

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

MEHDI Adem Maamar

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Production et transformation laitières

THEME

**Optimisation du temps d'affinage d'un fromage à pâte molle par
l'utilisation d'une culture mixte de *Brevibacterium* et de
Micrococcus « BM »**

Soutenu publiquement le 08/07/2019

Devant les membres du jury

| | | | |
|------------------|----------------------|-------------------|---------------|
| Président | Dr TAHLAITI.H | Maitre Assistante | U. Mostaganem |
| Examineur | Dr RECHIDI-SIDHOUM.N | Maitre Assistante | U. Mostaganem |
| Encadreur | Dr DAHOU.A | Maitre Assistant | U. Mostaganem |

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2018-2019

Remerciements

Avant tout, Mes remerciements vont au bon Dieu qui ma donné le courage, la volonté, la patience, et la force de finaliser ce travail

Je tiens à remercier énormément et profondément mon encadreur M Dahou. El Amine pour avoir encadré ma thèse, je lui adresse un grand merci pour son aide précieuse, ses conseils, sa patience, et sa disponibilité tout au long de ce mémoire, avec lui j'ai appris beaucoup de chose sur ce domaine

Mes remerciements les plus sincères aux membres du jury qui m'ont fait honneur de juger mon travail plus précisément pour Mme TAHLAITI .H Présidente du Jury et pour Mme RECHIDI SIDHOUM .N, examinatrice

J'adresse mes plus vifs remerciements à mes parents, et mes proches pour leur soutient et leur patience

Je tiens aussi à remercier énormément mes chers collègues et amis qui ont rendu ma vie quotidienne agréable durant les mois de stage.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à l'ensemble de l'équipe de Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales LSTPA et à tous ceux qui ont eu l'amabilité de m'aider de près ou de loin et de me soutenir pour mener à bien ce travail

Dédicaces

Ce mémoire est dédié à :

Mes très chers parents, que je remercie infiniment pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien tout au long de mes études, merci beaucoup d'être toujours à mes côtés au long de tout mon parcours universitaire.

*A mes chères sœurs **Imen, Meriem, Nadéra** pour leurs encouragements et leur soutien moral,*

*A mon frère, **Nour El Dine** pour son appui et ses encouragements,*

A ma grand-mère et mon grand-père, à mes tantes et mes oncles et à toute ma famille, merci

Sans oublier tous mes amis et surtout mes amies de section production et transformation laitière PTL promo 2018/2019 ainsi qu'aux enseignants qui nous ont accompagnés tout au long de ce beau parcours.

Résumé

L'objectif de l'étude est la maîtrise de la technique d'affinage d'un camembert en optimisant le temps de son affinage par l'utilisation d'une flore de maturation *Brevibacterium-Micrococcus* « B.M ». Optimiser l'affinage signifie assurer des fabrications aussi régulières que possible, essayer de modifier certains paramètres technologiques ou microbiologiques de façon à obtenir un fromage de flaveur appréciée et de texture conforme à la technologie d'une pâte molle. Notre méthodologie est de réaliser une étude comparative avec des essais de fabrication au laboratoire, de fromages en premier avec des flores lactiques mésophiles et thermophiles enrichies avec une flore d'affinage composée de *Brevibactérium* et de *Micrococcus* revivifiées à partir du soucier disponible au laboratoire. Pour la réussite des essais, la fromageabilité des laits utilisés a été appréciée et contrôlée à partir d'une qualité physico-chimique et microbiologique pour une adaptation technologique et un amendement fonctionnel nécessaire à l'obtention des objectifs escomptés. D'après nos contrôles et suivis (microbiologique, physicochimique et organoleptique), il apparaît que les fromages fabriqués à partir du microbiote d'affinage « BM » présentent des qualités supérieures aux fromages préparés à base du microbiote seulement lactique.

Mots clés : Optimisation, affinage, camembert, flore d'affinage *Brevibacterium-Micrococcus*, fromageabilité des laits.

Abstract

The objective of the study is to control the ripening of a camembert by optimizing ripening time by using a ripening flora BM, optimize ripening means to ensure as regular fabrications as possible, to try knowingly modifying certain technological or microbiological parameters in order to obtain a cheese of appreciated flavor and texture conforming to soft-paste technology. Our methodology is to carry out a comparative study with manufacturing tests at the cheese laboratory first with mesophilic and thermophilic lactic flora amended with a ripening flora composed of *Brevibacterium* and revived Micrococci from the strainer available in the laboratory. For the success of the tests, the chewing of the milks used was assessed and checked from a quality physico-chemical and microbiological aspects for technological adaptation and functional amendment necessary to achieve the expected objectives. According to our controls and monitoring (microbiological, physicochemical and organoleptic), it appears that the cheeses made from the "BM" ripening microbiota have superior qualities to cheeses made from the only lactic microbiota.

Key words: Optimization, ripening, camembert, B.M. ripening flora, the ability of the milk to turn into cheese.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو التحكم في إنضاج جبن الكامببير من خلال تحسين وقت النضوج عن طريق استخدام كائنات إنضاجية BM ، تحسين النضج يعني ضمان التصنيع بشكل عادي قدر الإمكان ، محاول تعديل بعض المعلمات التكنولوجية أو الميكروبيولوجية عن قصد للحصول على جينة ذات نكهة مقبولة و ملمس يتوافق مع تقنية العجينة اللينة ، منهجيتنا هي إجراء دراسة مقارنة مع تجارب التصنيع في المختبر للجبين مع الكائنات (الخمائر) اللبنية الميزوفيلية والحرارية المعدلة مع كائنات إنضاجية مكونة من *Brevibacterium* و *Micrococci* تم إحياءها من مكان حفظ السلالات الموجود في المختبر. لنجاح الاختبارات ، تم مراقبة قدرة الحليب المستعمل في التحول إلى جبن عن طريق تحاليل فيزيائية وكيميائية والجودة الميكروبيولوجية للتكيف التكنولوجي والتعديل الوظيفي اللازم لتحقيق الأهداف المرجوة. وفقاً لتحليلاتنا و متابعاتنا (الميكروبيولوجية والفيزيائية والكيميائية و الحسية) ، يظهر لنا أن الأجبان المصنوعة من الكائنات الميكروبية الانضاجية "BM" لها صفات متفوقة و جودة أفضل من الأجبان المصنوع من الكائنات الميكروبية (الخمائر) اللبنية فقط.

الكلمات المفتاحية: تحسين، نضج جبن الكامببيرت، كائنات B.M. الإنضاجية، قدرة الحليب في التحول إلى جبن

Sommaire

Page

| | |
|---|------------|
| Sommaire | 05 |
| Abréviations, sigles et acronymes | 06 |
| Liste des tableaux | 07 |
| Liste des figures | 09 |
| Liste des annexes | 10 |
| | |
| Introduction | 12 |
| Première partie. Étude bibliographique | |
| Chapitre I. Le fromage..... | 16 |
| Chapitre II. Affinage des fromages et optimisation..... | 29 |
| | |
| Deuxième Partie. Recherche Expérimentale | |
| Chapitre I. Matériel et méthodes | 39 |
| Chapitre II. Résultats et discussion..... | 54 |
| | |
| Conclusion et perspectives | 85 |
| | |
| Annexes | 88 |
| | |
| Liste des références | 100 |
| | |
| Table des matières | 110 |

Liste des Abréviations, acronymes et sigles

°D : Degré Dornic

B.M : *Brevibacterium-Micrococcus*

CMP : Caséine Macro Peptide

CO₂ : Oxyde de carbone

ES : extrait sec

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec totale.

FAMT: Flore Aérobie Mésophile Totale

FAO: Food and Agriculture Organization

F.I.L : Fédération Internationale du Lait

G/S: Rapport de la matière grasse sur la matière sèche

H% : Humidité

J.O.R.A : Journal Officiel de la république Algérienne.

Kcal : Kilocalorie

Kg : kilogramme

Lb : Lactobacillus

L.S.T.P.A : Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales.

MAP : Matière Azotée Protéique

MG : Matière grasse

MP: Matière Protéique

MRS: Man-Rogosa et Sharp

MTL : Méthane thiol

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

pH : potentiel Hydrogène

TP : Taux Protéique

UFC/g : unité formant colonie par gramme

γ : Gamma-caséines

κ : Kappa-caséines

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01 : Valeur nutritionnelles et énergétiques du camembert..... | 22 |
| Tableau 02 : les principaux microorganismes rencontrés au cours de l'affinage | 34 |
| Tableau 03 : Flores dénombrées et dilutions utilisées dans l'analyse microbiologique des fromages..... | 49 |
| Tableau 04 : Evolution de la composition du camembert en cours d'affinage..... | 53 |
| Tableau 05 : Analyses microbiologiques des laits utilisés..... | 55 |
| Tableau 06 : Analyses physico-chimiques des laits utilisés..... | 56 |
| Tableau 07 :Microbiote sélectionné pour l'essai témoin 100% mésophile..... | 58 |
| Tableau 08 : Microbiote sélectionné pour l'essai témoin 100% thermophile..... | 58 |
| Tableau 09 : Microbiote sélectionné pour l'essai à base d'une culture lactique mésophile avec la culture d'affinage mixte Brevibactérium-Micrococcus | 58 |
| Tableau 10 : Microbiote sélectionné pour l'essai à base d'une culture lactique thermophile avec la culture d'affinage mixte Brevibactérium-Micrococcus | 59 |
| Tableaux 11 : Analyses microbiologiques des fromages au démoulage..... | 59 |
| Tableaux 12 : Analyses microbiologiques des fromages après salage..... | 60 |
| Tableaux 13 : Analyses microbiologiques des fromages à J+3..... | 60 |
| Tableaux 14 : Analyses microbiologiques des fromages à J+7..... | 60 |
| Tableaux 15 : Analyses microbiologiques des fromages à J+10..... | 60 |
| Tableau 16 : Analyses physico-chimiques des fromages au démoulage..... | 61 |
| Tableau 17 : Analyses physico-chimiques des fromages après salage..... | 61 |

| | |
|--|----|
| Tableau 18 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+3..... | 62 |
| Tableau 19 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+7..... | 62 |
| Tableau 20 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+10..... | 63 |
| Tableau 21 : Normes F.I.L concernant les analyses physico-chimiques de fromage a pate mole type camembert..... | 63 |
| Tableau 22: Analyses sensorielles des fromages affinés..... | 64 |

Listes des figures

| | |
|--|-----------|
| Figures 01 : Fromage à pâte fraîche..... | 18 |
| Figures 02 : Fromage à pâte fondue..... | 18 |
| Figures 03 : Fromage à pâte molle..... | 19 |
| Figures 04 : Fromage à pâte pressée cuite | 19 |
| Figures 05 : Flocculation micellaire du lait | 27 |
| Figure 06 : Equipement d'analyse du lait : LactoStar et MilkoScan FT2 | 42 |
| Figure 07 : Les quatre types de fromage au cours des analyses sensorielle | 53 |
| Figure 08 : Photo microscopique du Brevibactérium..... | 57 |
| Figure 09 : Photo microscopique du micrococcus xylosus..... | 57 |
| Figure 10 : Evolution de la flore totale en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage..... | 76 |
| Figure 11 : Evolution de la flore lactique mésophile en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage | 77 |
| Figure 12 : Evolution de la flore lactique thermophile en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage..... | 77 |
| Figure 13 : Evolution de la flore d'affinage en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage..... | 78 |
| Figure 14 : Evolution du pH en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage..... | 79 |
| Figures 15 : Aspect visuel de nos essais de fromage à pâte molle de type camembert par rapport au témoin..... | 83 |
| Figure 16 : Photo bacterie microcoque et brevibacterium | annexes D |
| Figure 17 : Dénombrement des différentes flores (photo à gauche du fromage thermophile et photo à droite du fromage mésophile)..... | annexes D |

Listes des annexes

| | |
|---|----|
| Annexe A : Milieux de culture..... | 89 |
| Annexes B : Les étapes de fabrication du fromage de type camembert mésophile et thermophile au laboratoire LSTPA..... | 92 |
| Annexes C : Coloration de Gram | 95 |
| Annexes D : Revivification des bactéries d'affinage et Résultats d'analyse microbiologique ... | 96 |
| Annexes E : Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)..... | 97 |
| Annexes F : Fiche technique de la culture BM | 98 |

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des siècles et jusqu'à ce jour, le lait reste un aliment majeur et l'un des aliments les plus consommés au niveau mondial, soit pour l'alimentation des nourrissons, la consommation quotidienne des consommateurs, ou la transformation en différents produits laitiers, tout cela en raison de sa grande valeur alimentaire et nutritionnelle, sa richesse en protéines, lipides, vitamines, minéraux, ainsi que sa qualité sensorielle. Le lait est transformé en différents produits laitiers tels que, le beurre, le yogourt, le leben, le fromage, et produits laitiers glacés.

Selon une légende, le fromage a été inventé par erreur, et la première transformation de lait en fromage était en Égypte et à Sumer il y a 3100 ans (**Choi, 2012**). Aujourd'hui le fromage est devenu un aliment essentiel de grande consommation, La France, l'Allemagne, les Etats Unis sont les premiers producteurs de fromage au monde avec 1,9 millions de tonnes produites chaque année pour chaque pays (**Malo, 2017**). L'Algérie est moins développée dans le domaine de la production fromagère à cause de la production laitière insuffisante, nécessaire au développement des technologies et du savoir faire.

Il existe différents types de fromages et parmi ces fromages on entamera dans notre étude le fromage à pâte molle fleurie type camembert, ce fromage est obtenue par un lait cru pasteurisé ou reconstitué, il passe par plusieurs étapes de fabrication dont la standardisation, la coagulation acide ou enzymatique pour former le caillé fromager, suivi du moulage, l'égouttage qui éliminera progressivement et d'une façon contrôlée le lactosérum puis le salage et l'affinage.

La fabrication d'un camembert implique l'utilisation uniquement d'un microbiote endogène apporté par le lait ou complété par un microbiote exogène apporté par le fromager, aux propriétés biochimiques très ciblées et pour la production de composés sapides et aromatiques en équilibre contrôlé, responsable de la flaveur (odeur, arôme et saveur) des fromages. Ce microbiote exprime ces potentialités enzymatiques intrinsèques en fonction de l'environnement biotique, siège de nombreuses interactions entre les micro-organismes mais aussi de l'environnement abiotique dans le quel intervient les facteurs physico-chimiques (**Monnet et al., 2012; Leclercq-Perlat et al., 2011 ; Raynaud et al., 2016**)

Cette étude s'est limitée à une première utilisation expérimentale d'une flore d'affinage composée de *Brevibacterium* et de *Micrococcus*, obtenue du souchier du laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem, ces bactéries sont utilisées pour une fabrication expérimentale de deux types de fromages à pâte molle de type camembert ; en utilisant une technologie de type stabilisée et une autre traditionnelle.

Cette étude, réalisée au Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale. Certaines analyses ont été établies au laboratoire privé de contrôle de qualité AFAK Oran et avaient pour objectif :

La maîtrise de l'affinage d'un camembert en optimisant le temps d'affinage par l'utilisation d'une flore de maturation B.M "*Brevibacterium- Micrococcus* "

Optimiser l'affinage : cela signifie assurer des fabrications aussi régulières que possible , essayer de modifier en connaissance de cause certains paramètres technologiques ou microbiologiques de façon à obtenir un fromage de flaveur apprécié et de texture conforme à un fromage pâte molle

- Méthodologie :

- 1- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une flore lactique mésophile (camembert traditionnel)
- 2- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une flore lactique thermophile (camembert stabilisé)
- 3- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une culture lactique mixte mésophile complétée d'une flore d'affinage B.M
- 4- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une culture lactique mixte thermophile complétée d'une flore d'affinage B.M

- Analyses réalisées :

-contrôle de la matière première : lait

-Contrôle des paramètres de fabrication - Suivi du fromage à J+3, J+5, J+7 et à J+10

- Suivi des cellules bactériennes viables au début d'affinage et à la fin de l'affinage
- Analyse sensorielle comparative.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

LE FROMAGE

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le fromage

1. Fromage

1.1. Définition

Selon la norme **Codex alimentarius (codex standard 283-1978)**, le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure et dans lequel le rapport protéines de lactosérum-caséines ne dépasse pas celui du lait

On obtient le fromage par plusieurs étapes de fabrication, mais la principale étape est la coagulation, soit complète ou partielle du lait ou sans l'action d'enzymes coagulants (présure) ou d'autres agents coagulants, suivi de l'égouttage qui est dans le but d'éliminer le lactosérum résultant de cette coagulation (**Carole, 2002**)

1.2. Différentes types de fromage

Il existe différents types de fromage qui varient essentiellement selon la texture, le goût, l'odeur, la forme, l'aspect de la pâte du fromage etc. Cette différence dépend de la qualité et de l'origine du lait, de la manière de la transformation, du traitement thermique, des ferments utilisés est d'autre part de la technologie appliquée.

D'une façon générale la variété des fromages s'explique par quatre facteurs essentiels : L'activité de la présure, de l'activité fermentaire, de la teneur en eau, des techniques utilisées dans la fabrication (**Carole, 2002**)

1.2.1. Fromage frais

Le fromage frais est un fromage qui peut être consommé directement après sa fabrication, c'est le seul fromage qui n'est pas affiné juste peu égoutté (**Jaime le fromage.ch, 2019**). Ce fromage subit une coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques, le caillage du lait est obtenue après l'ajout des ferments et de présure, puis égouttage léger pour obtenir à la fin une pâte fraîche consistance plus ferme, il présente un taux d'humidité très élevé de 70 à 80% , la pâte fraîche a une couleur blanche, une texture molle lisse crémeuse et granuleuse, elle peut être mélanger avec d'autre arômes et ingrédients comme les herbes fines et les fruits. La durée de

conservation de ce type de fromage est très courte, entre une semaine à une quinzaine de jours (Chamba et Irlinger, 2004)



Figure 01 : Fromage à pâte fraîche

1.2.2. Fromage fondu

Il est le produit de la fonte d'un fromage ou d'un mélange des fromages de différents origines et de différents stades d'affinage, il doit contenir 43% de matière sèche et 40% de matière grasse, en plus, la fonte se fait à 100°C à l'aide d'un mélange de sels de fonte (ElShabassy, 2017), le procédé de la fonte est de transformer les protéines des fromages (la para caséine insoluble en solution fluide de para caséine) par une chaleur humide. Le produit semi-fini pasteurisé passe d'un état homogène et fluide à un gel homogène après un crémage post-pasteurisation. (St-Gelais. Tirard-Collet., 2002)



Figure 02 : Fromage à pâte fondue

1.2.3. Fromage à pâte molle

C'est un fromage affiné avec une pâte ni cuite ni pressée, fabriqué à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de lait pasteurisé, il a une texture crémeuse et onctueuse, sa teneur en eau est supérieure à 67 % après élimination des matières grasses (Codex Stan A-6-1978, révisé 1-1999, amendé 2001)

Dans cette catégorie, on distingue : les fromages pâte molle à croûte fleurie, et les fromages pâte molle à croûte lavée.



Figure 3 : Fromage à pâte molle

1.2.4. Fromage à pâte pressée

Le fromage à pâte pressée c'est un fromage qui a subi une pression mécanique sur le caillé et qui a un effet direct sur la structure, plus cette pression est forte plus le taux de lactosérum éliminé est important et la pâte fromagère est plus dure. Ce fromage a une pâte compacte qui contient un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium. Dans ces types de fromage on a : les fromages à pâte pressée non cuite et les fromages à pâte pressée cuite. (Parente et Cogan, 2004; Yildiz, 2010)

1.2.4.1. Fromages à pâte pressée cuite

C'est un fromage avec une pâte qui contient 40% d'humidité, le caillé de ce fromage est chauffé à plus de 45°C pour éliminer le maximum de lactosérum, puis il est affiné plus de 6 mois à un an. (Nouari et Bouziani, 2018)



Figure 4 : Fromage à pâte pressée cuite

1.2.4.2 Fromages à pâte pressée non cuite

Ce sont des fromages à pâte ferme (comme le saint-paulin), ne contiennent que 45% d'humidité, ils ont une durée d'affinage un peu plus longue, et se conservent plus longtemps que les autres fromages.

Il y a aussi des fromages à pâte pressée non cuite demi ferme (comme le cheddar) qui contient 40 à 60% d'humidité et qui subit une période d'affinage de 6 semaines à plus d'un an. **(Nouari et Bouziani, 2018)**

1.2.5. Fromages à pâte dure

C'est des fromages essentiellement d'origine italienne. Les étapes de production de ces fromages et leur technologie sont proches de celles propres au fromage à pâte pressée cuite, ils ont une teneur en eau relativement basse, généralement entre 30% et 40% et ils sont plus riches en matière sèche par rapport aux pâtes pressées cuites. Ces fromages se conservent de 2 à 3 ans **(Majdi., 2009).**

1.2.6. Fromages à pâte filée

Produits grâce à la technique de filage, qui est unie par le traitement du caillé avec de l'eau bouillante qui réduit la caséine en brins très fins et très longs (caséine devient filante), Il est originaire de l'Italie du sud, même si aujourd'hui d'autres pays en produisent, c'est un fromage fabriqué de lait de vache ou de lait de brebis, il passe par beaucoup d'étapes de fabrication (pasteurisation, acidification chimique et microbienne, coagulation, coupe, agitation, échappement, maturation du caillé, filature et salage, formation Refroidissement, salage) **(Majdi., 2009).**

2. Fromages à pâte molle

2.1. Définition

Il est originaire de France, c'est un fromage dont le caillé, au moment de la transformation, n'est soumis ni à un chauffage ni à une pression, le degré et le temps d'affinage ainsi que les ferments sont les principaux caractères de variétés de saveur et de texture, il contient 40 à 50 % de matière

sèche et 50 à 60 % d'humidité, la consistance crémeuse est la caractéristique essentielle de ce type de fromages, la douceur qui distingue un fromage à pâte molle d'un fromage à pâte dure provient de la teneur plus élevée en eau de la matière non grasse. La maturation se déroule de l'extérieur vers l'intérieur de la pâte et prend généralement 2 à 8 semaines d'affinage. La plupart des fromages à pâte molle sont traités à la surface avec des cultures de champignons spéciales, **(Codex Stan A-6-1978, révisé 1-1999, amendé 2001)**

2.2. Différentes types de fromages à pâte molle

2.2.1. Fromages de pâte molle à croûte fleurie

Ces fromages se caractérisent par une croûte blanche recouverte d'un duvet de moisissure blanc qui se développe pendant l'affinage ce qui leur donne le nom de croûte fleurie il a une pâte souple, onctueuse et fondante **(Pradal 2012)**, l'aspect de la croûte est du à la présence d'un champignon (penicillium) pulvérisé à la surface après salage et égouttage (ex : camembert, brie).

