₂ provide a rapid coagulation of milk and affects in a significant manner on the protein levels and solids content levels, as well as on the cheese yield, compared to Camembert sample prepared without added MTG, while this enzyme has no effect on the pH variation, but attention can be attracted on its indirect effect on the fat levels, which can be reflected by the formation of the protein network under the effect of the rennet coagulation more the effect of MTG which traps fatty molecules. By its ability to crosslink proteins that provide them the property of water holding, MTG decreases syneresis of studied cheeses.

The bacteriological analyzes results show that the MTG has no effect on the bacterial flora that grow in the camembert, it is confirmed by the presence of total germs at 30 ° C, total Coliforms and faecal Coliforms.

An analysis of the whey samples outcome from the treated milk by MTG shows its effect on the losses, where it was deduced that the microbial TG has no effect on the losses of lactose, fat, mineral salt; but its effect got hit on the protein loss, from where it was noted that the whey protein levels lost of the samples treated by the MTG is fewer than the control sample manufactured without MTG.

Keywords: microbial transglutaminase, camembert, whey, coagulation, quality, proteins.