2.2.2. Fromages de pâte molle à croûte lavée

la surface des fromages à croûte lavée est généralement traitée par une culture bactérienne spécial (*Bactérium linens*) , le mode de fabrication des fromages à croûte lavée est le même que celle pour les fromages à croûte fleurie, sauf que la surface de ce fromage est lavée en saumure légère et brossée à plusieurs reprises afin d'éliminer les moisissures qui se forment , le fromage est lavée pour être plus humide, plus souple ; permettant la croissance d'un type particulier de bactéries qui donnent la couleur de la croûte typique rouge –brun , en maintenant une humidité superficielle .Ce fromage s'affine à une température de 10 à 15°C et à une humidité près de 90% **(St-Gelais. Tirard-Collet., 2002)**.

2.3. Camembert

2.3.1. Définition

Le camembert est un fromage à pâte molle et à croûte fleurie, de couleur blanche avec une surface entièrement recouverte des moisissures blanches, à caillé non divisé en forme de cylindre plat. Il a un diamètre de 10 à 11 cm et une épaisseur de 3 cm, il contient 40 % de matière grasse et 110 g de matière sèche, C'est un fromage qu'il n'est pas prêt à la consommation après

fabrication car il doit être affiné pendant un certain temps sous certaines conditions d'affinage. (Veisseyre., 1979 ; Eck, 1987)

2.3.2. Composition et valeur nutritionnelle

Le camembert est l'un des meilleurs aliments nutritionnels et une véritable source de protéines et ayant une digestibilité élevée, il a une valeur nutritive importante pour la santé du consommateur, il contient 30 à 50% de matière azotée et de matière sèche, les protéines lui confèrent une composition équilibrée en acides aminés. (Mahaut et al., 2000)

Pour la matière grasse, le camembert contient 25 à 40% ce qui donne l'onctuosité à la pâte. (Neelakanten. et al., 1971)

Pour le lactose, il est transformé en acide lactique au cours de l'affinage, le camembert est dépourvu de glucides et contient qu'une faible quantité de lactose dans le caillé et après affinage.

Pour les autres composants, le fromage à pâte molle de type camembert contient dans 100g : 100 à 200 mg de calcium, phosphore 123 mg, sodium 238, zinc 1mg et des vitamines A, B2, B9, B12. (Eck., 1990)

| Composition et valeur nutritionnelle | Teneur en g |
|--------------------------------------|--------------|
| Protéines | 20 g |
| Lipides | 20 à 28 g |
| Glucides | 0,1 g |
| Calcium | 0,15 à 3,8 g |
| Eau | 54.9 g |
| Valeur énergétique | 276 Kcals |

Tableau 01 : Valeur nutritionnelle et énergétique du camembert (Mahaut et al., 2000)

2.3.3. Valeur énergétique

Le fromage est un aliment à valeur calorique ; le fromage à pâte molle de type camembert n'échappe pas à cette règle il contient presque 300 kcals pour 100 g (**Staff, 2019**).

3. Matière première : Le lait

La fabrication du fromage à pâte molle type camembert nécessite un lait de haute qualité bactériologique et physico-chimique qui détermine ses aptitudes à la transformation avec un bon rendement fromager et une bonne qualité hygiénique et organoleptique. Les Pays produisant des grandes quantités de fromages à l'exemple de la France et la Suisse utilisent le lait cru pour la fabrication du camembert .En Algérie, le lait reconstitué remplace le lait cru à cause de la faiblesse de notre production nationale. (**TalebBendiab, 2017**)

3.1. Lait cru

Le lait cru doit apporter sa richesse naturelle pour la fabrication d'un bon camembert. C'est-à-dire une richesse en micro-organismes naturels vivants qui vont façonner le fromage en arômes caractéristiques, en texture et apporter la typicité propre au camembert. Aussi la transformation du lait cru en camembert dépend d'autres paramètres liés à sa composition chimique et plus précisément sa richesse en caséine, de la nature de la microflore apportée ainsi que de son aptitude à la transformation. (**TalebBendiab; 2017 ; Tiphaine, 2017**)

3.2. Microbiologie du lait

L'importance des bactéries contaminant le lait dépend de l'état sanitaire du cheptel, de la nature de l'alimentation, de l'environnement de la vache, du matériel de la traite et de collecte et de la température de conservation du lait, Selon leur importance, on classifie les microorganismes du lait en deux grandes classes : la flore originelle (indigène), et la flore contaminante, cette dernière est divisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène. (**Agabriel et al., 1995**),

3.2.1. La Flore originelle

Le lait à la sortie du pis de la vache contient un ensemble des microorganismes ; c'est la flore originelle. Le lait est pratiquement avec sa flore naturelle, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles, Il s'agit de Micrococcus 30 – 90%, mais aussi streptocoques lactiques <10% et lactobacilles 10 - 30%. (**Vignola, 2002**)

3.2.2. La flore contaminante

La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait (extérieurement au pis de la vache) au cours des stades de production. Depuis la récolte jusqu'à la consommation, elle peut se composer d'une part d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels (de goût, d'arôme et de texture) et réduira la durée de conservation des produits laitiers, et d'autre part d'une flore pathogène qui causera des maladies chez les consommateurs (**Vignola, 2002**).

3.3. Lait reconstitué

C'est un lait liquide composé de poudre de lait et de l'eau de reconstitution, fabriqué en ajoutant des éléments qui manquaient au produit d'origine (**Cirad, 2019**). Le lait reconstitué est ajouté au lait de vache comme amendement protéique au déficit constaté.

3.3.1. Poudre de lait

C'est le produit solide obtenu par élimination totale de l'eau du lait, elle contient au minimum 34 g de protéines dans 100 g de matière sèche dégraissée. Selon le taux de matière grasse, on définit trois (03) types de poudre selon le taux de matière grasse : la poudre de lait entière ; la poudre de lait partiellement écrémée et la poudre de lait écrémée (**JORA, 1998**)

3.3.2. Eau de reconstitution

L'eau de reconstitution est celle utilisée dans le mélange (poudre + eau) pour obtenir le lait reconstitué, elle doit être de bon qualité bactériologique et chimique, filtrée et débarrassée des métaux lourds (**Luquet, 1990**)

4. Etapes de fabrication du fromage à pâte molle de type camembert

La production de camembert comme pour la plupart des fromages passent par différentes étapes de production : de la préparation du lait, à sa transformation en caillé fromager et enfin à son affinage.

4.1. Standardisation

Tous les laits n'ont pas les mêmes aptitudes à la transformation fromagère car ils présentent des caractéristiques différentes et des variations de la teneur en matières azotées et en matières grasses. La standardisation est réalisée pour corriger la teneur en matière grasse et en matière azotée selon le type de fromage à élaborer, pour le camembert la matière grasse M.G du lait doit se situer autour de 28 g/l et le taux de protéines doit être supérieur à 31 g/l de lait. (**Abdoune, 2003**)

4.2. Pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique destiné à prolonger la période de conservation du lait et à modifier physiquement et chimiquement le lait ainsi que l'inactivation complète des enzymes et la destruction des microorganismes pathogènes, elle se fait pour la fabrication pâte molle de type camembert entre 72 -75°C pendant 15-20 sec (**Guiraud, 2003; Bertrand, 1988**)

4.3. Maturation

Après la standardisation et la pasteurisation le lait doit subir une maturation biologique à la température d'ensemencement en flore lactique sélectionnée qui permet aux micro-organismes du lait de se développer et d'acidifier le lait pour assurer une coagulation (**Lenoir et al., 1983**).

Dans le cas des laits pasteurisés l'enrichissement peut se faire avec trois types d'ensemencement:

- En ferments lactiques ;
- En flore fongique d'affinage : *Penicillium candidum* et *Géotrichum candidum*;
- En flore bactérienne d'affinage : *Brevibacterium* et *Micrococcus* .

4.4 La coagulation

La coagulation est l'étape la plus importante dans la fabrication du fromage, c'est la transformation du lait de l'état liquide à l'état de gel (coagulum), elle commence au moment où l'on ajoute la présure pour provoquer la coagulation du lait. Elles résultent des modifications physico-chimiques.

Dans le cas de fromage à pâte molle type camembert la coagulation est mixte, coagulation enzymatique (base chymosine) avec une coagulation acide (base flore lactique). La température et le pH idéal pour débiter la coagulation est une température comprise entre 28 et 37°C et un pH de 6.3 à 6.4 (Codex Alimentarius, 2010, Cholet, 2006).

4.4.1. Coagulation acide

Elle consiste à précipiter les caséines à partir de leur point isoélectrique $pH_i = 4.6$ par acidification biologique à l'aide de ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique ou par acidification chimique, l'acidification entraîne une diminution des charges négatives des micelles de caséine et de la couche d'hydratation, aussi le calcium et le phosphore minéral devient soluble, les micelles des caséines se libèrent avec une réorganisation protéique pour former un réseau puis un gel à pH de 4,6 (Mahaut et al., 2000)

4.4.2. Coagulation enzymatique

La coagulation enzymatique se fait par l'action de la présure qui est une enzyme protéolytique provenant de caillettes de veaux non sevrés. Cette enzyme à deux fractions actives : l'une majeure (80 %), constituée par la chymosine, l'autre mineure (20 %), représentée par la pepsine (ECK A., 1990). le mécanisme d'action de la présure est bien établi et comporte trois phases :

- ❖ **Phase primaire ou enzymatique** : déclenche la coagulation par hydrolyse de la caséine k au niveau de la liaison phénylalanine 105 et méthionine 106 il y a libération d'une caséine macro peptide (CMP) (Mahaut, 2003)
- ❖ **Phase secondaire** : elle commence dès que le pH atteint 6,8 ; 80 à 90% de la caséine Kappa est hydrolysée, le CMP se détache de la caséine K et la micelle perde son

caractère hydrophile, ensuite des liaisons hydrophobes et électrostatiques se forment entre les micelles modifiées ce qui entraîne la formation du gel (**Mahaut, 2003**)

- ❖ **Phase tertiaire** : les micelles sont réorganisées par des liaisons phosphocalciques et peut être des ponts disulfure entre les para caséines. Beaucoup de facteurs ont un effet sur la coagulation comme la température le pH, la concentration enzymatique, la teneur en calcium et la composition en caséine ...

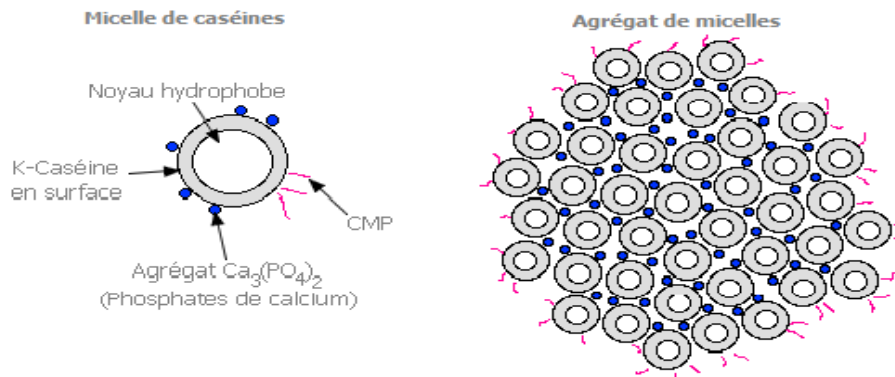


Figure 5 : Flocculation micellaire du lait (wikipedia)

4.4.3. Coagulation mixte

La coagulation mixte c'est la combinaison entre les deux voies de coagulation enzymatique (présure) et acide (bactérie lactique), elle est utilisée généralement dans la coagulation des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite.

4.5. Tranchage

C'est l'étape de découpage de caillé, le tranchage multiplie les surfaces de contact et aide à dégager le lactosérum emprisonné dans le caillé. (**Ramet., 1985**)

4.6. Moulage

Le moulage est une étape essentielle dans la fabrication du camembert, elle permet de donner au fromage une forme et permet aussi d'éliminer le reste du lactosérum, dans le cas de camembert, le caillé est placé dans des moules rondes ou ovales en utilisant 2 à 2,1 litres de lait par moule

4.7. L'égouttage

L'égouttage est une étape commune dans la plupart des procédés de fabrication des fromages qui permet essentiellement d'accélérer la synérèse puis de séparer le lactosérum de caillé, dans cette étape la plus grande partie des éléments solubles sont éliminés dans le lactosérum, le caillé a donc une composition variable selon la quantité de lactosérum éliminé

4.7.1. L'égouttage du gel présure

L'agrégation des micelles crée des alvéoles c'est donc une porosité de type alvéolaire L'acidification se produit surtout après le rapprochement des caséines ; le gel devient très minéralisé et la cohésion et l'organisation de la structure augmente au cours de l'égouttage, la porosité et la perméabilité diminuent (**Mahaut, 2003**)

4.7.2 Egouttage de coagulum acide

Le caillé est très déminéralisé se contracte peu et s'égoutte faiblement le gel présente une forte perméabilité qui conduit à un simple écoulement du lactosérum qui reste plus au moins faible a cause du manque de concentration, à la fin de l'affinage le fromage devient une pâte humide sans cohésion , par la présence de 75 à 80% d'eau emprisonnée (**Carole, 2002**)

4.7.3 Egouttage mixte

La porosité totale correspond à une porosité alvéolaire et porosité micellaire c'est à dire l'aptitude de l'égouttage et intermédiaire entre celles des gels obtenus par voie enzymatique et par voie acide, la structure de type présure acquiert de la perméabilité pendant l'acidification ce qui favorise la poursuite de la synérèse, de plus pour une même niveau de synérèse, un ralentissement de l'acidification augmente le caractère présure du caillé et une accélération de l'acidification augmente le caractère lactique du caillé (**Carole, 2002**)

CHAPITRE II :
AFFINAGE DES FROMAGES ET
OPTIMISATION

Chapitre II : Affinage des fromages et optimisation

1.1. Affinage et optimisation de la maturation du fromage de type camembert

C'est la dernière étape de la fabrication du fromage, l'affinage correspond à une digestion enzymatique des constituants du caillé pour donner au fromage une texture et une saveur caractéristique et unique selon le type du fromage élaboré (**Jeant et al., 2007**),

C'est une étape complexe qui compte trois phénomènes biochimiques ; la fermentation du lactose, l'hydrolyse de la matière grasse et la dégradation des protéines (**Mietton, 1995**)

Généralement, beaucoup d'enzymes et de substrats peuvent intervenir à l'affinage, on les appelle les agents d'affinage.

2. Potentialités enzymatiques du fromage en affinage

2.1. Les enzymes de plusieurs origines (lait, les agents coagulants, les microorganismes)

- ❖ **Plasmine** : intervient dans les fromages à pâte pressée cuite et non cuite avec un lent affinage
- ❖ **Phosphatase alcaline** : rôle dans les fromages issus de lait pasteurisé
- ❖ **Lipase** : elle intervient dans les fromages de lait cru
- ❖ **Présure** : agent coagulant ajouté au lait, dominant dans les fromages à pâte pressée non cuite

2.2. Enzymes d'origine microbienne : elles appartiennent à 5 groupes microbiens

❖ Les bactéries lactiques :

- Les lactocoques : flore dominante dans les pâtes molles et pâtes pressées non cuites
- Les lactobacilles et streptocoques thermophiles flores utilisées dans les pâtes pressées cuites
- Les leuconstoc : rôle dans l'ouverture du fromage à pâte pressée

- ❖ **Les bactéries propioniques** : produisent à partir de la lactase et de l'acide propionique responsable de l'ouverture des pâtes pressées cuites
- ❖ **Les bactéries de surface** : *Micrococcus* et *Brevibacterium* rencontrés dans la pâte à croûte lavée
- ❖ **Les levures** : en surface des fromages
- ❖ **Les moisissures** : à la surface des pâtes à croûte fleurie dont le *penicillium camemberti*

Dans le cas des fromages à pâte molle type camembert ; l'affinage se fait avec des conditions spécifiques ; l'endroit ou la cave doit être humide (humidité entre 85% et 95%), la durée d'affinage se situe entre 12 et 45 jours à une température de 10 à 14°C, l'affinage se fait de la surface de la pâte à l'intérieur, et le pH doit atteindre 7,4 en surface et 6,9 au centre à la fin d'affinage. Les principaux groupes microbiens présents dans la flore du camembert et intervenant au cours de l'affinage sont les ferments lactiques, les *Micrococcus*, le *penicillium candidum*, *Brevibacterium linens* (Cholet, 2006; Mahaut, 2003),

3. Moyens de maîtrise de l'affinage

3.1. Contrôle des paramètres d'affinage

Le bon déroulement de l'affinage résulte généralement des caractéristiques physico-chimiques du caillé fromager et de sa composition enzymatique, il repose aussi sur un contrôle des paramètres d'affinage qui permettent d'agir sur le développement des microorganismes. Les paramètres liés à la salle d'affinage sont : l'humidité relative, la température, et le flux d'air.

3.2. Humidité relative

Le contrôle de l'humidité de la salle est essentiel, La teneur en humidité d'un fromage influence la vitesse de l'affinage, l'humidité relative de l'air dans les chambres d'affinage influe directement sur la dessiccation de fromage et participe au réglage de l'indice de disponibilité de l'eau. En pratique l'humidité relative sera de :

90% à 95% lorsque la flore dominante est de nature bactérienne et de 85% à 90% lorsque la flore dominante est de nature fongique (Carole, 2002)

3.3. Température

La température est un facteur très important, la plus simple à contrôler dans les locaux de fromagerie, la maîtrise de la température dans les chambres d'affinage passe par un bon matériel d'affinage et aussi une bonne isolation, l'activité enzymatique et microbienne varie selon la température, avec une moyenne comprise entre 10°C et 15°C ; un seuil de température excellent et idéal pour la croissance des microorganismes. Le fromage à pâte molle est affiné entre 8 et 23°C (**Picque; Guillemin, 2013**)

3.4. Flux d'air

La ventilation provient soit des équipements des locaux, soit des renouvellements d'air par ouverture des portes. Elle joue un rôle sur l'homogénéité interne de l'ambiance et le renouvellement efficace de l'air au contact du fromage, la vitesse de l'air favorisent principalement le séchage de la surface du fromage et l'évaporation de l'eau contenue dans les fromages (**Gauzere, 2016**)

Selon **Ribadeau Dumas (1984); Vassal et Gripon (1987)**; la composition de l'atmosphère peut intervenir dans le processus de l'affinage, dont la concentration en oxygène est l'un des facteurs important,

Les moisissures et les bactéries corynéformes de l'affinage en surface sont aérobies strictes, les fromages à pâte molle comme le camembert sont affinés dans des chambres aérées, une chambre mal contrôlée ou présentant un mauvais équilibre de l'oxygène peut conduire au développement des microorganismes nuisibles

4. Maîtrise du microbiote à l'affinage des fromages à pâte molle

Différentes microflores vont intervenir durant l'affinage du fromage, les microbiotes présentes en surface du camembert sont les principaux agents de l'affinage elles vont agir sur la texture, la saveur, et la croûte du fromage, mais aussi les microbiotes présentes dans la pâte vont jouer un rôle sur l'affinage, (**Raynaud, 2016**). Les microbiotes utilisés dans la fabrication du camembert sont: des microbiotes endogènes naturellement présents dans le lait, et des microbiotes exogènes apportés par un ensemencement des ferments sélectionnés par le fromager comme les *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp*, *Penicillium camemberti*, *Geotrichum*

candidum, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pédiococcus acidilactici* , *Brevibacterium linens*.
(Mounier et al., 2007)

Après l'égouttage et au début d'affinage, La population microbienne totale de la surface et celle de l'intérieur sont presque égaux. Après quelques jours la microflore superficielle devient plus riche.

Le caillé acide de type stabilisé est essentiellement peuplé de ferments lactiques, au début d'affinage, les streptocoques lactiques représentent la flore dominante du camembert en surface qu'à l'intérieur, mais à la fin d'affinage leur importance diminue en surface et représente que la moitié de la flore totale, et à l'intérieur elles représentent les trois quarts au moins de la flore totale, les autres genres appartenant au groupe des bactéries lactiques acidophiles : des Lactocoques, des Leuconostocs, des Lactobacilles, des Entérocoques et des Pédiocoques.

La surface du fromage est couverte d'une flore acidophile où les levures sont dominante, et le nombre de levures en surface est nettement plus élevé qu'à l'intérieur; de plus, après quatre jours, le *Geotrichum candidum* se développe, les filaments mycéliens de *Penicillium caseicolum*ensemencé apparaissent et commence à former un feutrage blanc à la surface du fromage. Ces moisissures consomment l'acide lactique, désacidifient la pâte et, ainsi, permettent le développement d'une dernière microflore superficielle constituée essentiellement de *Bacterium Linens* et de divers *Micrococcus* , les *Micrococcus* sont présents en nombres égaux dans la surface et sur la partie interne du caillé, mais, comme au cours de l'affinage ils se développent très rapidement en surface, alors qu'à l'intérieur leur nombre reste à peu près constant, .Si l'évolution de la flore de surface est bien connue, celle de la flore interne l'est beaucoup moins
(Lenoir, 1963)

4.1. La microflore d'un fromage à pâte molle

Les fromages à pâte molle contiennent différentes flores microbiennes, ces microorganismes se développent et partagent les nutriments disponibles, et profitent des métabolites libérés .Des interactions microbiennes provoquant la disparition de certains et la croissance d'autres.
(Champigny, 2011)

| Règnes | Mycètes (champignon) | | Bactéries | | |
|---------------|--|---|---|--|--------------------------|
| | Levures | Moisissures | Bactéries lactiques | Staphylocoque et bactéries coryneformes | Autre bactéries à Gram - |
| Genres | Geotrichum Debaryomyces Kluyveroyces Candida Saccharomyces Yarrowia | Penicillium Mucorales Rhizpus Cladosporium Fisarium | Enterococcus Lactobacilluls Leuconostoc Lactococcus Streptococcus | Brevibacterium Micrococcus Staphylococcus Corynebacterium | pseudomonas |

Tableau 02 : les principaux microorganismes rencontrés au cours de l'affinage (Laithier C. 2011)

4.2. La flore lactique

Dans le processus de transformation du lait en fromage à coagulation lactique ou mixte, la microflore lactique est la première flore à intervenir c'est une flore utile, selon leurs caractéristiques biochimiques et génétiques et composition de leur paroi cellulaire les bactéries lactiques sont classées en différents genres : Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus et Streptococcus. Ces bactéries sont retrouvées généralement sur le fromage à pâte molle de type camembert et forment la flore lactique. Elle sont généralement Gram positives, catalase négatives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoleérantes, leur forme peut être en coques ou en bacilles, de plus elles sont soit mésophiles avec une température de croissance variant entre 20 et 30 °C ou thermophiles avec une croissance entre 37°C et 45°. Le rôle essentiel des bactéries lactiques est de dégrader le lactose (le sucre de lait) en acide lactique c'est la fermentation lactique, mais elles ont aussi des rôles à l'affinage comme la production des composants d'arômes et l'ouverture de la pâte fromagère. De plus presque 90% de ces bactéries lactiques sont homofermentaires. (Stiles et Holzappel, 1997)

Les bactéries lactiques sont soit présentes naturellement dans le lait depuis la traite ouensemencés volontairement dans le lait, il ya 2 type de ferment, un premier ferment mixte de type mésophile composé essentiellement de Lactococcus, Leuconostoc et Pédicoccus ; utilisé à

des températures de maturation-caillage ne dépassant pas les 35 °C pendant la phase d'acidification , et un deuxième ferment mixte de type thermophile composé principalement de *Streptococcus thermophilus* , de *Lactobacillus helveticus* et de *Lactobacillus delbrueckii* ; utilisé à une température entre 37 et 40 °C en début de fabrication. Ces bactéries soit mésophiles ou thermophiles se développent très rapidement pour atteindre une population de 10⁹ ufc/g, (**Fleet, 1999 ; Parente et Cogan, 2004**) .La flore lactique du Camembert est marquée quantitativement par les lactocoques qui atteignent généralement 10⁹ ufc/g au cours de l'affinage (**Richard, 1984 et Desmasures, 1995**),

4.3. Flore d'affinage

Les flores d'affinage composées soit de bactéries, de levures ou de moisissures ont une grande importance, parce qu'elles donnent des qualités spécifiques à chaque type de fromage, soit la texture la saveur et une croûte caractéristique.

4.4. Levures

Les levures sont 10 à 40 fois plus grosses que les bactéries, de forme ovale elliptique ou rectangulaire ; elles se développent en produisant des renflements appelés bourgeons (**Carole, 2002**), elles sont présentes dans le lait cru mais détruites au cours de la pasteurisation, mais on les retrouve dans les fromages parce qu'elles proviennent de la contamination par l'atmosphère et le matériel de fromagerie, et aussi par un ensemencement volontaire de surface (**Gauzere, 2009**)

Les levures ont un rôle de neutralisation, permettent la croissance des espèces acido sensibles, la réduction des sucres résiduels, la production d'arômes et elles ont aussi des intérêts à l'optimisation de l'affinage par leur aptitude de développement rapide dans l'environnement d'affinage et leur interaction avec les autres flores d'affinage.

Les espèces de levures habituellement retrouvées dans les fromages de types Camembert sont : Debaryomycès et Kluyveromyces (**Beresford et Williams., 2004**).

4.4.1. *Geotrichum candidum*

Cette espèce est caractérisée par des colonies crémeuses, de couleur blanche-crème, utilisée comme un ferment dans les fromages du type camembert, a un rôle essentiel dans l'affinage, et un rôle considérable dans l'élaboration de l'aspect final, sur l'arôme et sur le goût du fromage, permet aussi la désacidification rapide du caillé en s'installant rapidement à la surface du fromage (**Berger et al., 1999**)

4.5. Les Moisissures

Les moisissures sont dix fois plus grandes que les levures, elles ont une forme très structurée appelée thalle qui peut rappeler un arbre ou un pissenlit, une partie appelée hyphe et autre appelée mycélium. Elles sont des microorganismes aérobies obligatoires qui s'établissent surtout à la surface des fromages à pâte molle de type camembert, diminue l'acidité de la pâte par la consommation d'acide lactique et produisent aussi des quantités d'enzymes protéolytiques et lipolytiques et ont un rôle important dans la formation des caractéristiques sensorielles des fromages. La principale espèce de moisissure c'est le *Penicillium camemberti* ou appelé aussi *Penicillium candidum*. (**Champigny, 2011**)

4.5.1. *Penicillium camemberti*

Penicillium camemberti est la moisissure des fromages à pâte molle de type Camembert (**Lenoir et al., 1983**). Elle est filamenteuse, aérobie stricte, sensible aux teneurs en dioxyde de carbone et sensible au sel (**Leclercq Perlat et al., 2006**). C'est une moisissure qui peut croître à des températures de 4 à 37 °C, et à pH entre 2 et 8.5, a une présentation agréable et joue des rôles dans la production d'enzymes, production d'arômes, lutte contre les contaminants, diminution du goût de champignon, activité protéolytique et activité lipolytique et a aussi un rôle en association avec le *Geotrichum candidum* soit le développement d'une couverture fine et peu dense (**Gauzere, 2009**)

4.6. Les Micrococcus

Micrococci et Staphylococci sont des bactéries de surface qui jouent un rôle très important à l'affinage des fromages surtout dans les fromages à pâte molle type camembert, elle sont des cocci à catalase négative, immobiles, anaérobies facultatifs, produisent des acides sans gaz à

partir de glucose, la température de croissance optimale de ces bactéries est de 25 à 37°C, leurs activités protéolytiques, lipolytiques estérasiques et peptidiques, permettant de libérer de nombreux acides aminés, ainsi d'améliorer la texture et l'arôme et aussi de colorer et de sécher la croûte, ont une halotolérance élevée (15% de NaCl) et un rôle dans la réduction du temps d'affinage (**Gauzere, 2009**)

4.7. *Brevibacterium*

Brevibacterium linens est une bactérie corynéforme, aérobie stricte, mésophile, a une température optimale de croissance entre 25 et 30°C et une minimale de 10 à 12°C, et un pH minimal de 6, elle est fréquemment isolée de la surface des fromages affinés de type pâte molle à croûte fleurie ; le camembert, se développe en surface, et parfois au cœur du fromage, les levures favorisent le développement des *Brevibacterium linens* grâce à la production des peptides facilement assimilables, des vitamines et aussi grâce à la remontée du pH, possède une activité protéolytique et lipolytique et est en mesure de produire des substances antimicrobiennes, et aussi a un effet bactériostatique sur les autres microorganismes par la production des composés soufrés responsables des arômes typiques d'ail, de chou, de croupi. De plus par sa production de caroténoïdes, les *Brevibacterium* sont responsables de la couleur orangée de la croûte (à rouge-orangée) visible sur la croûte et typique des camemberts (**Mounier et al, 2007**). D'autres sont capables de produire des composés aromatiques comme le méthane thiol (MTL) (**Rattray et Fox, 1999**)

RECHERCHE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I :

MATERIEL ET METHODES

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Méthodologie

Le travail est réalisé au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales LSTPA de Mostaganem avec des analyses effectuées au laboratoire de la Laiterie Errawda de Mostaganem et au laboratoire privé de contrôle de qualité AFAK Contrôle Oran. La méthodologie globale de l'optimisation du fromage à pâte molle type camembert est répartie en trois étapes :

- ❖ Analyses microbiologique et physico-chimique des laits utilisés,
- ❖ Production des fromages à pâte molle de type stabilisé et de type traditionnel avec utilisation d'un microbiote contrôlé d'affinage composé de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosum*,
- ❖ Analyses microbiologiques et physico-chimiques des fromages au début et en cours d'affinage.
- ❖ Analyses sensorielles des fromages

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel biologique et milieux

- **Matériel biologique et fromager**

-Lait cru de vache

-Lait reconstitué

-Ferment thermophile (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus acidophilus*) et ferment mésophile (*Lactococcus lactis* et *Pediococcus acidilactici*)

-Ferment d'affinage *Penicillium candidum* (camemberti), *Brevibacterium* et *Micrococcus*

- **Milieux et réactifs**

-Gélose Baird-Parker

-Gélose au Désoxycholate.

-Gélose M17.

-Gélose Plate Count Agar (PCA).

-Gélose VRBL

-Bouillon PCA

-Présure

2.1.2. Equipements et produits chimiques

- **Produits chimiques**

-Un indicateur de pH : la phénolphtaléine

-Solution de l'acide sulfurique

-Solution d'alcool iso-amylque

- Solution de NaOH.

-Eau distillée

- **Equipements**

-Lactostar

-Incubateur

-Un acidimètre Dornic

-Stomacher

-Agitateur vortex

-Microscope optique

-PH mètre

-Milkoscan FT2

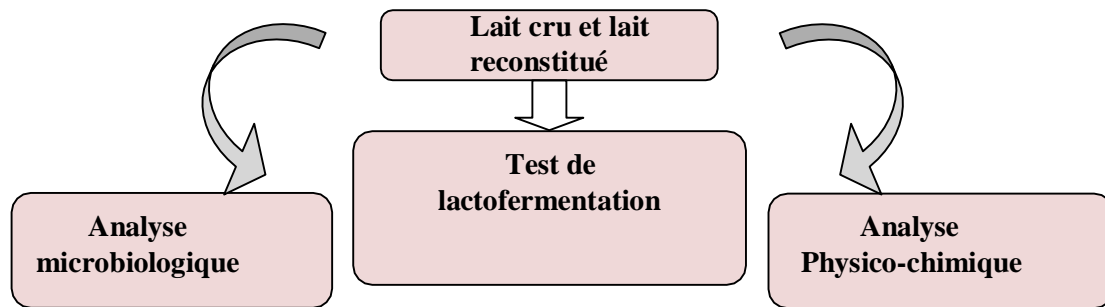
-Balance de précision

-Dispositif d'acidité titrable

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des laits

Le lait utilisé dans la fabrication de nos camemberts est un lait mélange composé de lait de vache et de lait reconstitué. Le lait reconstitué a été ajouté au lait de vache comme amendement protéique.



2.2.2. Analyses physico-chimiques du lait reconstitué, du lait cru et du mélange

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été effectuées au sein du laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales LSTPA de l'université de Mostaganem

Par le biais d'un **LactoStar** on détermine les paramètres suivants (recommandées par la F.I.L ISO 707 Octobre 2018 et du C.I.P.C Lait AFNOR /Lait N°2011-02) :

a- L'extrait sec total EST

e- La densité

b- Le point de congélation

f- La teneur en lactose

c- La teneur en matières grasses

d- La teneur en protéines

Par le biais d'un MilkoScan FT 2 du laboratoire AFAK d'Oran pour la détermination de la matière minérale de nos laits



Figure 06 : Equipements d'analyse du lait :LactoStar et MilkoScan FT2

2.2.3. Analyses microbiologiques des laits

La détermination de la flore totale, de la flore lactique et de la flore pathogène d'altération a été effectuée au niveau de notre laboratoire expérimental LSTPA.

Le dénombrement a porté sur les Coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, Salmonelles, Enterocoques lactiques et Lactocoques.

2.2.3.1. Dénombrement des Coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes a été effectué sur le milieu Lactosée Billée au Cristal Violet et au Rouge Neutre (VRBL), 1ml estensemencé, pour chaque dilution, dans la masse d'environ 15 ml de Gélose VRBL en boîte de Pétri et en suite incubé à 37°C pendant 24 h

2.2.3.2. Dénombrement des Coliformes fécaux

L'ensemencement des coliformes fécaux est effectué par la même méthode sur le milieu VRBL suivi d'une incubation à 44°C pendant 48 h. Les coliformes fécaux sont des bactéries produisant du gaz à partir de lactose à 44°C donnant des colonies rouges sur le milieu Lactosée Billée au Cristal Violet et au Rouge Neutre (VRBL)

2.2.3.3. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un cocco bactérie Gram positif, catalase positive, son diamètre est d'environ 0,5 à 1,5 µm, non sporulé, facultativement anaérobique et immobile.

Le dénombrement est effectué sur le milieu Baird-Parker, 0,1 ml de chaque dilution estensemencé puis étalé en surface de la gélose Baird-Parker recoulée en boîte de pétri à l'avance. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

2.2.3.4. Dénombrement des Salmonelles

Ce sont des bactéries à Gram négatif qui se présentent sous forme de bacilles

0,1 ml de la dilution estensemencée en trois cadrans en surface du milieu solide d'isolement la gélose au Désoxycholate puis incubée de 24 à 48 heures à 37°C

2.2.3.5. Dénombrement de la flore lactique et de la flore totale

Ils sont recherchés sur gélose M17 et MRS pour le dénombrement et l'isolement, 0,1 ml de chaque dilution estensemencée en surface de la gélose puis incubée à 37°C pendant 48h à 72h. Le dénombrement des entérocoques lactiques est réalisé sur gélose M17 suivi d'une incubation à 30°C pendant 24 h à 48 h.

Le dénombrement de la flore totale est réalisé sur milieu P.C.A avec une partie à 30°C et une autre à 37°C pendant 24 h à 48 h (**Montel et al.,2014**)

2.2.4. Test de lactofermentation

Le test de lactofermentation permet d'apprécier la qualité microbiologique du lait, détecter la présence de germes indésirables

- **Principe**

Une incubation à température constante et contrôlée du lait favorise le développement de certains germes indésirables. Si l'un de ces germes est présent dans le lait, sa multiplication provoquera une modification du caillé obtenu.

L'obtention d'un caillé bien lisse est une garantie de l'aptitude du lait à l'acidification et de l'absence de germes indésirables qui peuvent avoir des conséquences d'ordre technologique non sollicitées

- **Méthode**

- Se laver soigneusement les mains
- Utiliser des tubes stérilisés
- Avant le prélèvement, agiter le lait nonensemencé
- Introduire du lait dans le tube stérile
- Incuber à 37 °C pendant 24 heures dans la mesure du possible, travaillé en conditions stériles (prêt d'une flamme)

- **Interpréter les résultats**

1. Gel homogène : Fermentation lactique dominante. Lait de qualité apte à la transformation : qualité satisfaisante
2. Gel spongieux avec des bulles difformes : Développement de bactéries coliformes : contamination fécale : lait non conforme
3. Caillé floconneux avec exsudation importante de sérum : Fermentations de bactéries acidifiantes et indésirables entraînant une protéolyse du lait en même temps que l'acidification : présence d'une flore d'altération

4. Caillé digéré : Développement de bactéries psychrotrophes aspect liquide : suspicion de présence d'antibiotique ou d'antiseptiques : acidification-fermentation bloquée

2.2.5. Caractérisation physico-chimiques des fromages

La connaissance des propriétés physico-chimiques des fromages est importante pour l'optimisation des procédés de conservation ou de transformation. Nous abordons dans cette partie les méthodes utilisées pour caractériser les fromages à pâte molle fabriqués au laboratoire. Les analyses physico-chimiques sont réalisées au niveau d'un laboratoire privé AFAK Contrôle Oran.

2.2.5.1. Mesure du pH et de la température

Le pH et la température de l'échantillon sont déterminés en utilisant un PH-mètre numérique où l'électrode a été insérée directement dans l'échantillon, Les valeurs sont lues directement sur l'écran de l'appareil trois répétitions sont réalisées (ElShabassy, 2017).

2.2.5.2. Détermination de l'acidité titrable

Elle est déterminée selon la méthode officielle de l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists, AOAC 947.05) (AOAC, 1995). C'est la détermination volumétrique de l'acidité titrable d'un échantillon, cette acidité renseigne sur la quantité d'acide lactique dans l'échantillon. Le titrage de l'acide lactique se fait par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1N en présence de quelques gouttes de phénophtaléine comme indicateur coloré. Dix gramme (10g) de fromage sont placés dans un bécher, un volume de 40 ml d'eau distillée à (60°C) sont ensuite ajoutés à l'échantillon, le tout est mélangé et homogénéisé en utilisant un vortex à faible vitesse. La suspension obtenue est transférée dans un erlen, le récipient est rincé deux fois avec 30 ml d'eau distillée à (60°C), l'eau de rinçage est ajoutée à la suspension, puis le volume de cette dernière est complété à 100 ml avec l'eau distillée. Un volume de 50 ml de la suspension obtenue est titré par la solution de (NaOH) jusqu'au virage de la couleur vers le rose.

L'acidité titrable, exprimée en gramme d'acide lactique par cent grammes de fromage brut est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable} = \frac{V (\text{NaOH}) \times N(\text{NaOH}) \times 90,05}{V_t}$$

V : Volume en millilitre de la solution de NaOH.

N : Normalité de la solution de NaOH.

90,05 : Masse moléculaire de l'acide lactique (CH₃CHOCOOH) (g/mole).

V_t: le volume de la prise d'essai (ml).

2.2.5.3. Détermination de l'extrait sec total (EST)

Cette méthode consiste à une évaporation de l'eau de la prise d'essai dans une étuve (Memmert) à une température de 103°C et la pesée du résidu, selon la méthode AOAC 926.08 (AOAC, 1995). Dans une capsule métallique préalablement séchée, 25 g de sable sec sont mélangés avec 3 g de fromage à l'aide d'une baguette en verre, l'ensemble est chauffé dans un four pasteur pendant 3 heures à 103°C. Une fois le temps écoulé, la capsule est refroidie dans un dessiccateur contenant le gel de silicate. Après pesée, l'échantillon est réchauffé, refroidi et repesé dans les mêmes conditions précédentes. Cette opération est répétée jusqu'à obtention d'un poids constant.

L'EST est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{EST} = \frac{C_2 - C_0}{C_1 - C_0} \times 100$$

C₀ : Masse de la capsule + le sable + la baguette en verre (g).

C₁ : Masse de la capsule + le sable + la baguette en verre + le fromage(g).

C₂ : Masse de la capsule + le sable + la baguette en verre + le fromage après étuvage (g).

2.2.5.4. Détermination de l'humidité

Pour calculer l'humidité on utilise la formule suivante :

EST : représente l'extrait sec.

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

2.2.5.5. Détermination du taux de la matière grasse (MG)

La détermination du taux de la MG est réalisée selon la méthode de **Van Gulik, (ISO 3432|FIL 221:2007)**. Elle est basée sur la dissolution des protéines par l'acide sulfurique et la séparation de la matière grasse par centrifugation dans un butyromètre à godet perforé, cette séparation est favorisée par l'addition de l'alcool iso-amylque. Une prise d'essai de 3g de fromage est pesée dans un godet en verre perforé, ce dernier est placé dans un butyromètre à fromage. Ensuite, l'acide sulfurique (H₂SO₄, d=1,52) est ajouté jusqu'à émerger le godet, le tout est mis dans un bain Marie à 70°C durant 3h. Ensuite, 1 ml d'alcool iso-amylque (3-méthyl-1-butanol) est ajouté à l'échantillon, puis le volume est complété par l'acide sulfurique jusqu'à la graduation 35%.

Le butyromètre est centrifugé à 1000 rpm/10 min. Après centrifugation, le résultat est lu sur les graduations du butyromètre.

2.2.5.6. Rapport matière grasse/matière sèche (G/S)

Le rapport matière grasse/matière sèche, exprimée en gramme pour 100 g de matière sèche est donné par la formule suivante :

$$R = \frac{G}{S} \cdot x100$$

G : matière grasse

S : matière sèche

R : Rapport %.

2.2.5.7. Détermination de la teneur en azote total (protéines)

La détermination de la teneur en azote totale est effectuée par la méthode de Kjeldahl, elle consiste en une minéralisation de l'échantillon par chauffage en présence d'un mélange d'acide sulfurique concentré, de sulfate de potassium et de sulfate de cuivre, utilisés comme catalyseurs pour convertir l'azote organique de l'échantillon en sulfate d'ammonium.

Le produit de la réaction est additionné de la soude pour libérer de l'ammoniac qui sera titré par une solution d'acide chlorhydrique en présence d'acide borique (**Lynch et Barbarano, 1999**).

II.2.5.7.1. Minéralisation

Une prise d'essai de 1g de fromage est pesé dans un tube en verre appelé matras, ensuite, 5g de sulfate de potassium (K₂SO₄), 0,5 g de sulfate de cuivre (CuSO₄) et 15 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄ ,0.2 N) ont ajoutés à l'échantillon, ensuite le matras est placé dans l'appareil de Kjeldahl à une température de 400°C pendant 1h30min.

2.2.5.7.2. Distillation et dosage de l'azote total

Le matras est refroidi à température ambiante, puis son contenu est dilué avec 75 ml d'eau distillée qui servent en même temps à rincer les parois du matras. Ensuite, ce dernier est raccordé à l'appareil de distillation où 60 ml (3x20ml) de l'hydroxyde de sodium à 30% sont ajoutés à l'échantillon. L'ammoniac produit (suite à l'ajout de la solution de NaOH), est capté avec 25 ml d'acide borique (H₃BO₃) qui vire du rose au vert. L'ammoniaque contenu dans la solution d'acide borique est titré avec une solution d'acide sulfurique à 0,1N jusqu'à obtention de la couleur de départ de l'acide borique (rose).

L'azote total de l'échantillon est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Azote total en\%} = \frac{(\text{Cb} - 0,1) \times \text{N} \times 14}{\text{Pe}} \times \frac{100}{1000}$$

Cb : Chute de la burette (ml).

N : Normalité de l'acide sulfurique (solution de titration).

14 : Masse équivalente de l'azote.

Pe: Masse de la prise d'essai (g).

La quantité des protéines totales est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Azote totale en \%} \times \text{F}$$

F : facteur de conversion de l'azote en protéines = 6,38

2.2.6. Analyses microbiologiques du fromage

Une analyse microbiologique est réalisée juste après fabrication, après salage et lors de l'affinage à 15°C.

2.2.6.1. Préparation de la solution mère

Dans des conditions d'asepsie, 1 g de fromage est homogénéisé dans 90 ml d'eau physiologique stérile, dans un broyeur stomacher pendant quelques secondes, ce qui forme la solution mère (10^{-1}). Une série de dilutions décimales est réalisée en prélevant 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution 10^{-2} , puis après homogénéisation de cette dernière, la même opération est répétée pour la préparation du reste de dilutions (Guiraud, 2003).

2.2.6.2. Dénombrement des différentes flores

Les différentes flores dénombrées et les dilutions utilisées sont rapportées dans le tableau N°03. Les méthodes utilisées sont celles décrites dans la partie analyse microbiologique relative au dénombrement de la flore lactique et de la flore totale du lait cru.

N.B : La solution mère a été préparée en réalisant une dilution au dixième (10 g de fromage homogène que l'on dilue dans 90 ml d'eau physiologique stérile). A partir de cette solution mère, des dilutions décimales adaptées à l'échantillon ont été effectuées.

Tableau 03 : Flores dénombrées et dilutions utilisées dans l'analyse microbiologique des fromages

| Flore | Dilution |
|----------------|-----------------------------------|
| Flore totale | 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} |
| Flore lactique | 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} |

2.2.7. Dosage du taux de NaCl dans les fromages au cours de l'affinage

Le dosage du taux de sel de nos fromages a été effectué au laboratoire AFAK par un analyseur TITRALAB HACH version LLV2303.97.1102 qui permet de déterminer la teneur en sel des produits laitiers solides et liquides : l'analyseur est doté d'une électrode de dosage, d'un agitateur magnétique et de la cellule de titrage.

Le dosage est possible après dilution à 10% soit de 1 grammes de fromage dans 9 ml d'eau distillée

2.2.8. Revivification contrôle biochimique et macroscopique-microscopique du microbiote d'affinage composé de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosus*

2.2.8.1 Revivification des souches

Les deux souches de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosus* ayant subies une longue conservation de plus de 06 mois, ont été revivifiées, en procédant comme suit :

On ensemence 100 µl de chaque souche conservée dans un tube contenant 5 ml de bouillon PCA hyper salé à 4%, suivi d'une incubation à 25°C pendant 72 heures

Les résultats de revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu

Les souches revivifiées ont été purifiées par ensemencement par stries sur gélose chapman et incubées à 25 °C pendant 72 heures

2.2.8.2. Observation macroscopique et microscopique

Une observation à l'œil nu des colonies obtenues afin de déterminer la taille, la forme et la couleur des cultures bactériennes obtenues

2.2.8.3. Observation microscopique

L'examen microscopique a été effectué après coloration de Gram à partir des cultures obtenues et qui permet de décrire la forme des cellules et leurs modes d'association, après réalisation des frottis colorés

2.2.8.4 Contrôle biochimique

2.2.8.4.1. Test de production de la catalase

Pour mettre en évidence la production de cette enzyme , on prélève à l'aide d'une anse de platine une colonie bien isolée à partir d'une culture jeune de 72 heures , qu'on étale sur une lame bien propre et sèche , où se trouve déjà une goutte d'eau oxygénée à 10% . La présence de catalase se manifeste par une effervescence instantanée qui indique une formation de bulles d'air, dues à la dégradation de l'eau oxygénée, alors la bactérie est dite catalase (+) et s'il n'y a aucune réaction, elle est catalase (-) (**Guiraud, 1998 ; Prescott, 2003**).

2.2.8.4.2. Test d'oxydase

Le teste d'oxydase c'est la base de l'identification des bactéries Gram (-), sur une lame de verre, déposer un disque pré-imprégné par le réactif et écraser avec une effilure de pipette pasteur une colonie de germes *Micrococcus* et *brevibacterium* sur ces deux disque, si la colonie prend une couleur rose, violette, le germe possède une oxydase, donc le test est positif, et si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, donc le test est négatif.(Guillaume P.Y, 2004)

2.2.9. Essai de fabrication des fromages expérimentaux

Dans le cadre de notre expérimentation, nous avons réalisé des essais de fabrication de nos fromages à pâte molle au niveau du laboratoire LSTPA et de l'atelier expérimental de notre encadreur M DAHOU.A suivant le diagramme préétabli et comme suit :

- 1- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une flore lactique mésophile (camembert traditionnel)
- 2- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une flore lactique thermophile (camembert stabilisé)
- 3- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une culture lactique mixte mésophile complétée d'une flore d'affinage B.M
- 4- Fabrication d'un fromage à pâte molle avec une culture lactique mixte thermophile complétée d'une flore d'affinage B.M

(Voire fiche technique de la culture d'affinage B.M en Annexes N°06)

2.2.10. Diagramme de fabrication réalisé au laboratoire et au niveau de l'atelier pour les essais du fromage à pâte molle type camembert

Jour J :

Préparation des laits

- Standardisation en matière grasse MG à 25 -26 g/L
- Pasteurisation à 75°C pendant 15 secondes
- Adjonction de 0,25 g/L de chlorure de calcium (CaCl_2) pour réajuster l'équilibre minéral
- Maturation du lait à une température de 37°C pendant 1H30 pour obtenir 6,25 à 6,35 de pH

N.B : Ensemencement du lait avec un microbiote exogène lactique :

1/ Thermophile de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus acidophilus* pour fabriquer un fromage à pâte molle stabilisée

→ Complément du microbiote avec du *Penicillium candidum* (*camemberti*)

2/ Mésophile de *Lactococcus lactis* et de *Pediococcus acidilactici* pour fabriquer un fromage à pâte molle traditionnelle

→ Complément du microbiote avec du *Penicillium candidum* (*camemberti*)

L'optimisation de l'affinage des deux types de fromage sera par un microbiote d'affinage composé de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosum*

- Coagulation du lait :

- Emprésurage avec 2,5 ml d'extrait de présure animale (extraite de la caillette de veau au laboratoire LSTPA de Mostaganem) pour 10 litres de lait

- Temps de prise : 12 minutes

- Coagulation totale : 48 minutes

- Temps de raffermissement du caillé : 60 minutes

- Tranchage-synérèse : Durée 30 à 40 minutes

- Les grains de caillé obtenus ont 2,5 cm de côté, le lactosérum a une acidité qui varie de 13 à 16°D soit un pH de 6,70-6,75. Eventuellement un léger brassage est éventuellement entrepris en cas de difficulté de synérèse, sa réalisation est à 15 minutes après le tranchage

- Moulage, avec 2 à 2,1 litres de lait par moule de 250 gr selon sa richesse en M.A.P intervient après avoir soutiré 25 à 30% du lactosérum. L'acidité de ce dernier se situe à 16-18°D soit un pH de 6,65 à 6,7.

- Egouttage en moules :

- Retournement : Il s'effectue en trois étapes selon l'ordre chronologique

- 1^{er} retournement : 30 minutes après moulage

- 2^{ème} retournement : 03 heures après moulage

- 3^{ème} retournement : 06 heures après moulage

| | 3H | 6H | 9H | Démoulage après 15 à 18 heures |
|----------------|------|------|------|--------------------------------|
| Acidité | 30°D | 60°D | 90°D | 110 -115 °D |
| pH | 6,25 | 5,70 | 5,10 | 4,9 -4,8 |

→ Jour J+1 : Pré-affinage

- Démoulage : caillé à pH : 4,7 -4,8 , 40-42% d'E.S.T et 0,35-0,4% de Ca/ E.S.T
- Salage : en saumure pour avoir 1,7 -1,8% de NaCl
- Ressuyage : 15 à 18 heures à 15°C et 85% d'HR

Jour J+2 :

- Affinage : 9 à 10 jours à 12-13°C et 90-95% d'HR, retournements à **J+3 à J+5 et à J+7**

Tableau 04 : Evolution de la composition du camembert en cours d'affinage (selon la norme F.I.L ISO 707 octobre 2018)

| Type | Début d'affinage (J+2) | | Fin affinage (J+11) | |
|-------------------|------------------------|-----------|---------------------|-----------|
| | MG% | ES% | MG% | ES% |
| Camembert 40% G/S | 16-16,5 | 40-41 | 17,5-18 | 43-44 |
| Camembert 45% G/S | 18-18,5 | 41,5-42,5 | 20-20,5 | 44,5-45,5 |

2.2.11. Analyse sensorielle

Une évaluation sensorielle a été réalisée sur un panel constitué de 10 jurys du laboratoire composé d'enseignants chercheurs ,de doctorants et d'étudiants en master , les modalités sur lesquelles sont portés les critères d'évaluation sont validées par une fiche de dégustation établie par la fédération internationale du lait F.I.L pour l'analyse sensorielle des fromages. Le bulletin d'analyse des modalités évaluées est illustré en **Annexe 5**. Les résultats de l'analyse sont traités à partir du barème d'évaluation défini sur la fiche F.I.L 2018



Figure 07 : Les quatre types de fromages au cours de l'analyse sensorielle

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre II : Résultats et Discussions

1- Résultats

1.1 Analyses microbiologiques et physico-chimique des laits utilisés

1.1.1 Analyses microbiologiques des laits utilisés

Tableau 05 : Analyses microbiologiques des laits utilisés

| ANALYSES REALISEES | lait utilisé | | | Normes |
|-----------------------------------|---------------|------------------|--------------|-----------------------|
| | lait de vache | Lait reconstitué | lait mélange | |
| Germes totaux germes /ml à 37°C | 380000 | 210000 | 275000 | < à 300000 germes /ml |
| Germes psychrotrophes /ml à 15°C | 110000 | 65000 | 85000 | moins de 25000 |
| Germes mésophiles /ml à 30°C | 195000 | 105000 | 209000 | moins de 150000 |
| Germes thermophiles /ml à 45°C | 850 | 500 | 610 | moins de 1000 |
| Germes pathogènes g/ml | | | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> g/ml | 10 | 25 | 12 | 100 |
| Coliformes g/ml | 150 | 80 | 95 | 500 |
| Coliformes fécaux g/ml | Absence | Absence | 10 | Absence |
| Salmonella g/ml | Absence | Absence | Absence | Absence dans 25 ml |
| Flore lactique UFC/ml | | | | < à 85000 germes /ml |
| Entérocoques lactiques UFC/ml | 62000 | 150 | 40000 | |
| Lactocoques UFC/ml | 150 | 210 | 160 | |

1.1.2 Analyses physico-chimiques des laits utilisés

Tableau 06 : Analyses physico-chimiques des laits utilisés

| ANALYSES REALISEES | lait utilisé | | | Normes | |
|-----------------------------------|---------------|------------------|--------------|-----------|-------------|
| | lait de vache | lait reconstitué | lait mélange | | |
| calcium mg/100ml | 95 | 116 | 103 | 120 à 140 | |
| Phosphore mg/100 ml | 75 | 84 | 78 | 85 à 90 | |
| ca/P | 1,27 | 1,38 | 1,32 | 1,4 à 1,6 | |
| Rendement fromager % au démoulage | / | | | 12,25 | 12 à 12,5% |
| Rendement en MS% au démoulage | | | | 40,75 | 40 à 41% |
| Temps de prise min | | | | 12 | 5 à 12 min |
| Temps de coagulation min | | | | 48 | 20 à 50 min |
| Temps de raffermissement min | | | | 60 | 25 à 60 min |

| Résultats analyses physico-chimiques par Lactoscan (du laboratoire) | lait utilisé | | | Normes |
|--|---------------|------------------|--------------|------------------------------|
| | lait de vache | lait reconstitué | lait mélange | |
| PH | 6,65 | 6,68 | 6,7 | 6,6 à 6,8 |
| Extrait sec total % | 10,9 | 12,2 | 11,5 | 11 à 12% |
| Matière protéique % | 3,05 | 3,36 | 3,21 | 3,2 à 3,4% |
| Matière grasse % | 3,2 | 2,05 | 2,61 | 2 à 2,8% |
| Lactose % | 4,4 | 4,8 | 4,6 | 4,2 à 5,2% |
| Cryoscopie °C | -0,528 | -0,542 | -0,535 | entre -0,525 à -0,540 |
| Densité du lait à 20°C | 1029 | 1034 | 1031 | 1030 à 1034 |
| TEST DE LACTO FERMENTATION | gel digéré | gel homogène | gel homogène | gel homogène |

1.2. Production des fromages à pâte molle de type stabilisé et de type traditionnel avec utilisation de microbiote d'affinage composé de *Brevibacterium linens* et de *Micrococcus xylosu*

1 .2.1 Revivification et purification des souches d'affinage : *Brevibacterium* et *Micrococcus*

Suite à la revivification des 02 souches d'affinage sur bouillon nutritif hyper salé à 4% à 25°C pendant 72 heures, il apparaît un trouble sur les tubes. La purification de ces souches sur le milieu gélosée Chapman hyper salé à 4‰ est confirmée par une observation microscopique et appréciée par le test de catalase et une coloration de Gram

1 .2.2 Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose a révélé des colonies visibles, de taille similaire pour chaque genre (environ 1 mm de diamètre pour les *Micrococcus* s et 1,2 mm de diamètre pour les *Brevibactérium*), de forme ronde bombée avec une couleur jaunâtre brillante pour les *Micrococcus* et de petite taille lenticulaire bombée rosée pour les *brevibactériums* (Annexe D)

Le test de catalase confirmant la pureté des souches a donné un résultat positif et une oxydase négative

1 .2.3 Examen microscopique

La caractérisation microscopique basée sur la coloration de Gram a donné une coloration Gram positif, des bactéries de forme bacille court pour les *brevibactériums* et en forme de coques groupés pour les *Micrococcus* (figures 08 et 09).

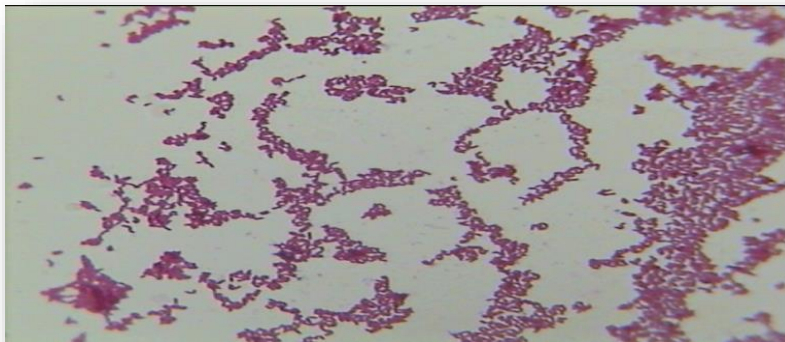


Figure 08 : Photo microscopique du *Brevibactérium* (G X100)

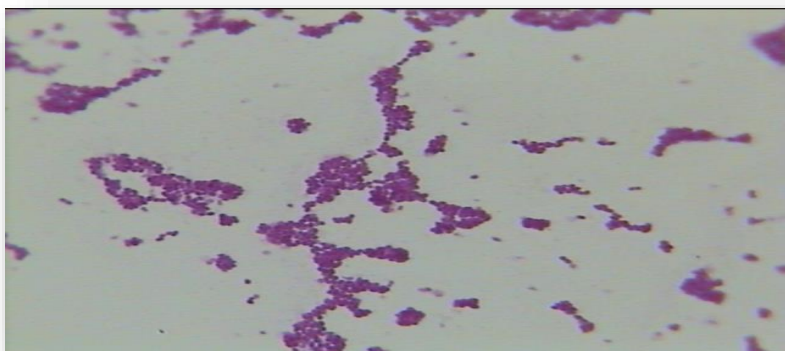


Figure 09 : Photo microscopique du *Micrococcus xylosum* (G X100)

I.2.4 Choix des microbiotes pour les essais réalisés

Pour la fabrication de nos essais de camembert avec les flores mésophiles et thermophiles, 04 essais ont été réalisés avec 04 types de microbiotes différents décrits ci-dessous

Tableau 07 :Microbiote sélectionné pour l’essai témoin 100% mésophile (M1)

| Composition | Action enzymatique | Effet sur l’affinage | Proportion utilisée % |
|--------------------|---------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Lactocoques | Acidification | Protection acide | 85% |
| Pédiocoques | Fermentation-Protéolyse | Consistance-goût et odeur du fromage | 15% |

Tableau 08 : Microbiote sélectionné pour l’essai témoin 100% thermophile (T1)

| Composition | Action enzymatique | Effet sur l’affinage | Proportion utilisée % |
|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Lactobacilles et Streptocoques | Acidification-protéolyse | Consistance –goût | 50%-50% |

Tableau 09 : Microbiote sélectionné pour l’essai à base d’une culture lactique mésophile avec la culture d’affinage mixte *Brevibacterium-Micrococcus* (M2)

| Composition | Action enzymatique | Effet sur l’affinage | Proportion utilisée % |
|--------------------|---------------------------|--|------------------------------|
| Lactocoques | Acidification | Protection acide | 75% |
| Pédiocoques | Fermentation-Protéolyse | Consistance-goût et odeur du fromage | 15% |
| Micrococcus s | Protéolyse-lipolyse | Coloration de la croûte –goût et odeur | 5% |
| Brevibacteriums | Protéolyse-lipolyse | Coloration de la croûte-goût et odeur | 5% |

Tableau 10 : Microbiote sélectionné pour l'essai à base d'une culture lactique thermophile avec la culture d'affinage mixte *Brevibactérium-Micrococcus* (T2)

| Composition | Action enzymatique | Effet sur l'affinage | Proportion utilisée % |
|--------------------------------|---------------------------|--|------------------------------|
| Lactobacilles et Streptocoques | Acidification-protéolyse | Consistance –goût | 45%-45% |
| Micrococcus s | Protéolyse-lipolyse | Coloration de la croûte –goût et odeur | 5% |
| Brevibactériums | Protéolyse-lipolyse | Coloration de la croûte-goût et odeur | 5% |

1.3 Analyses microbiologiques et physico-chimiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire

1.3.1 Analyses microbiologiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire

Les tableaux ci-dessous montrent les résultats des analyses microbiologiques des fromages (camembert mésophile et thermophile) du début d'affinage jusqu'à fin affinage

Tableaux 11 : Analyses microbiologiques des fromages au démoulage

| Analyses microbiologiques | Fromages au démoulage | | | |
|--|-----------------------|--------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| Flore lactique totale germes UFC /g | 1750000 | 2150000 | 1980000 | 1800000 |
| Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g | 1280000 | 25000 | 22000 | 1215000 |
| Flore lactique thermophiles à 37°C UFC/g | 250 | 1750000 | 1850000 | 380 |
| Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g | Absence | Absence | 1500 | 950 |

Tableaux 12 : Analyses microbiologiques des fromages après salage

| Analyses microbiologiques | Fromages après salage | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| Flore lactique totale UFC /g | 1250000 | 1900000 | 1650000 | 1350000 |
| Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g | 1215000 | 18000 | 19500 | 1100000 |
| Flore lactique thermophiles à 37°C UFC/g | 75 | 1500000 | 1380000 | 150 |
| Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g | Absence | Absence | 1100 | 785 |

Tableaux 13 : Analyses microbiologiques des fromages à J+3

| Analyses microbiologiques | Fromages à J+3 | | | |
|--|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| Flore lactique totale germes UFC /g | 1200000 | 1875000 | 1500000 | 1275000 |
| Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g | 1185000 | 5200 | 7850 | 975000 |
| Flore lactique thermophiles à 37°C UFC/g | 25 | 1375000 | 1180000 | 37 |
| Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g | Absence | Absence | 2750 | 1250 |

Tableaux 14 : Analyses microbiologiques des fromages à J+7

| Analyses microbiologiques | Fromages à J+7 | | | |
|--|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| Flore lactique totale germes UFC /g | 975000 | 1250000 | 1100000 | 925000 |
| Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g | 75000 | 350 | 85 | 65000 |
| Flore lactique thermophiles à 37°C UFC/g | 0 | 37500 | 58000 | 0 |
| Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g | Absence | Absence | 8150 | 5200 |

Tableaux 15 : Analyses microbiologiques des fromages à J+10

| Analyses microbiologiques | Fromages à J+10 | | | |
|--|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| Flore lactique totale germes UFC /g | 750000 | 925000 | 825000 | 715000 |
| Flore lactique mésophiles à 30°C UFC/g | 13500 | 0 | 0 | 27500 |
| Flore lactique thermophiles à 37°C UFC/g | 0 | 12500 | 18000 | 0 |
| Flore bactérienne d'affinage à 15 °C UFC/g | Absence | Absence | 175000 | 98000 |

1.3.2 Analyses physico-chimiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire

Les 05 tableaux ci-dessous montrent les résultats des analyses physico-chimiques du camembert mésophile et thermophile depuis le début de l'affinage jusqu'à la fin de l'affinage

Tableau 16 : Analyses physico-chimiques des fromages au démoulage

| Analyses Physico-chimiques (%) | Fromages au démoulage | | | |
|--------------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| pH | 4,8 | 5,2 | 5,2 | 4,8 |
| Acidité dornic | 90 | 75 | 75 | 90 |
| EST | 41 | 38 | 38 | 41 |
| MG | 16 | 17 | 17 | 16 |
| MP | 23,5 | 23,5 | 23,5 | 23,5 |
| Humidité | 54 | 58 | 58 | 54 |
| Taux de sel | 0,25 | 0,12 | 0,12 | 0,25 |
| G/S | 39,02 | 44,74 | 44,74 | 39,02 |
| température °C | 18 | 18 | 18 | 18 |

Tableau 17 : Analyses physico-chimiques des fromages après salage

| Analyses Physico-chimiques (%) | Fromages après salage | | | |
|--------------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| pH | 4,7 | 5 | 5 | 4,7 |
| Acidité dornic | 95 | 70 | 70 | 95 |
| EST | 41,5 | 39,2 | 39,2 | 41,5 |
| MG | 15,8 | 16,7 | 16,7 | 15,8 |
| MP | 23 | 23 | 23 | 23 |
| Humidité | 50 | 54 | 54 | 50 |
| Taux de sel | 1,85 | 1,78 | 1,78 | 1,85 |
| G/S | 38,07 | 42,60 | 42,60 | 38,07 |
| température °C | 15 | 15 | 15 | 15 |

Tableau 18 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+3

| Analyses Physico-chimiques (%) | Fromages à J+3 | | | |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| pH | 4,7 | 5 | 5 | 4,7 |
| Acidité dornic | 95 | 70 | 70 | 95 |
| EST | 41 | 39 | 39 | 41 |
| MG | 15,6 | 16,5 | 16,5 | 15,6 |
| MP | 22,7 | 22,7 | 22,7 | 22,7 |
| Humidité | 52 | 55,8 | 55,8 | 52 |
| Taux de sel | 1,9 | 1,82 | 1,82 | 1,9 |
| G/S | 38,05 | 42,31 | 42,31 | 38,05 |
| température °C | 12,70 | 13,10 | 13,20 | 12,80 |

Tableau 19 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+7

| Analyses Physico-chimiques (%) | Fromages à J+7 | | | |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| pH | 5 | 5,4 | 5,8 | 5,2 |
| Acidité dornic | 70 | 66 | 62 | 75 |
| EST | 40,7 | 38,6 | 38,4 | 40,5 |
| MG | 15,5 | 16,4 | 16 | 15,2 |
| MP | 22,5 | 22,2 | 21,7 | 22,1 |
| Humidité | 51,7 | 55,4 | 55,6 | 51,8 |
| Taux de sel | 1,87 | 1,77 | 1,78 | 1,85 |
| G/S | 38,08 | 42,49 | 41,67 | 37,53 |
| température °C | 12,50 | 12,70 | 12,60 | 12,40 |

Tableau 20 : Analyses physico-chimiques des fromages à J+10

| Analyses Physico-chimiques (%) | Fromages à J+10 | | | |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| | témoin Mésophile | témoin thermophile | thermophile avec flore d'affinage | mésophile avec flore d'affinage |
| pH | 5,3 | 5,7 | 6,1 | 5,6 |
| Acidité dornic | 71 | 64 | 58 | 62 |
| EST | 40,2 | 38,4 | 38 | 40,2 |
| MG | 15,4 | 16,2 | 15,25 | 15 |
| MP | 21,8 | 21 | 20,5 | 21,3 |
| Humidité | 51,4 | 54,8 | 55,1 | 51,6 |
| Taux de sel | 1,82 | 1,75 | 1,71 | 1,8 |
| G/S | 38,31 | 42,19 | 40,13 | 37,31 |
| température °C | 13,40 | 13,70 | 13,80 | 13,50 |

Le tableau ci-dessous donne les normes physico-chimiques définies par la F.I.L

Tableau 21 : Les normes F.I.L concernant les analyses physico-chimiques des fromages à pâte molle type camembert

| Analyses Physico-chimiques (%) | Normes F.I.L |
|------------------------------------|-------------------------|
| pH | 5,8 à 6,5 |
| Acidité dornic | 55 à 60 |
| EST | 34,5 à 37,5 |
| MG | 15,10 à 15,5 |
| MP | 20 à 21 |
| Humidité | 52 à 56 |
| Taux de sel | 1,5 à 1,85 |
| G/S | 40 à 45 |
| température °C | 12 à 15 |
| Analyses microbiologiques | |
| Flore lactique totale UFC/g | 750000 à 1000000 |

1.4. Analyses sensorielles des fromages affinés

Les résultats du test de dégustation du fromage fabriqué sont résumés sur le tableau suivant :

Tableau 22 : Analyses sensorielles des fromages affinés

| Examen du jury de dégustation | Témoin Mésophile Fromage M1 | Témoin thermophile Fromage T1 | Fromage issu d'une culture thermophile avec flore d'affinage Fromage T2 | Fromage issu d'une culture mésophile avec flore d'affinage Fromage M2 |
|---|--------------------------------|----------------------------------|--|--|
| 1/ Examen visuel | | | | |
| Aspect de la surface | 7,5 | 7 | 7 | 8,5 |
| Aspect du fromage | 7,25 | 7 | 7,1 | 8 |
| 2/ Examen olfactif | | | | |
| Arôme | 7,85 | 7,15 | 7,5 | 8 |
| Intensité | 8,1 | 7 | 8 | 8,5 |
| 3/ Examen gustatif | | | | |
| Saveur | 8,25 | 7 | 8,1 | 8 |
| Sensation | 7,85 | 7 | 7,75 | 8 |
| Appréciation générale /10 | 7,80 | 7,03 | 7,58 | 8,17 |
| Classement des fromages / à l'appréciation finale | 2 | 4 | 3 | 1 |
| Durée d'affinage en jour | 16 | 11 | 9 | 13 |
| pH Final | 6,08 | 6,12 | 6,1 | 6,07 |

DISCUSSION

2. Discussion

2.1. Analyses microbiologiques des laits

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 et de la préparation du lait reconstitué servant à une standardisation du lait de vache en masse protéique jusqu'au traitement thermique adopté suivant la charge microbienne dénombrée sur nos laits servant à obtenir un lait de mélange conforme à l'essai de fabrication de nos fromages à pâte molle.

2.1.1. Flore totale mésophile aérobie

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait, elle est considérée comme le facteur déterminant 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 dans nos laits utilisés à la transformation montre que nos échantillons sont de bonne qualité au vu des normes F.I.L Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 qui fixent le seuil de contamination à 300000 germes par ml et ce malgré que le lait cru présente un seuil de 380000 germes /ml qui révèle un manque de respect des bonnes pratiques de production, du stockage du lait de la traite et au niveau des transvasements des laits des 02 traites .

Comparant nos résultats avec celles d'**Amhoury, (2010)**, la flore mésophile et la flore psychrophile dépassent les normes tolérables à cause de la durée de stockage au froid dépassant le temps préconisé.

Le refroidissement trop lent du lait cru l'exposant à des températures élevées contribue également dans la sélection de la flore mésophile. **Caucquil (2011)** montre que la traite manuelle apporte plus de bactéries mésophiles et de coliformes que la traite mécanique automatisée qui est plus maîtrisable sur le plan nettoyage et respect des règles d'hygiène à la traite.

2.1.1.1. Coliformes totaux

Les résultats présentent un dénombrement moyen en coliformes totaux de 80 germes /ml sur le lait reconstitué et 150 germes sur le lait cru soit une conformité par rapport aux normes FIL des laits destinés à la transformation fromagère. Notre mélange présente 95 germes /ml de coliformes totaux ; ceci témoigne le respect des règles d'hygiène et de préparation nécessaire

à la conformité de notre matière première destinée à l'essai.

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.

2.1.1.2. Salmonelles

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination, ce qui est conforme à la réglementation adoptée pour la transformation laitière. Nos résultats concernant l'absence de salmonelles dans le lait, concordent avec ceux de **Srairi et Hamama (2006)**, **Affif et al. (2008)**.

2.1.1.3. Staphylocoques

La norme F.I.L concernant le *Staphylococcus aureus* est le non dépassement d'un seuil de 100 germes /ml de lait fromager. Les résultats obtenus présentent une moyenne de 10 à 25 germes /ml de lait. Nos laits analysés sont donc conformes à la norme.

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 (**Rainard et Poutrel, 1993**).

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.

2.1.2. Flore lactique

Le dénombrement de la flore lactique nous a permis d'isoler sur le lait de vache des entérocoques lactiques avec 62000 UFC /ml et des lactocoques avec 150 UFC /ml.

La gestion et la connaissance préalable des communautés microbiennes dont la flore lactique sur nos laits vise d'une part à connaître les groupes bactériens fonctionnels (acidification, aromatiques, aspect, texture, affinage) et ainsi à adopter la technologie appropriée nécessaire à l'obtention des fromages contrôlés et optimisés. Cela concorde avec l'étude de **Desmasures., (1995)**

2.1.3. Test de Lactofermentation

Le test de lactofermentation qui a permis d'apprécier la qualité microbiologique du lait, et de détecter la présence de germes indésirables sur le lait cru soit l'aspect digéré du lait après une incubation à 37°C pendant 24 heures prouve encore par ce test la présence des psychrotrophes induites par les conditions hygiéniques au stockage le long séjour en mode de conservation réfrigérée.

L'obtention des gels homogènes sur nos laits reconstitués et nos laits de mélange témoigne d'une fermentation lactique dominante et ainsi de laits de qualité apte à la transformation fromagère.

2.1.4. Préconisation pour nos essais selon nos résultats microbiologiques :

Nos résultats de contrôle microbiologique nous ont permis de classer, selon les normes de la fédération internationale des laits, dans la catégorie A (des laits ayant une charge totale < à 300000 germes /ml et d'adopter un traitement de pasteurisation basse LTLT (75°C/15 secondes), préconisé par **Luquet et Boudier (1991)** seuil de traitement thermique recherché pour le maintien de la flore naturelle de nos laits, pour une optimisation du diagramme de fabrication de ce type de fromage et l'obtention de la qualité escomptée sur nos 02 types de fromages à fabriquer en essai laboratoire.

Tenant compte du microbiote endogène (flore lactique) disponible sur nos laits ; nous avons apporté un microbiote sélectionné de par son activité enzymatique et son effet sur l'affinage ; un à caractère lactique proposé selon la technologie adoptée pour nos essais technologiques et complété par une flore d'affinage composée de *Micrococcus* s et de *Brevibacterium*s.

Les microbiotes lactiques obtenues du soucier de l'enseignant chercheur M DAHOU du laboratoire LSTPA ; un pour la technologie de la pâte molle stabilisée à base d'une flore lactique thermophile mixte (mélange de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus acidophilus*) revivifiée et contrôlée par l'étudiante en master académique Melle BOUBEKER Mariya .De même que le deuxième destiné à la technologie pâte molle traditionnelle composé d'une culture mixte mésophile (mélange de Lactocoques et de pédiocoques) revivifiée et contrôlée par l'étudiante en master académique Melle DELLA.

2.2. Analyses physico-chimiques des laits

La qualité physico-chimique des laits a été évaluée. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 06

2.2.1. Matière sèche

D'après les résultats, nous constatons que les teneurs en matière sèche du lait de vache avoisinent les normes de la FIL Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 soit en moyenne proche de 11 à 12 %

2.2.2. Teneur en matière minérale

D'après les résultats du tableau 06, les taux de calcium et phosphore sur nos laits sont au dessous de la norme tolérable par la FIL Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 soit autour de 95 mg/100 ml pour le calcium et 75 mg/100 ml pour le phosphore sur notre lait de vache. Le lait reconstitué contient 116 mg/100 ml de calcium et 84 mg/100 ml de phosphore. Le mélange de nos laits a donné un taux de calcium de 103 mg/100 ml et un taux de phosphore de l'ordre de 78 mg/100 ml et un rapport ca/p de 1,32 (normes entre 1,4 et 1,6).

La fraction minérale du lait joue un rôle important en technologie fromagère (coagulation-synérèse et texture du caillé fromager). En effet toute modification dans la répartition minérale se répercute sur les propriétés technologiques des laits et les propriétés rhéologiques du coagulum (Desmaures., 1995)

2.2.3. pH

À travers nos résultats les valeurs du pH de nos sont normalisés entre 6,6 et 6,7

Toute baisse du pH favorise la solubilisation des minéraux, la déstabilisation des micelles de caséines conduisant à des pertes excessives au niveau du lactosérum lors de la transformation à influence directe sur la qualité de nos fromages.

Le pH joue également un rôle très important dans la coagulation des laits ; lorsque le pH descend au-dessous du pH du lait ; le temps de prise est plus court , le taux de raffermissement augmente et le gel devient plus ferme entre un pH de 5,8 et 6,0 .Mais à des pH élevés soit supérieurs à 6,5 la présure est inactivée

2.2.4. Teneur en matière grasse

D'après les résultats de la matière grasse donnés sur le tableau 06, nous remarquons que la teneur en matière grasse de lait de vache est hautement supérieure (3,2%) non préconisée pour la fabrication fromagère à pâte molle type camembert celle du mélange est favorable à cette

technologie (2,61%) pour atteindre un G/S final conforme à la réglementation internationale FAO du codex alimentarius d'un camembert avec G/S entre 40 et 45%

La texture du fromage dépend de sa teneur en matière grasse. En effet, en plus de la teneur en eau et les proportions d'acides gras longs polysaturés qui se trouvent dans le lait déterminent la texture de la pâte : extra dure, demi-molle, molle, etc. Par exemple, avec plus de 60 % de matière grasse et moins de 51 % d'eau, on obtient une pâte extra dure.

Une trop forte teneur en matière grasse peut entraîner des problèmes d'égouttage et de coagulation.

2.2.5. Lactose

Le taux lactose dans nos laits est conforme aux normes .En tant que sucre disaccharide présent en solution dans le lait, généralement le principal élément solide du lait utilisé par les bactéries lactiques en fermentation lactique pour produire de l'acide lactique nécessaire à la coagulation lactique une étape majeure dans la fabrication d'un fromage à caillé mixte le camembert

2.2 .6. Teneur en matière protéique

Selon les résultats du tableau 06 nous observons que nos laits présentent des niveaux tolérables en matière protéique de l'ordre de 3,05 à 3,36% donnant un mélange lait transformable avec un taux protéique recommandé par la FIL Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018et pour la transformation fromagère atteignant l'ordre de 3,2%

Les caséines sont des protéines (80% des protéines du lait) constituent la majeure partie des composants azotés du lait. Ceux-ci étant en émulsion soit, un mélange aqueux de lactosérum, de globules gras et de micelles de caséines dispersées – il devrait y avoir décantation des éléments au cours du temps. La formation de micelles grâce à la caséine kappa, ou k-caséine, permet une homogénéité du lait et donc une stabilisation de son émulsion.

Les micelles de caséines doivent leur stabilité à deux facteurs :

- *La charge de surface* : les caséines ont un caractère acide très net. Au pH normal du lait (6,6 à 6,7 pour du lait de vache)⁵, elles ont un fort excès de charges négatives. Les micelles sont alors elles aussi chargées et de fortes répulsions électrostatiques empêchent leur rapprochement.

- *Le degré d'hydratation* : l'eau fixée par les micelles est importante (3,7g pour 1g de

protéines). Une partie de cette eau forme autour de chaque micelle une enveloppe d'hydratation protectrice.

C'est la caséine kappa qui porte les charges négatives et le caractère hydrophile de la caséine. Elle constitue ainsi la tête hydrophile. Les autres caséines ne constituent pas la tête des micelles, qui se repoussent les unes des autres, empêchant ainsi tout agrégat.

La coagulation du lait (ou caillage) est provoquée par la dénaturation de la caséine, protéine majoritaire du lait. La matière grasse et les séroprotéines ont un rôle passif.

2.2 .7. Contrôle de la coagulation de nos mélanges de lait et la formation du coagulum

Le principe de la coagulation est le changement d'état du lait de liquide à demi-solde qui est appelé gel ou coagulum. Le produit se sépare alors en deux phases : le lactosérum et le coagulum. Le lait possède des caséines responsables de la coagulation puisqu'elles sont responsables de la stabilité de la micelle.

La coagulation du lait se caractérise par trois paramètres essentiels

- Le temps de prise (temps de floculation) : phase primaire
- La fermeté du gel ou le temps de coagulation partielle : phase secondaire
- Le taux de raffermissement (ou vitesse de raffermissement) : phase tertiaire
- La coagulation totale : phase finale

* le temps de prise est inversement proportionnel à la concentration des enzymes utilisée et au pH du lait : dans notre cas le temps de prise est de 12 minutes pour notre mélange de lait

*Par contre le taux de raffermissement et de fermeté du gel augmente avec l'ajout de la présure au lait

Notre temps de coagulation partielle est 3 fois le temps de prise, le temps de raffermissement est 5 fois le temps de prise et la coagulation totale est déterminée selon le doigté du fromager par l'obtention d'une coupe franche non friable 05 minutes après l'écoulement du temps de raffermissement. Nos résultats concordent avec les normes FIL destinées à la transformation fromagère

*La température influe aussi sur la coagulation totale

- Au dessous de 10°C ; la gélification ne se produit pas (phase secondaire) mais l'enzyme agit (phase primaire)
- Entre 10 et 20°C ; la coagulation est lente
- Entre 30 et 42°C ; elle est progressive et meilleure
- Au dessus de 42°C, elle diminue et pour disparaître à 55°C

Nous avons préconisé dans nos essais une température de 37°C nécessaire à l'obtention d'un caillé ferme avec une coagulation progressive évolutive avec la multiplication de nos cultures lactiques mixtes utilisées (mésophiles et thermophiles)

* Le pH joue également un rôle très important : lorsque le pH descend au dessous du pH du lait ; le temps de prise est plus court , le taux de raffermissement augmente et le gel devient plus ferme entre un pH de 5,8 et 6,0 .Mais à des pH élevés soit supérieurs à 6,5 la présure est inactivée .

*La composition du lait va également affecter la coagulation suivant le taux protéique et la quantité du calcium ajouté au lait. Le taux de raffermissement et de fermeté du gel augmentent jusqu'à des concentrations de CaCl_2 d'environ 0,01 M (molarité de CaCl_2). mais à des concentrations supérieures, le phénomène est inverse.

Le déficit minéral a été complété par l'adjonction de 0,25 g/L de chlorure de calcium (CaCl_2) pour réajuster l'équilibre minéral

2.2 .8. Détermination du rendement fromager

Le rendement est généralement exprimé en kg de fromage obtenu à partir de 100 litres de lait ou en g pour 100 ml de lait (voir la formule ci-contre et la fiche « Mesurez votre rendement fromager »).

$$\text{Rendement (kg/100L)} = \frac{\text{Poids de fromage obtenu}}{\text{Nombre de litres de lait mis en œuvre}} \times 100$$

Toute augmentation du taux protéique (TP) est favorable au rendement. Plus précisément, c'est la teneur en caséines (protéines coagulables) qui favorise le rendement.

Au niveau de la fromagerie, améliorer son rendement fromager commence donc tout simplement par une surveillance et une amélioration du TP.

Dans nos essais, toute notre démarche a été établie pour améliorer la qualité physico-chimique de notre lait de mélange en assurant l'équilibre minéral, un apport protéique, en standardisant la matière grasse et à la maîtrise du pH et l'obtention de rendements conformes de 12,25% en rendement fromager et de 40,75% en MS au démoulage des fromages fabriqués.

Tout cela concorde avec les normes FAO du codex alimentarius et les normes FIL Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018

2.2.9. Préconisation pour nos essais selon nos résultats physico-chimiques

Toute notre démarche expérimentale a été établie dans le but de respecter les critères réglementaires de fabrication des fromages à pâte molle et l'atteinte de nos objectifs en qualité fonctionnelle de nos laits, assurer une bonne coagulation mixte, un bon rendement fromager et optimiser l'affinage de nos fromages suivant la technologie adoptée

Ces critères réglementaires sont des critères d'aptitude fromagère :

- comportement à la coagulation
- temps de raffermissement et fermeté du caillé
- influence sur la texture du fromage.

Ces critères sont influencés par :

- Le taux butyreux pour un produit final à 40-45% de MG : il en faut un minimum pour le goût, la flaveur (odeur + texture). L'affinage fait surtout travailler ces molécules.
- Le taux de caséines dans le TP : quand la concentration en caséines du lait augmente, le rendement fromager augmente. Cette augmentation de rendement s'explique par un caillage plus rapide et la formation d'un gel plus ferme qui retient ainsi plus de particules (matière grasse et sels minéraux). En général, le taux de caséines est proportionnel au TP.

Ce taux de caséines est très influencé par le taux cellulaire : une réaction mammaire à une infection entraîne une protéolyse (destruction des chaînes de caséines) qui fait chuter très fortement l'aptitude du lait à coaguler.

· Type de caséines : il y en a 3 :

1. AlphaS1-caséine : non favorable à la fermeté du gel mais ramollit la pâte lors de l'affinage.
2. Beta-caséine : favorable à la fermeté du gel
3. Kappa-caséine : favorable à la coagulation et au gel.

Notre démarche concorde avec les études déjà établies par **Desmasures N. 1995 ; Eck et Gillis, 2006 Laithier, 2011**

2.3. Utilisation d'une flore contrôlée d'affinage composée d'une culture mixte de *Brevibacterium* et de *Micrococcus*

L'étude a pour objet la composition d'une culture bactérienne chargée de l'optimisation de la durée d'affinage d'un fromage à pâte molle type camembert comprenant une combinaison de microorganismes, la dite combinaison comprenant un agent « une culture bactérienne » de type lytique et un agent d'affinage ; une culture bactérienne de maturation.

L'on entend par microorganisme de type lytique, toute bactérie d'acidification ou d'affinage présentant des propriétés enzymatiques élevées.

Les microorganismes de type lytique sont par exemple les bactéries lactiques lytiques d'acidification, par exemple du genre *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc*.

Les agents d'affinage sont par exemple des bactéries et notamment les bactéries du genre *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*. En effet, l'utilisation de microorganismes de type lytique en combinaison avec au moins un agent d'affinage en présence de la flore fongique « levures et moisissures : *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* ou *Penicillium* » pour l'affinage des fromages permet d'une part d'optimiser et de potentialiser la durée de maturation et d'augmenter voire de renforcer, le développement de la saveur par rapport à une utilisation de microorganismes de flore d'affinage classique. Typiquement, le rapport en nombre de

microorganismes de type lytique sur de type d'affinage pourra être compris entre 80/20 et 90/10, préférentiellement le rapport pourra être compris entre 90/10 et 95/5.

Ces critères ont été énoncés par l'**Association de Défense et de Gestion de l'AOC* Camembert de Normandie France créé le 27 juillet 2007** et les recommandations techniques définies sur la fiche produit « culture BM » proposé par l'enseignant chercheur M DAHOU du laboratoire LSTPA

Cette synergie se manifeste non seulement par l'obtention d'une quantité significativement plus élevée de composés d'aromatisation classiques dans le fromage tels que ceux du type diacétyl, 2-butanone, acétoïne, DMDS (disulfure de diméthyl), 1-octén-3-ol, DMTS (trisulfure de diméthyl) et acide butyrique.

La culture BM proposée au salon national des produits de la recherche par l'enseignant chercheur M DAHOU .A du laboratoire LSTPA peut être utilisée dans la fabrication de tous types de fromages à croûtes lavées (morguées) ou mixtes. Elle contribue à assouplir la pâte et à réduire le temps d'affinage. (Voir en annexe F fiche du produit)

2 .4. Evolution microbiologique de nos essais de fromage au cours de l'affinage

Les tableaux N°11,12,13,14,15 montrent que les deux témoins soit les fromages issus des deux technologies, une de type stabilisé faite à 100% avec une flore lactique thermophile et l'autre de type traditionnel faite à 100% avec une flore mésophile indiquent que la flore acidifiante, représentée par les Lactobacilles et les Streptocoques chez les thermophiles et par Lactococcus et Pédicoccus chez les mésophiles ; majoritaires au début d'affinage, régressent en fin d'affinage

Avec 1750000 UFC /g pour la flore thermophile au démoulage (au début d'affinage) contre 12500 UFC /ml en fin d'affinage au jour J+10

Et avec 1280000 UFC /g pour la flore mésophile au démoulage (au début d'affinage) contre 13500 UFC /ml en fin d'affinage au jour J+10

La croissance des flores lactiques acidifiantes s'est traduit par une évolution exponentielle en croissance des cultures mixtes lactiques durant la maturation du lait, la coagulation du caillé, l'égouttage du caillé jusqu'au démoulage du fromage par l'assimilation active du substrat présent dans le milieu liquide le lait et le milieu solide le caillé fromager sans oublier

l'adaptation des conditions de culture (aération, température et pH). Le passage d'une phase exponentielle à une phase stationnaire durant les premiers jours d'affinage se terminant par un déclin de croissance est dû essentiellement d'une part à l'épuisement des substrats indispensables et d'autre part aux importantes modifications des conditions du milieu (le pH, la température et le taux de sel) et la mort de certaines bactéries lactiques par rapport à d'autres empoisonnées par leurs catabolites toxiques (figure 10-11-12)

Tandis que l'ajout de la flore d'affinage mixte composée de *Brevibacteriums* et de *Micrococcus* s a donné une autre évolution bactérienne avec la même tendance déclin des flores lactiques d'acidification en fin d'affinage contre une croissance exponentielle de la culture BM qui passe de 950 et 1500 UFC /g en début d'affinage contre 98000 et 175000 UFC /g en fin d'affinage à J+10 (figure 13)

D'une population réduite au début d'affinage, les *brevibacteriums* et les *Micrococcus* se développent sensiblement en milieu halophile après le salage, ce sont des agents protéolytiques actifs en affinage.

La flore halotolérante représentée par les *Micrococcus* s et les *Brevibacteriums* évolue après le salage pour devenir deux microflore cultivables majoritaires en fin d'affinage.

Ces résultats concordent avec ceux de **Callon et al. 2004 ; Laithier, 2011 et Montel et al. 2014.**

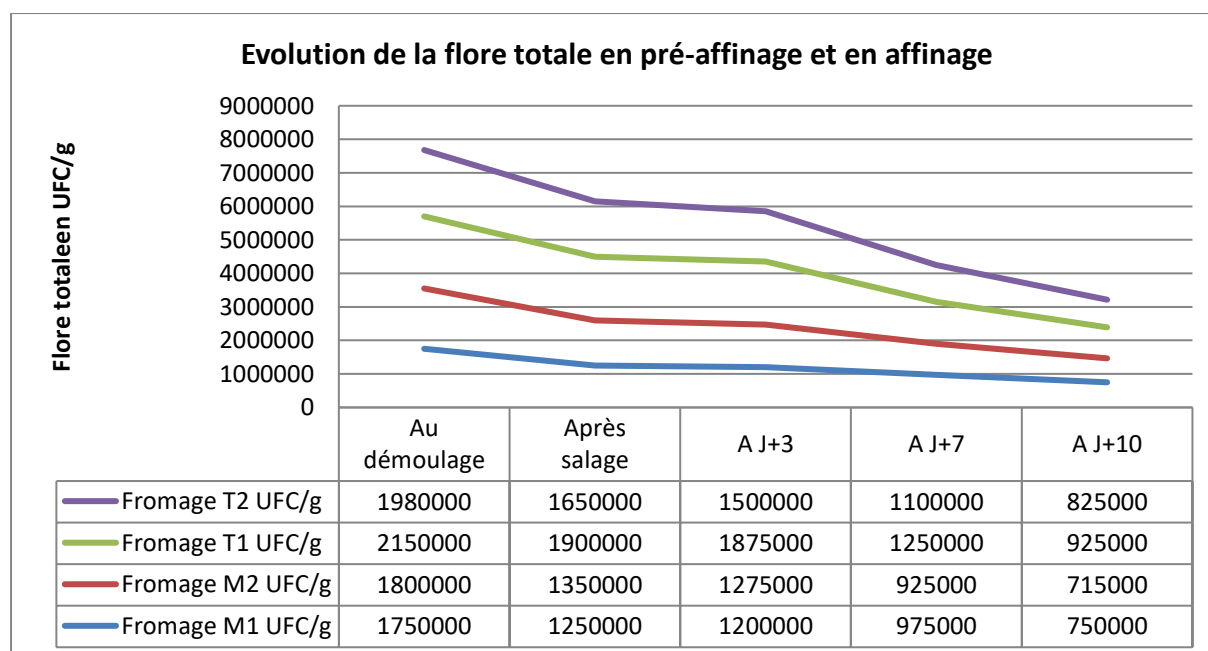


Figure N°10 : Evolution de la flore totale en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage

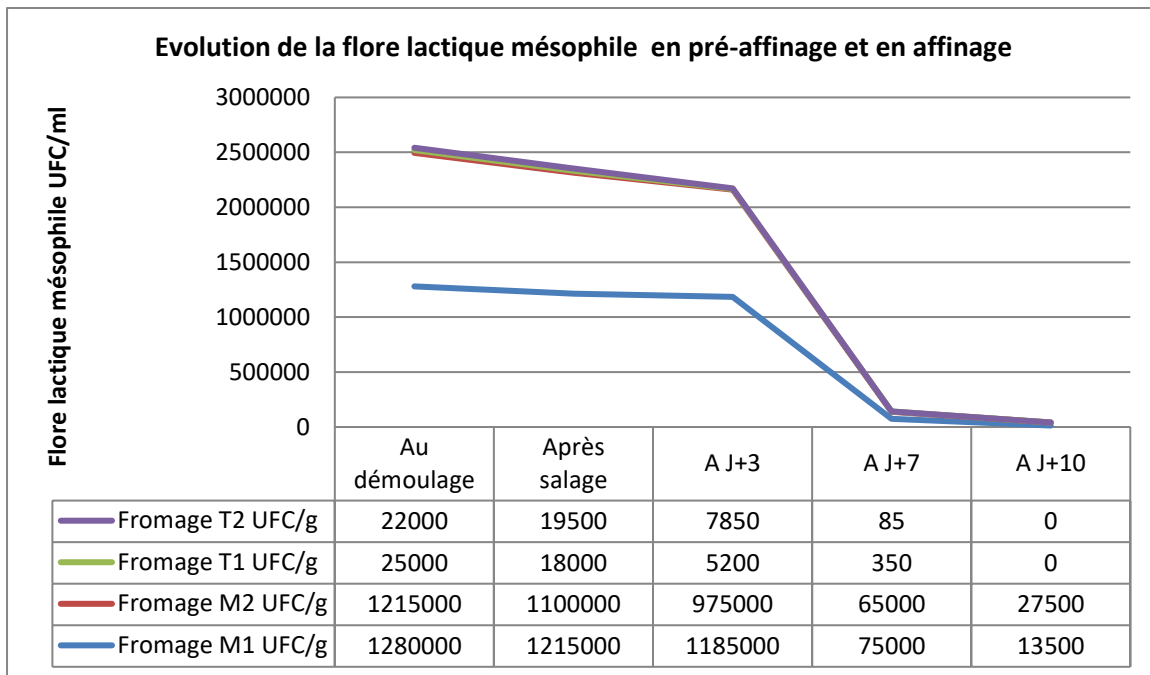


Figure N°11 : Evolution de la flore lactique mésophile en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage

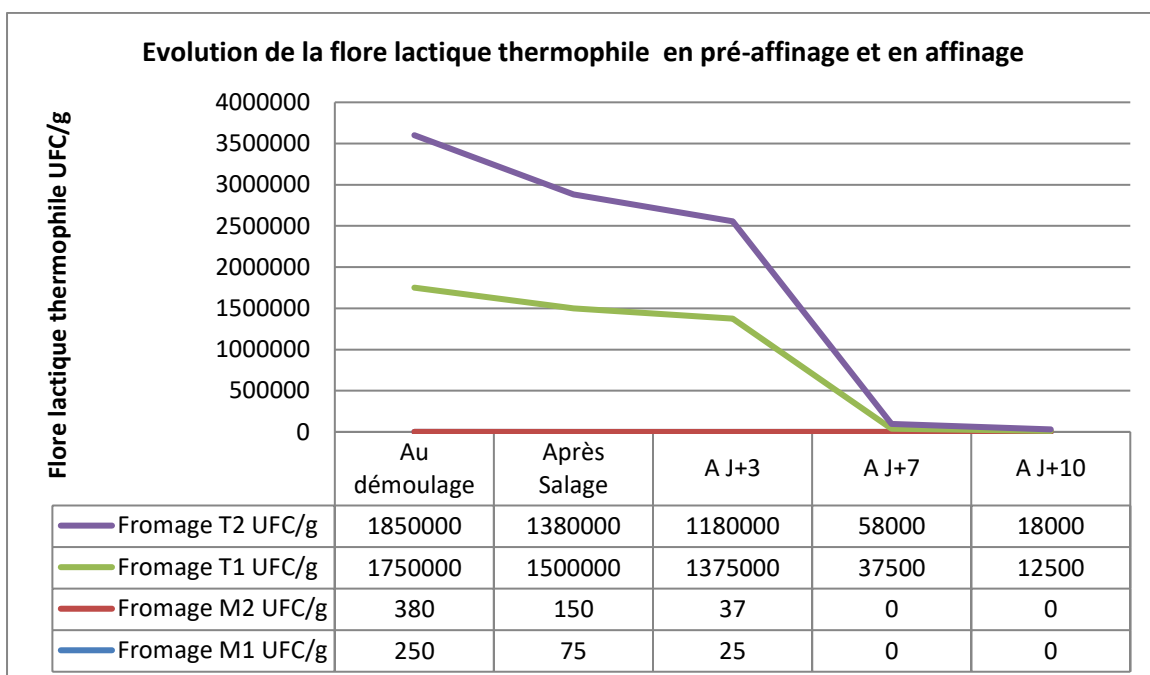


Figure N°12 : Evolution de la flore lactique thermophile en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage

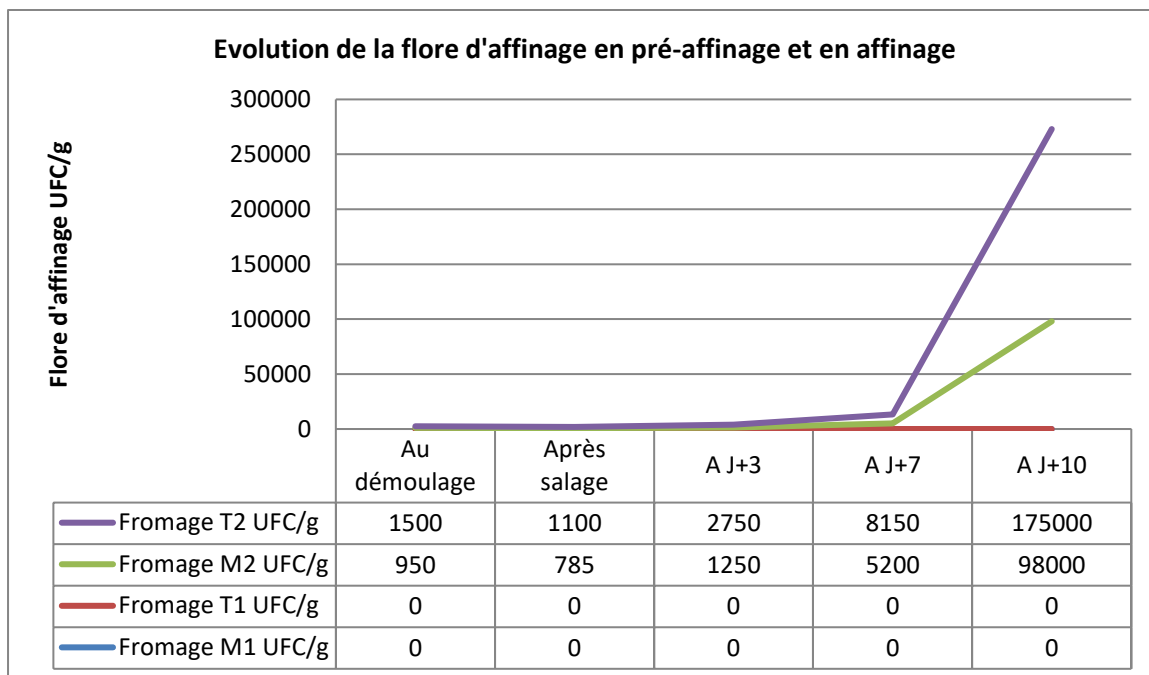


Figure N°13 : Evolution de la flore d'affinage en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage

2.4. Evolution physico-chimique de nos essais de fromage au cours de l'affinage

2.4.1. Evolution des pH

D'après les résultats obtenus, le pH de nos fromages avec une flore lactique mésophile évolue d'une valeur de 4,8 au démoulage à 5,3 pour le témoin sans flore d'affinage et à 5,6 pour ceux avec la flore d'affinage. Ces fromages avec leur optimum d'affinage ont respectivement atteints 6,08 à 16 jours d'affinage pour le témoin mésophile M1 et 6,07 à 13 jours d'affinage pour le fromage M2 avec la culture BM

D'un autre côté, les fromages préparés avec la culture mixte thermophile ont débuté avec un pH au démoulage de 5,2 contre 6,12 à 11 jours d'affinage pour le fromage T1 sans la culture BM et 6,1 après seulement 9 jours d'affinage pour le fromage T2 préparé avec la culture d'affinage BM (Voir tableau N°22 : Analyses sensorielles des fromages affinés et figure N°14)

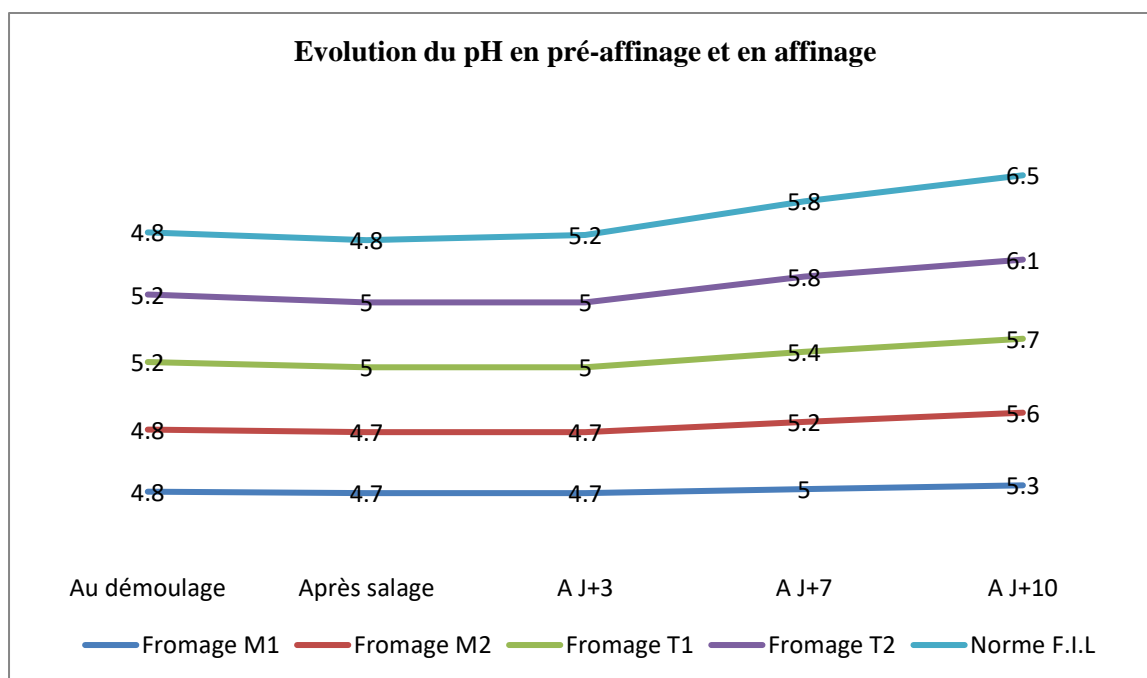


Figure N°14 : Evolution du pH en pré-affinage et en affinage pour nos 04 essais de fromage

2.4.2. Extrait sec total (EST)

La teneur des fromages en extrait sec total a été entre 38 et 41 g/100g de fromage contre des valeurs comprises entre 38 et 40 g/100 g en fin d'affinage soit des valeurs proches de celles rapportées par la FAO le codex alimentarius et la F.I.L Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 valables aux fromages à pâte molle type camembert

2.4.3. Teneur en matière grasse (MG)

D'après les résultats obtenus, la teneur en MG représente 16g à 17 g/100g de camembert en début d'affinage contre 15 à 16 g/100g de fromage en fin d'affinage. Les résultats sont conformes aux normes réglementaires définies par la FIL ; Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018

Il faut souligner que le mode de fabrication, dont l'égouttage et le passage de la matière grasse vers le lactosérum peut engendrer la diminution de la quantité de la MG dans le fromage. Lors de la formation du caillé, la MG reste emprisonnée dans le réseau protéique, les pertes de matière grasse peuvent atteindre de 4 à 20 % de la teneur en MG initiale. L'importance des pertes dépend de la taille des globules gras, à faible poids moléculaires, ces derniers sont moins susceptibles d'être retenus dans le gel mais seront éliminés dans le lactosérum, c'est pour cela le lait utilisé pour la production doit présenter un rapport caséines/MG précis afin de

limiter les pertes (**Vignola, 2002**).

2.4.4. Rapport de matière grasse sur matière sèche (G/S)

Les résultats obtenus montrent que les valeurs du rapport G/S% des fromages M2, M1, T2 et T1 ont été de 37,31 g/100g et 38,31 g/100g de 40,13 g/100g et de 42,19 g/100g respectivement. La valeur de G/S% des fromages T1 et T2 est plus élevée que celle des deux autres fromages. Cela est dû à la technologie de fabrication différente entre stabilisée et traditionnelle entraînant une composition différente en matière grasse aux fromages, qui leur donne un aspect plus tendre, contrairement aux fromages M1 et M2 qui est plus ou moins moelleux.

Le taux de la matière grasse contribue directement aux propriétés organoleptiques notamment l'onctuosité qui se caractérise par le toucher gras d'un produit. La bonne standardisation des laits en matière grasse et le respect de la technique de fabrication permettent l'obtention de produits dans une large gamme de textures : de moelleuse à tendre (**Eck et Gillis, 2006**).

2.4.5. Humidité (H%)

Les valeurs obtenues pour l'humidité des quatre essais de fromages ont été respectivement de 54 % à 58% en début d'affinage contre 51 à 55% en fin d'affinage. La valeur de l'humidité est un paramètre physico-chimique qui renseigne sur la consistance du fromage. Il est inversement proportionnel à la dureté du fromage. De ce fait, les résultats obtenus montrent que nos fromages sont conformes aux normes recommandées qui sont de l'ordre d'un maximum de 52 à 56 % en fin d'affinage. (**Eck et Gillis, 2006**).

2.4.6. Teneur en azote total et en protéines

Les taux de protéines dans les quatre fromages fabriqués ont été de 23,5 % au démoulage des valeurs conformes de ceux rapportées par le codex alimentarius pour le camembert (23 à 25 %). Nos fromages ont atteint en fin d'affinage des taux de protéines de 20,5 à 21,8%. Ces taux de protéines signifient qu'il n'a pas eu de pertes de caséines dans le lactosérum, ce qui témoigne de l'agrégation complète des micelles de caséines déstabilisées.

Selon **Ramet (1985)**, un égouttage commence prématurément sur un gel insuffisamment structuré, se traduit par une perte importante de la matière sèche sous forme de petites particules du gel.

Les pertes globales en protéines concernent surtout les protéines sériques solubles dans l'eau, 80 à 90 % de ces protéines sont éliminées dans le lactosérum lors de l'égouttage, cependant

ces protéines ne représentent que 1/5 des protéines dans le fromage contrairement aux caséines qui sont récupérées à plus de 92 % dans le fromage (**Vignola, 2002**)

2.4.7. Teneur en sel

Les valeurs obtenues pour la teneur en sel sur nos quatre essais de fromages ont été respectivement de 1,78 à 1,85% après salage soit en début d'affinage contre 1,71 à 1,82% en fin d'affinage. Il reste que le rôle du sel en fromagerie est complexe et multiple. Il se rattache à l'aspect réglementaire (précision d'une valeur pour le taux de sel pour certains fromages aux normes fixes) ; aux propriétés organoleptiques (le sel renforce l'arôme des fromages mais participe aussi à l'équilibre de leur écosystème microbien, essentiel à la typicité et à l'identité de chacun, car il aboutit aux composés de goût de l'arôme, aux caractéristiques de la croûte...); à la qualité microbiologique (la diminution du taux de sel entraîne une augmentation de l'activité de l'eau qui affecte l'équilibre microbiologique des fromages, d'où la possibilité d'une multiplication et d'une activité accrue des microorganismes pathogènes et d'altération, réduisant leur qualité sanitaire et leur durée de vie) ; à la technologie fromagère (le sel assure par exemple un complément d'égouttage, contribue à la formation de la croûte...) (**Eck et Gillis, 2006**).

De ce fait, nos résultats obtenus montrent que nos fromages sont plus ou moins conformes aux normes recommandées qui sont de l'ordre d'un maximum taux de sel de 1,5 à 1,85 % en fin d'affinage.

Pendant l'affinage, les constituants du fromage sont dégradés en composants plus simples à poids moléculaire réduit ; cette évolution est caractérisée par une très grande complexité biochimique

La transformation du lactose en acide lactique précédemment développée pendant la coagulation et l'égouttage se poursuit pendant l'affinage. Le lactose disparaît en général dans les premières jours de la maturation à la suite de fermentations variées, dues en particulier aux bactéries lactiques et aux levures et moisissures ; elles conduisent à une multitude de produits primaires, mais dont l'acide lactique est de loin le plus important. Dans une seconde étape, l'acide lactique peut subir d'autres fermentations par le biais des bactéries d'affinage en acides organiques plus simples (Ac. propionique, Ac. acétique, Ac. butyrique) qui peuvent eux-mêmes être transformés en composants de la flaveur des fromages comme les aldéhydes et les cétones, La lipolyse se traduit par la libération des acides gras constituant les triglycérides.

La protéolyse est le phénomène dominant de l'affinage : il se traduit par la libération successive de peptides, puis d'acides aminés; ces derniers peuvent dans certains cas être eux-mêmes dégradés en composants très variés contribuant à la saveur marquée de certains fromages très affinés.

L'importance de la protéolyse et la nature des produits formés n'est pas la même pour tous les types de fromages ; cet état se traduit par un profil de composition particulier en fractions azotées et par un indice de maturation caractéristique, exprimé par le rapport azote soluble à l'azote total

Maîtrise du pH : Son rôle est essentiel. Il règle à la fois :

- le développement des micro-organismes constituant les flores internes et superficielles,
- la production d'enzymes par ces micro-organismes.
- l'activité des diverses enzymes contenues dans le substrat, qu'elles soient d'origine microbienne ou apportées par voie exogène.

Maîtrise de la température : En technologie fromagère, la température des locaux d'affinage est toujours réglée à une valeur très inférieure à celle des températures optimales de croissance des microorganismes et d'activité des enzymes. Cette pratique permet de ralentir l'évolution du substrat et ainsi de la mieux maîtriser notamment en fonction des exigences imposées par la commercialisation. Dans notre type de fromage, la température préconisée est entre 12 et 15°C

2.5. Analyse sensorielle de nos essais de fromage

La qualité des fromages est largement déterminée par la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (**Edima, 2007**).

Nos fromages fabriqués au niveau du laboratoire LSTPA affilié à l'université de Mostaganem ont donné :

Les résultats des tests de dégustation des fromages avec la flore d'affinage « BM » par rapport aux témoins sont résumés dans le tableau N°22. Les photos de la figure N°15 montrent l'aspect visuel des fromages M1, M2, T1 et T2.

La qualité organoleptique de nos essais de fromages testés par le jury de dégustation sur un ensemble de caractères, est cotée bonne à assez bonne. Les résultats indiquent une différence significative par rapport aux témoins. Une note de 8.17/10 a été donnée pour le fromage M2 à base d'une flore lactique mésophile additionnée de la culture d'affinage BM contre une note de 7,58/10 pour le fromage T2 fabriqué à base d'une flore lactique thermophile additionnée de la culture d'affinage BM.

Les fromages témoins à base des flores lactiques ont obtenu des notes d'appréciation de 7,80/10 pour le témoin mésophile M1 contre 7,03/10 pour le témoin thermophile T1



Figure 15 : Aspect visuel de nos essais de fromage à pâte molle de type camembert par rapport aux témoins (T₁ et M₁ témoins thermophiles et mésophiles)

2.5.1. L'examen visuel

Pour le fromage à pâte molle stabilisée ; une note de 7/10 pour l'état de la surface du camembert avec la culture BM par rapport au témoin soit une note de 7 /10 aussi

Pour le fromage à pâte molle traditionnelle ; une note de 8,5/10 pour l'état de la surface du camembert avec la culture BM par rapport au témoin soit une note de 7,5 /10 aussi

Une note de 7,1 /10 pour l'aspect de la pâte du camembert stabilisé T2 fabriqué avec la culture BM (couleur-élasticité et homogénéité) par rapport à une note de 8/10 attribuée au camembert M2 fabriqué avec la culture BM.

2.5.2. L'examen olfactif

Une note de 7,5/10 pour les arômes du camembert T2 par rapport à une note de 8/10 attribuée au fromage M2

Une note de 8/10 pour l'intensité aromatique du camembert T2 par rapport au M2 : 8,5/10

2.5.3. L'examen gustatif

Une note de 8,1/10 pour la saveur apportée par le camembert T2 par rapport au M2 : 8/10

N.B : Voir fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages en annexes E.

D'après ces contrôles (microbiologique, physicochimique et organoleptique), il apparaît que les fromages fabriqués à partir du microbiote d'affinage « BM » présente des qualités supérieures au fromage fait à base du microbiote seulement lactique.

Selon les critères définis au camembert de Normandie nos essais de camemberts fabriqués répondent aux caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de ce fromage.

Néanmoins de point de vue optimisation du temps d'affinage l'essai de camembert T2 répond pleinement à ces critères donnant une approche scientifique qui pourra être facilement développé industriellement avec un temps d'affinage ne dépassant pas 09 jours et avec une qualité microbiologique-physico-chimique et sensorielle très appréciable.

CONCLUSION

Conclusion et Perspectives

L'objectif de ce travail consistait à optimiser les paramètres de production d'un fromage à pâte molle type camembert par des essais de fabrication au Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales dans le but d'améliorer les qualités microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles en minimisant les temps technologiques de fabrication préoccupation actuelle des fromagers à la rentabilité de leurs production.

La maîtrise de l'affinage d'un camembert en optimisant le temps d'affinage par l'utilisation d'une flore de maturation, constituée d'une culture mixte de bactéries d'affinage « *Brevibacterium-Micrococcus* B.M » ; développée par l'équipe de recherche du laboratoire LSTPA encadrée par l'enseignant chercheur M DAHOU.A

Optimiser l'affinage : cela signifie assurer des fabrications aussi régulières que possible , essayer de modifier en connaissance de cause certains paramètres technologiques ou microbiologiques de façon à obtenir un fromage de flaveur apprécié et de texture conforme à un fromage pâte molle

Les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques de la matière première servant à la production du fromage à pâte molle révèlent que celle-ci est de bonne qualité microbiologique néanmoins nécessitant un amendement protéique et minéral et une standardisation en matière grasse ce qui a conduit à un amendement avec du lait reconstitué à base de poudre de lait fromagère low-heat.

La standardisation biologique nous a conduit à utiliser deux technologies avec l'apport de deux types de culture mixte de bactéries lactiques ; une première thermophile pour la technologie de type stabilisée et une deuxième mésophile pour la technologie de type traditionnelle. Les cultures lactiques d'acidification ont été complétées par notre microbiote contrôlé de culture BM servant à l'optimisation du temps d'affinage

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent que la connaissance préalable de la matière première est indispensable à La bonne fromageabilité est l'aptitude des laits à se transformer en fromages sous l'action d'un agent coagulant et des levains lactiques en minimisant les pertes lors de l'égouttage et en maximisant la rétention dans le caillé des éléments du lait cru contribuant à l'élaboration de la qualité sensorielle escomptée. La fromageabilité s'apprécie à partir d'une qualité du lait pour une affectation technologique appropriée.

D'après nos contrôles et suivis (microbiologique, physicochimique et organoleptique), il apparaît que les fromages fabriqués à partir du microbiote d'affinage « BM » présentent des qualités supérieures au fromage fait à base du microbiote seulement lactique.

Selon les critères définis au camembert de Normandie nos essais de camemberts fabriqués répondent aux caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de ce fromage.

Néanmoins de point de vue optimisation du temps d'affinage l'essai de camembert T2 répond pleinement à ces critères donnant une approche scientifique qui pourra être facilement développé industriellement avec un temps d'affinage ne dépassant pas 09 jours et avec une qualité microbiologique-physico-chimique et sensorielle très appréciable

Perspectives

Dans cette perspective et dans le but de compléter ce travail, il est souhaitable de réaliser la même étude à l'échelle pilote afin de pouvoir effectuer plusieurs variables au lieu des deux effectués à échelle laboratoire.

Aussi, il serait intéressant de procéder à une caractérisation qualitative plus poussée en étudiant les propriétés texturales ainsi qu'une analyse sensorielle du produit fini par la caractérisation de l'activité caséinolytique et le fractionnement électrophorétique des peptidases et des aminopeptidases par les enzymes intracellulaires microbiennes d'intérêt technologique.

ANNEXES

Annexes A : Milieux de culture

La composition des milieux de culture (g/l) :

➤ Géllose de CHAPMAN

-Composition :

- Tryptone.....5,0 g
 - Peptone pepsique de viande5,0 g
 - Extrait de viande1,0 g
 - Mannitol10,0 g
 - Chlorure de sodium75,0 g
 - Rouge de phénol25,0 mg
 - Agar agar bactériologique.....15,0 g
- PH du milieu prêt à 25°C : 7,4 ± 0,2.

➤ Géllose lactosée biliée cristal violet et au rouge neutre (VRBL)

- Peptone.....7g
 - Extrait de levure3g
 - Glucose.....10g
 - NaCl5g
 - Sels biliaires1,5g
 - Rouge neutre0,03g
 - Cristal violet.....0,002g
 - Agar12 à 18g
- pH 7,4.

Stériliser par 15 min d'ébullition (ne pas autoclaver).

➤ Plat count agar (PCA)

- Peptone5g
 - Extrait de levure2,5g
 - Glucose..... 1g
 - Gélose.....15g
- pH=7,2.

Autoclaver 20 min à 120°C.

➤ **Baird-Parker**

| | |
|--------------------------------|-----|
| Tryptone..... | 10g |
| Extrait de viande de bœuf..... | 5g |
| Extrait de levure..... | 1g |
| Chlorure de lithium..... | 5g |
| Pyruvate de sodium..... | 10g |
| Glycocolle..... | 12g |
| Agar..... | 20g |

pH = 7,2.

Autoclaver 20 min à 120°C.

Ajouter au moment de l'emploi à 100 ml de milieu

En surfusion:

Tellurite de potassium à 1%..... 1ml

Emulsion stérile de jaune d'œuf..... 5ml

➤ **Bouillon nutritif**

| | |
|--------------------------------------|-----|
| Peptone..... | 10g |
| Extrait de viande..... | 5g |
| Chlorure de sodium (facultatif)..... | 5g |

pH = 7,2.

Répartir en tube à essais (7 à 10 mL).

Autoclaver 20 min à 120°C.

➤ **Milieu MRS**

| | |
|------------------------------------|-----|
| Peptone..... | 10g |
| Extrait de viande..... | 08g |
| Extrait de levure déshydratée..... | 04g |
| Acétate de sodium..... | 05g |
| Phosphate di potassique..... | 02g |
| Citrate d'ammonium..... | 02g |

Sulfate de magnésium, 7H₂O.....0.2g
 Sulfate de manganèse, 4H₂O.....0.05g
 Glucose.....20g
 Tween 80.....1ml
 Agar.....20g
 Eau distillée.....1000ml
 pH=6.5
 Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

➤ **Milieu M17**

Peptone de farine de soja.....0.05g
 Peptone de viande.....2.5g
 Peptone de caséine tryptique.....2.5g
 Extrait de levure.....0.05g
 Extrait de viande.....0.05g
 Acide ascorbique.....0.5g
 Glycérophosphate de sodium.....0.01g
 Sulfate de magnésium.....0.25g
 Agar.....20g
 Eau distillée.....1000ml
 pH=7.2
 Stérilisation à 120°C pendant 20 mn.

➤ **Eau Physiologique :**

Utilise pour la réalisation des dilutions.

Peptone.....1g
 Chlorure de sodium8.7g
 Eau distillée.....1000 ml

Annexes B : Les étapes de fabrication du fromage de type camembert mésophile et thermophile au laboratoire LSTPA (Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales)



Traitement thermique (Pasteurisation 75°C pendant 15 s)



Maturation 37°C pendant 1h30 : Ensemencement du lait avec un microbiote exogène lactique mésophile et thermophile



Coagulation - Emprésurage avec 2,5 ml d'extrait de présure (camembert mésophile) Coagulation totale : 48 minutes



Tranchage – synérèse du caillé



Exsudation du lactosérum



Soutirage du lactosérum



Moulage et égouttage en moules : avec 2 à 2,1 litres de lait par moule de 250 gr après avoir soutiré 25 à 30% du lactosérum puis retournement chaque 30 mn



Démoulage et Salage : en saumure pour avoir 1,7 à 1,8% de NaCl puis ressuyage



Affinage : 9 à 15 jours à 12-13°C et 90-95% d'HR, retournements à J+3 à J+5 et à J+7



Fin d'affinage : camembert prêt à consommer

Annexes C : coloration de Gram

➤ Coloration de Gram :

1. Matériels :

Des lames

Les colorants (Cristal violet, Lugol, l'alcool, Fushine)

2. Mode opératoire :

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé
- laisser agir 1 minute
- Rincer très brièvement la lame avec l'eau distillée
- Immerger la lame dans Lugol 30 seconde.
- Décolorer avec l'alcool jusqu'à disparition de la couleur violette (10 a 15 sec)
- Rincer à l'eau.
- Colorer avec la solution de Fuchine pendant 1mn.
- Laver à l'eau.
- Observer à l'objectif X 100, en immersion avec l'huile.

5. Résultat :

Les bactéries Gram+ sont colorées en violet, les bactéries Gram- sont colorées en rose

Annexes D : Revivification des bactéries d'affinage et Résultats d'analyse microbiologique

- Revivification des bactéries d'affinage : microcoque et brevibacterium :

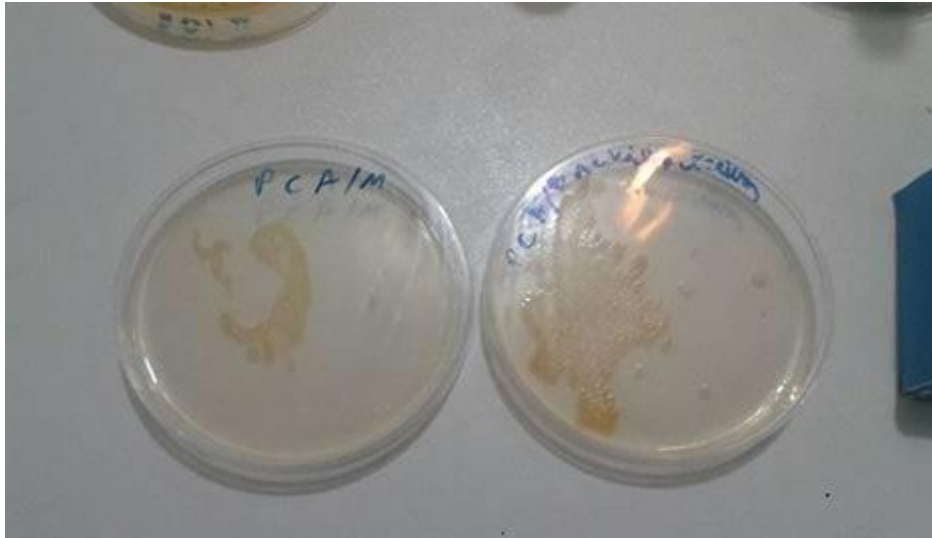


Figure 16 : Cultures revivifiées des bactéries microcoques et brevibacteriums

- Résultats d'analyse microbiologique :

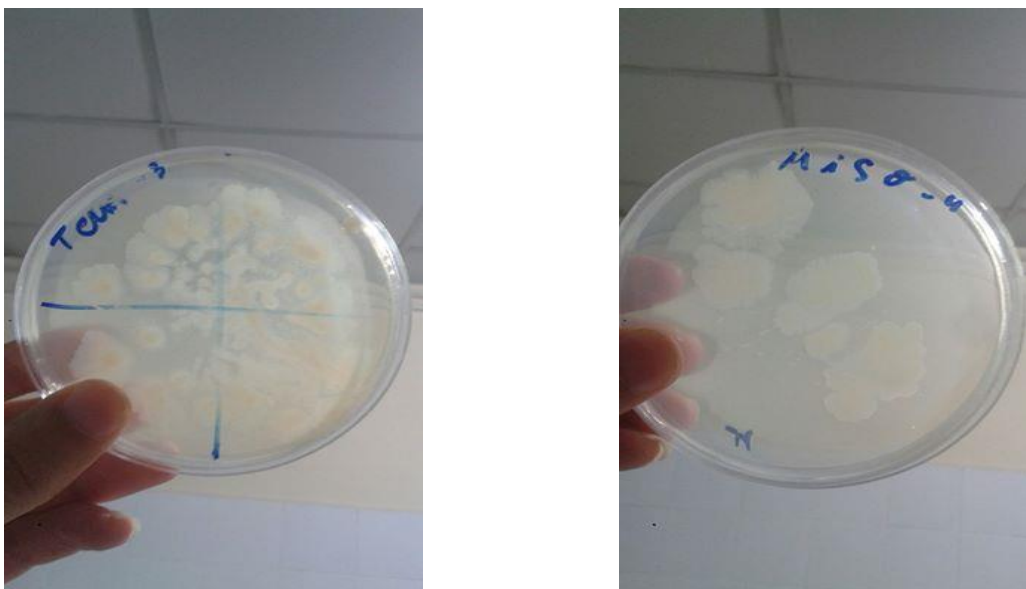


Figure 17 : Dénombrement des différentes flores en affinage

Annexes E : Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)

Date :

Nom du dégustateur : Fonction : Lieu :
 type du fromage :

| Examen | Nom du produit | Points à examiner | Vocabulaire |
|-------------|----------------|--------------------|---|
| 1/ Visuel | | Etat de la surface | Surface : lisse, sèche, humide Couleur : blanche, crème, jaune |
| | | Pâte | Elasticité : Souple, ferme, cassante Homogénéité : homogène, crevasse |
| 2/ Olfactif | | Arômes | Lactique : lait frais, naturel, Autres : diacétyl, fermenté, synthétique |
| | | Intensité | Forte, fade, typée, piquante |
| 3/ Gustatif | | Saveurs | Description de la saveur : Sucrée, acide, salée, amer Description des sensations : Douceur, piquant, crémeux, fondant, onctueux Description de la finale bouche : Agréable, très typique, riche en arôme, intense et persistante, plutôt courte |

Observation aux dégustateurs : Mettre une croix sur l'appréciation (vocabulaire) accordée au produit dégusté

Note d'appréciation sur 10 points : à noter sur la base des résultats formulés par les dégustateurs

A/ Etat de la Surface :

Surface / lisse : 1,5 , sèche : 0 , humide : 0,25

Couleur / blanche : 1 , crème : 0,5 , jaune : 0

B/ Pâte :

Elasticité/ Souple : 1 , ferme : 0,25 , cassante : 0

Homogénéité/ homogène : 1, crevasse : 0

C/ Arômes :

Lactique / lait frais : 1 , naturel : 0,5

Autres/ diacétyl : 1 , fermenté : 0,5 , synthétique : 0

Intensité/ forte : 0,25 , fade : 0 , typée : 1 , piquante : 0

D/ Saveurs :

Description de la Saveur / Sucrée : 0 , acide : 0,5 , salée : 0 , amer : 0

Description des sensations / Douceur : 1 , crémeux : 0,5 , piquant : 0 , fondant : 0,15 , onctueux : 0,25

Description de la finale à la bouche / Agréable : 1 , très typique : 0,5 , riche en arôme : 0,25 , intense et persistance : 0,15, plutôt courte : 0

Annexes F : Fiche technique de la culture BM



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المديرية العامة للبحث العلمي والتطوير التكنولوجي

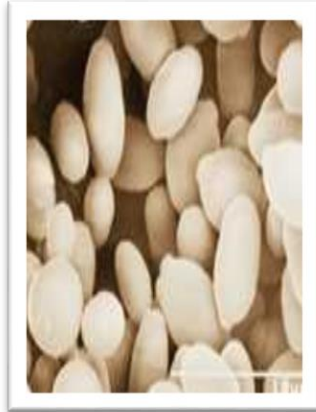
Salon National des Produits de la Recherche
Palais des Expositions, la SAFEX, Alger, les 2-3-4Juillet 2018

PROPOSITION D'EXPOSITION DE PRODUIT INNOVANT

Envoyer la fiche avant **30 Avril 2018** à l'adresse électronique : event.dgrsdt@mesrs.dz

Intitulé du produit :

Culture d'aromatisation des fromages en affinage « R.M »



Brevibacterium linens *Micrococcus xylosum* et mélange des 02 cultures BM

Objectif du produit et utilité:

La présente proposition concerne l'industrie fromagère, notamment la fabrication des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite par l'utilisation d'une culture sélectionnée de souches d'aromatisation des fromages composée de deux bactéries d'affinage « *Brevibacterium linens* et *Micrococcus xylosum* », .

La compréhension de l'évolution de l'écosystème microbien au cours de l'affinage qui influence les qualités organoleptiques des fromages est d'une importance capitale pour améliorer leur valeur intrinsèque. Les innovations technologiques de traitement et d'ensemencement du lait par un microbiote contrôlé, loin de la tradition, facilitent la maîtrise des populations microbiennes et de leur dynamique par une uniformisation et, une standardisation des caractéristiques organoleptiques et sensorielles des fromages spécifiques au produit proposé

Ces microorganismes proposés, sélectionnés à partir de fromages traditionnels fabriqués à base de laits locaux, permettent de transformer le caillé de lait en un produit partiellement lipolysé, protéolysé, avec une texture spécifique et enrichi en composés aromatiques. Les composés aromatiques obtenus sont des métabolites développant la saveur du fromage. Ils sont constitués d'acides aminés, d'acides gras, de peptides aromatiques ou de composés volatiles tels que des esters, des dérivés volatiles cétoniques ou soufrés.

Domaine(s) d'application et utilisateurs potentiels :

La culture d'aromatisation des fromages en affinage « BM » est proposée pour une utilisation dans la fabrication de tous types de fromages à pâte molle (à croûte lavée ou à croûte fleurie) et les fromages à pâte pressée non cuite. Cette culture contribue à assouplir la pâte et à réduire le temps d'affinage. Son utilisation pourra être proposée actuellement pour une utilisation artisanale et semi-industrielle. Cette culture est une contribution dans le sens d'apporter aux fromagers l'innovation à la maîtrise de l'affinage par l'utilisation d'un microbiote contrôlé aux propriétés biochimiques très ciblés.

Dans quel cadre ce produit a-t-il été développé :

Ce produit a été réalisé dans le cadre d'une recherche de thèse de Doctorat LMD d'un sujet qui s'intitule : Etude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques

Réalisé par M DAHOU Abdelkader El-Amine Docteur chercheur au laboratoire LSTPA Mostaganem

Contact :Messieurs

HOMRANI Abdelkader, Professeur et Directeur de laboratoire de recherche, Université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Laboratoire de recherche des sciences et techniques de production animale, Ferme expérimentale de Hassi-Mamèche Mostaganem, Mobile : 00 213 7 71 59 37 12, Email : labostpa@gmail.com

BEKADA Ahmed, Professeur centre universitaire de Tissemsilet, chercheur associé au laboratoire LSTPA Université de Mostaganem, Email : ahmedbekada@yahoo.fr

DAHOU Abdelkader El-Amine, Docteur, Université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Laboratoire de recherche des sciences et techniques de production animale, Email : amine2369@gmail.com , Mobile : 00 213 7 71 94 28 87

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des références Bibliographiques :

- ❖ **Abdoune O. 2003.** Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie Draa ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage. Mémoire de magister en science alimentaire, Constantine. 88 p.
- ❖ **Afif A., Faid M. et Najimi M. 2008.** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology* Vol 7. N°1. pp: 2-7.
- ❖ **Agabriel C., Coulon J.B., Brunschw ig G., Sibra C. et Nafidi C. 1995.** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. *INRA Prod. Anim.*, 8 (4). Pp : 251-258
- ❖ **Amhourri, F., Saidi, B., Hamama, A., et Zahar, M. 2010.** Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(1), 31-35
- ❖ **AOAC 1995.** Official methods of analysis of AOAC International 16th ed, Washington DC.
- ❖ **Association de Défense et de Gestion del'AOC* Camembert de Normandie France créé le 27 juillet 2007**
- ❖ **Beresford T. et Williams A., 2004.** The Microbiology of Cheese Ripening – Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition, Volume 1: General Aspects, Éd. Fox P., McSweeney P., Cogan T., GuineeT, Academicpress. Pp : 85-98
- ❖ **Berger C., Khan J.A., Molimard P., Martin N.et Spinnler H.E. 1999.** Production of sulfur flavors by ten strains of *Geotrichum candidum*. *Appl Environ Microbiol*, 65 : 55105514p.

- ❖ **Bertrand F., 1988.** Le fromage grand œuvre des microbes .revue générale de froid, 78,519-527.
- ❖ **Brulé G., Mahaut M., Jeantet R., 2003.** Initiation à la technologie fromagère, Edition Tec & Doc Lavoisier,
- ❖ **C.I.P.C Lait/Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles 2011.** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse physico-chimiques des laits et des produits laitiers (méthodes de référence AFNOR/lait n°2011-02)
- ❖ **Callon C., Millet L., Montel M.C. 2004.** Diversity of lactic acid bacteria isolated from AOC Salers cheese .Journal of Dairy Research 71,231-244.
- ❖ **Carole L.V, 2002.** Science et technologie de lait, Transformation du lai Edition: Tec & Doc. 3-67-89-90-123-349-364-369-371-375-394-600p
- ❖ **Carr F.J., Chill D. et Maida N., 2002.** The lactic acid bacteria .Critical Review in Microbiology.20.281-370
- ❖ **Caucquil M. 2011.** Incidence des pratiques d'élevage sur les équilibres microbiens de la litière, de la peau des trayons et du lait cru en filière AOP Comte. Thèse de Docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique-ONIRIS. pp: 81-170.
- ❖ **Chamba J. F. et Irlinger F. 2004.** Secondary and adjunct cultures. In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T.M. Cogan, and T. P. Guinee, 191-206p. London, UK : Elsevier Academic Press Inc.
- ❖ **Champigny P.L., 2011.** Biocompatibilité des bactéries lactiques probiotiques et d'affinage avec des mycètes du camembert isolées de laits de terroir québécois, mémoire présenté à la faculté des études supérieures de l'université Laval, 90 pages.
- ❖ **Cholet 2006.** Étude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire, Institut national agronomique Paris-Grignon, Paris, France.

- ❖ **Cholet Orianne., 2006.** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Life Sciences [q-bio]. INAPG (AgroParisTech), 2006. English.

- ❖ **Codex Alimentarius ; codex Stan 283-1978**

- ❖ **Codex Alimentarius. 2010.** Norme Codex pour le Camembert (codex Stan 2831978) [Enligne],URL:www.codexalimentarius.org/input/download/standards/218/CXS_276f.pdf

- ❖ **Codex standard 283-1978., 1978.** FRANCE. Décret N° 88-1206 du 30 décembre 1988. Code de la consommation.

- ❖ **Daniel St-Gelais., Tirard-Collet, P., 2002.** Fromage, in: Vignola, C.L. (Ed.), Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses internationales Polytechnique, Fondation de technologie laitière du Québec.

- ❖ **Desmaures, N. 1995.** Étude des laits de haute qualité: caractéristiques et aptitude microbiologique à la transformation en camembert au lait cru: thèse de doctorat de l'université de Caen, France.

- ❖ **Dodd F.H., Booth J. 2000.** Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairycattle. Edition Andrews A.H. London. p. 21. 3-255.

- ❖ **Eck A et Gillis J.C. 2006.** Le fromage. 3eme edition : Tec et Doc, Lavoisier.Paris. 891p.

- ❖ **Edima H.C., 2007.** *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. 57-66.

- ❖ **ElShabassy omar., 2017.** <https://fr.slideshare.net/OmarElShabassy2/lanalyse-chimique-du-fromage>

- ❖ **F.I.L Référence ISO 707|Octobre 2018.** Lignes directrices relatives aux méthodes d'échantillonnage du lait et des produits laitiers destinés à une analyse microbiologique, chimique, physique et sensorielle.

- ❖ **FAO/OMS. 1996. Codex Alimentarius. N°A-6-1978.** Code de principes concernant le lait et les produits laitiers. Rome, 258p.

- ❖ **Fleet G. H. 1999.** Microorganisms in food ecosystems. International Journal of Food Microbiology 50, 101-117p.

- ❖ **Gauzere Yves. 2009.** Les flores de l'affinage, Technologie fromagère journées du 23-24 25 juin 2009 : <https://docplayer.fr/49098348-Les-flores-de-surface-et-d-affinage.html>

- ❖ **Guinot-Thomas P., Ammoury M., Laurent F., 1995.** Effects of storage conditions on the composition of rawmilk. Int. Dairy J., 5, 211-223.

- ❖ **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.

- ❖ **ISO 3432|FIL 221:2007,** Fromages — Détermination de la teneur en matière grasse — Butyromètre pour la méthode Van Gulik

- ❖ **Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. 2007.** Science des aliments. Technologie des produits alimentaires. Edit Tech.Doc. Lavoisier (Paris). Tome 2, 7, 50-51p.

- ❖ **JORA. 1998 :** Journal Officiel de la République Algérienne N° 86 du 18-11-1998

- ❖ **Laithier.C., 2011.** Les fromages du terroir et microflore du lait cru. Ouvrage collectif de l'institut d'élevage 149 rue de Bercy 75595 Paris, Juillet 2011. 131p

- ❖ **Larpent 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 Tec et Doc, Lavoisier, pp. 201-215

- ❖ **Leclercq-Perlat M.N., Picque D., Riahi H. et Corrieu G. 2006.** Microbiological and biochemical aspects of Camembert-type cheeses depend on atmospheric composition in the ripening chamber. *J. Dairy Sci.* 89(8): 3260-3273p

- ❖ **Leclercq-Perlat, Marie-Noëlle 2011.** Cheese: Camembert Brie and Related Varieties, *Encyclopedia of dairy sciences: Second Edition*

- ❖ **Lenoir J., 1963.** La Flore microbienne du camembert et sont évaluation au cours de la maturation. *Le lait*, INRA Editions, 1963, 43 (425_426), pp.262-270. hal-00928331

- ❖ **Lenoir J., Lamberet G. & Schmidt J. L. 1983.** L'élaboration d'un fromage : l'exemple du Camembert. *Pour la Science*, 69, 30-42p.

- ❖ **Luquet F.M et Boudier G., 1991.** Fromages et écosystèmes laitiers Edit .Tech.Doc .Lavoisier (Paris).P.343-408.

- ❖ **Luquet FM., 1990.** Lait et produits laitiers, vache, brebis, chèvre : Transformation et technologie. Editions: Tech& Doc, Lavoisier. Paris.633p

- ❖ **Lynch JM. et Barbano DM., 1999.** Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. *Journal Of AOAC International.* 6, 1389-1400.

- ❖ **Magali Pradal., 2012.** la transformation fromagée caprine fermière, bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre, chapitre 3, p 86-87

- ❖ **Mahaut M, Jeantet R et Brule G., 2000.** Initiation à la technologie fromagère. Ed, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, p.25-27-29-105-109

- ❖ **Mahaut M, Jeantet R, Brulé G et Schuck P., 2000.** Les produits industriels laitiers edition: Tec & Doc. Paris. 192p.

- ❖ **Majdi A., 2009.** Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie

- ❖ **Mietton B., 1995.** Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage. *Revue des ENIL*, 189, p.19-27

- ❖ **Monnet C., Back A., and Irlinger, F., 2012.** Growth of aerobic ripening bacteria at the cheese surface is limited by the availability of iron. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 3185–3192

- ❖ **Montel M.C., Buchin S., Mallet A., Delbes-Paus C., Vuitton D., Desmasures N., Berthier F., 2014.** Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int.J.of food microbiology* 177 (2014):136-154.

- ❖ **Mounier J, Rea MC, O'Connor PM, Fitzgerald GF, Cogan TM., 2007.** Growth characteristics of *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, and *Staphylococcus spp.* isolated from surface-ripened cheese. *Appl Environ Microbiol* 73: 7732-7739

- ❖ **Mounier J., Gelsomino R., Goerges S., Vancanneyt M., Vandemeulebroecke K., Hoste, B. Scherer S., Swings J., Fitzgerald G. F. et Cogan T. M., 2005.** Surface microflora of four smearripened cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11): 6489-6500p.

- ❖ **Neelakanten J., Shahani K.M. et Arnold R.G. 1971.** Lipases and flavor development in some Italian cheese varieties. *Food Production Development*, 5, 52-58p.

- ❖ **Nouari Leila et Bouziani Ibtissem., 2018.** Essai de fabrication d'un fromage type camembert à l'unité de Wanis, mémoire de master, chapitre 2, p19-20

- ❖ **Parente E. et Cogan T. M. 2004.** Starter cultures: general aspects. In : Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, 123-148p.

- ❖ **Parente E. et Cogan T. M. 2004.** Starter cultures: general aspects. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, pp. 123-148. Edited by P. F. Fox, P. L. H. Mc Sweeney, T. M. Cogan & T. P. Guinee. London: Elsevier.

- ❖ **Picque. D ; Guillemin. H. 2013.** Evaluation de techniques de mesures des paramètres d'ambiance dans les locaux d'affinage en production fermier de type lactique, compte rendu finale 2013
- ❖ **Prescott M, 2003.** Subunit gamma-green fluorescent protein fusions are functionally incorporated into mitochondrial F1F0-ATP synthase, arguing against a rigid cap structure at the top of F1. J Biol Chem 278(1)
- ❖ **Rainard P et Poutrel B. 1993.** Protection de la glande mammaire. Dans: Biologie de la lactation. Edition INSERM-INRA,pp: 415-429.
- ❖ **Ramet J.P., 1985.** La fromagerie et les variétés du bassin méditerranées. 187 p. CollectionFAO Alimentation et nutritionn°48.
- ❖ **Rattray, F. P. & Fox P. F. 1999.** Aspects of enzymology and biochemical properties of *Brevibacterium linens* relevant to cheese ripening: a review. Journal of Dairy Science 82, 891-909p
- ❖ **Raynaud S., Morge S.,Pétrier M., Allut G., Barral J., Enjalbert V., Reynaud C., Michel A., 2016.**Caractérisation des conduites d'affinage à la ferme et étude des liens avec les paramètres d'ambiance des locaux et la qualité des fromages .Action 1 du projet qualité des fromages lactiques fermiers locaux et maîtrise de l'affinage.Rapport de fin d'étude collection résultats de l'institut d'élevage.
- ❖ **Raynaud Sabrina. 2016.** les microorganismes intervenant dans l'affinage des fromage a pate lactique, institut de l'élevages, 2ème trimestre 2016
- ❖ **Ribadeau Dumas; Vassal et Gripon 1984.** Maîtrise de l'affinage des fromages de type Camembert. Lait.
- ❖ **Richard, J. 1984.** Evolution de la flore microbienne à la surface des camemberts fabriqués avec du lait cru. le lait 64, 496-520.

- ❖ **Srairi M. T. et Hamama A. 2006.** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137. pp : 1-4.
- ❖ **St-Gelais D. Tirard-Collet P. 2002.** Chapitre 6: Fromage; Vignola C, Edition: Tec & Doc, editor. Montréal: Presses internationales Polytechnique
- ❖ **Stiles M.E. et Holzapfel W.H. 1997.** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36: 1-29p.
- ❖ **TalebBendiab Farah. 2017.** contrôle physico-chimique et microbiologique de camembert, mémoire de master, 3ème partie, p35
- ❖ **Vesseyre.R. 1979.** Technologie du lait; constitution. Récolte, traitement et transformation du lait. Edition, la maison rustique. Paris.
- ❖ **Yildiz F. 2010.** Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435p.

Liste des sites électroniques :

- ❖ **Choi Charles Q. 2012.** Live Science. <https://www.livescience.com/25472-first-cheesemakers-discovered.html>
- ❖ **Guillaume P.Y 2004.** www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm
- ❖ **Jaime le fromage.ch. 2019.** <https://jaime-le-fromage.ch/fr/tout-sur-le-fromage/les-varietes-de-fromage/les-fromages-frais-le-fromage-sans-affinage/>
- ❖ **Malo. 2017.** <http://www.topito.com/top-pays-production-fromage>
- ❖ **Meyer C., ed. sc., 2019.** Dictionnaire des Sciences Animales. [On line]. Montpellier, France, Cirad. [20/05/2019]. <URL : <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/> >

- ❖ **Staff. 2019.** <http://www.les-calories.com/calorie-13659-calories-camembert.html>
- ❖ **Tiphaine. 2017.** <https://www.gourmandiseries.fr/fabrication-camembert-de-normandie/>
- ❖ <http://www.apaqw.be/>
- ❖ <http://www.doctissimo.fr/>

TABLE DES MATIERES

Table des matières

| | |
|--|----|
| Remerciements | |
| Dédicaces | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| ملخص | |
| Sommaire | |
| Liste des abréviations, acronymes et sigles | |
| Liste des tableaux | |
| Listes des figures | |
| Listes des annexes | |
| Introduction | 12 |
| Première partie. Etude Bibliographique | |
| Chapitre I : Le Fromage | |
| 1. Fromage..... | 17 |
| 1.1. Définition | 17 |
| 1.2. Différentes types de fromage..... | 17 |
| 1.2.1. Fromage frais..... | 17 |
| 1.2.2. Fromage fondus | 18 |
| 1.2.3. Fromage à pâte molle | 18 |
| 1.2.4. Fromage à pâte pressée | 19 |
| 1.2.4.1. Fromage à pâte pressée cuite..... | 19 |
| 1.2. 4.2. Fromage à pâte pressée non cuite..... | 20 |
| 1.2.5. Fromages à pâte dure | 20 |
| 1.2.6. Fromages à pâte filée | 20 |
| 2. Fromages à pâte molle | 20 |
| 2.1. Définition..... | 20 |
| 2.2. Différentes types de fromages à pâte molle..... | 21 |
| 2.2.1. Fromages de pâte molle à croûte fleurie | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.2.2. Fromages de pâte molle à croûte lavée | 21 |
| 2.3. Camembert | 21 |
| 2.3.1. Définition..... | 21 |
| 2.3.2. Composition et valeur nutritionnelle | 22 |
| 2.3.3. Valeur énergétique | 23 |
| 3. Matière première : Le lait | 23 |
| 3.1. Lait cru | 23 |
| 3.2. Microbiologie du lait: | 23 |
| 3.2.1. La Flore originelle | 24 |
| 3.2.2. La Flore contaminante | 24 |
| 3.3. Lait reconstitué | 24 |
| 3.3.1. poudre de lait | 24 |
| 3.3.2. Eau de reconstitution | 24 |
| 4. Etapes de fabrication du fromage à pâte molle de type camembert..... | 25 |
| 4.1. Standardisation..... | 25 |
| 4.2. Pasteurisation..... | 25 |
| 4.3. Maturation..... | 25 |
| 4.4. La coagulation..... | 26 |
| 4.4.1. coagulation acide..... | 26 |
| 4.4.2. coagulation enzymatique..... | 26 |
| 4.4.3. coagulation mixte..... | 27 |
| 4.5. Tranchage | 27 |
| 4.6. Moulage | 28 |
| 4.7. L'égouttage | 28 |
| 4.7.1. égouttage de gel présure | 28 |
| 4.7.2. égouttage de coagulum acide..... | 28 |
| 4.7.3. égouttage mixte..... | 28 |

Chapitre II : Affinage et optimisation

| | |
|--|----|
| 1. Affinage et optimisation de la maturation du fromage de type camembert..... | 30 |
| 2. potentialités enzymatiques du fromage en affinage | 30 |

| | |
|---|----|
| 2.1. Les enzymes de plusieurs origines..... | 30 |
| 2.2. Enzymes d'origine microbienne | 30 |
| 3. Moyens de maîtrise de l'affinage..... | 31 |
| 3.1. Contrôle des paramètres d'affinage..... | 31 |
| 3.2. Humidité relative | 31 |
| 3.3. Température | 32 |
| 3.4. Flux d'air | 32 |
| 4. Maîtrise du microbiote à l'affinage des fromages à pâte molle..... | 32 |
| 4.1 La microflore d'un fromage à pâte molle | 33 |
| 4.2. La flore lactique | 34 |
| 4.3. La flore d'affinage | 35 |
| 4.4. Les Levures | 35 |
| 4.4.1. Geotrichum candidum | 36 |
| 4.5. Les Moisissures | 36 |
| 4.5.1. Penicillium camemberti | 36 |
| 4.6. Les Microcoques | 36 |
| 4.7. Les Brevibactériums | 37 |

Deuxième Partie. Recherche Expérimentale

Chapitre 1. Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Méthodologie | 40 |
| 2. Matériel et méthodes | 41 |
| 2.1. Matériel | 41 |
| 2.1.1. Matériel biologique et milieux..... | 41 |
| 2.1.2. Equipements et produits chimiques..... | 41 |
| 2.2. Méthodes | 42 |
| 2.2.1. Préparation des laits..... | 42 |
| 2.2.2. Analyses physico-chimique du lait reconstitué, du lait cru et du mélange..... | 42 |
| 2.2.3. Analyses microbiologiques de lait..... | 43 |
| 2.2.3.1. Dénombrement des Coliformes totaux | 43 |
| 2.2.3.2. Dénombrement des Coliformes Fécaux | 43 |
| 2.2.3.3. Dénombrement des Staphylococcus aureus | 43 |

| | |
|---|----|
| 2.2.3.4. Dénombrement des Salmonelles..... | 43 |
| 2.2.3.5. Dénombrement de la flore lactique et de la flore totale | 43 |
| 2.2.4. Test de lactofermentation..... | 44 |
| 2.2.5. Caractérisation physico-chimique des fromages..... | 45 |
| 2.2.5.1. Mesure du pH et de la température..... | 45 |
| 2.2.5.2. Détermination de l'acidité titrable..... | 45 |
| 2.2.5.3. Détermination de l'extrait sec total(EST)..... | 46 |
| 2.2.5.4. Détermination de l'Humidité | 46 |
| 2.2.5.5. Détermination du taux de la matière grasse(MG)..... | 47 |
| 2.2.5.6. Rapport matière grasse/matière sèche (G/S)..... | 47 |
| 2.2.5.7. Détermination de la teneur en azote total (protéines)..... | 47 |
| 2.2.5.7.1. Minéralisation..... | 48 |
| 2.2.5.7.2. Distillation et dosage de l'azote total..... | 48 |
| 2.2.6. Analyses microbiologiques du fromage..... | 49 |
| 2.2.6.1. Préparation de la solution mère..... | 49 |
| 2.2.6.2. Dénombrement des différentes flores..... | 49 |
| 2.2.7. Dosage du taux de Nacl dans les fromages au cours de l'affinage..... | 49 |
| 2.2.8. Revivification, contrôle biochimique et macroscopique-microscopique du microbiote d'affinage composé de <i>Brevibacterium linens</i> et de <i>Micrococccu sxylosus</i> | 50 |
| 2.2.8.1. Revivification des souches | 50 |
| 2.2.8.3. Observation microscopique..... | 50 |
| 2.2.8.4. Contrôle biochimique | 50 |
| 2.2.8.4.1. Test de production de la catalase | 50 |
| 2.2.8.4.2. Test d'oxydase | 51 |
| 2.2.9. Essai de fabrication des fromages expérimentaux..... | 51 |
| 2.2.10. Diagramme de fabrication réalisé au laboratoire et au niveau de l'atelier pour les essais du fromage à pâte molle type camembert | 51 |
| 2.2.11. Analyse sensorielle | 53 |

Chapitre II. Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Résultats | 55 |
| 1.1. Résultats d'analyses microbiologiques et physico-chimique des laits utilisés..... | 55 |
| 1.1.1. Analyses microbiologiques des laits utilisés | 55 |
| 1.1.2. Analyses physico-chimiques des laits utilisés | 56 |
| 1.2. Production des fromages à pâte molle de type stabilisé et de type traditionnel avec utilisation de microbiote d'affinage composé de Brevibactérium linens et de Micrococcu xylosus | 56 |
| 1.2.1. Revivification et purification des souches d'affinage : Brevibactérium et Microcoque | 56 |
| 1.2.2. Examen macroscopique | 57 |
| 1.2.3. Examen microscopique | 57 |
| 1.2.4. Choix des microbiotes pour les essais réalisés | 58 |
| 1.3. Analyses microbiologiques et physico-chimiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire..... | 59 |
| 1.3.1. Analyses microbiologiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire..... | 59 |
| 1.3.2. Analyses physico-chimiques des fromages au début et en cours d'affinage au laboratoire..... | 61 |
| 1.4. Analyses sensorielles des fromages affinés | 64 |
| 2. Discussion | 66 |
| 2.1. Analyses microbiologiques des laits | 66 |
| 2.1.1. Flore totale mésophile aérobie..... | 66 |
| 2.1.1.1. Coliformes totaux..... | 66 |
| 2.1.1.2. Salmonelles..... | 67 |
| 2.1.1.3. Staphylocoques..... | 67 |
| 2.1.2. Flore lactique | 67 |
| 2.1.3. Test de Lactofermentation..... | 68 |
| 2.1.4. Préconisation pour nos essais selon nos résultats microbiologiques | 68 |
| 2.2. Analyses physico-chimiques des laits..... | 69 |
| 2.2.1. Matière sèche | 69 |

| | |
|--|----|
| 2.2.2. Teneur en matière minérale | 69 |
| 2.2.3. pH..... | 69 |
| 2.2.4. Teneur en matière grasse..... | 69 |
| 2.2.5. Lactose | 70 |
| 2.2.6. Teneur en matière protéique..... | 70 |
| 2.2.7. Contrôle de la coagulation | 71 |
| 2.2.8. Détermination du rendement fromager..... | 72 |
| 2.2.9. Préconisation pour nos essais selon nos résultats physico-chimiques | 73 |
| 2.3. Utilisation d'une flore contrôlée d'affinage composée d'une culture mixte de Brevibactérium et de Microcoques | 74 |
| 2.4. Evolution microbiologique de nos essais de fromage au cours de l'affinage..... | 75 |
| 2.4. Evolution physico-chimiques de nos essais de fromage au cours de l'affinage..... | 78 |
| 2.4.1. Evolution des pH | 78 |
| 2.4.2. Extrait sec total (EST) | 79 |
| 2.4.3. Teneur en matière grasse (MG) | 79 |
| 2.4.4. Rapport de matière grasse sur matière sèche (G/S) | 80 |
| 2.4.5. Humidité (H%)..... | 80 |
| 2.4.6. Teneur en azote total et en protéines..... | 80 |
| 2.4.7. Teneur en sel | 81 |
| 2.5. Analyse sensorielle de nos essais de fromage | 82 |
| 2.5.1. L'examen visuel | 83 |
| 2.5.2. L'examen olfactif | 84 |
| 2.5.3. L'examen gustatif | 84 |
| Conclusion et Perspectives | 85 |
| Annexes..... | 87 |
| Références bibliographiques | |