



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences alimentaires

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Thème

Evolution physico-chimiques et microbiologiques du camembert au lait cru et au lait pasteurisé et évaluation des activités antibactériennes et anti radicalaire au cours de l'affinage

Travail réalisé par :

M^{elle} HEDJAL Louisa

M^{elle} HADOUCHI Sonia

Devant le jury composé de :

Promoteur : M^r SEBBANE H.

Maitre assistant classe A.

Co-promoteur : M^{elle} HALZOUNE F.

Responsable du Laboratoire.

Président : M^{me} BEDOUHENE-FENANE S.

Maitre de conférences classe B.

Examinatrice : M^{me} SENOUSSE-GHEZALI C.

Maitre assistante classe A.

Examinatrice : Mme ALMI D.

Maitre assistante classe A.

Année universitaire : 2017 - 2018



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier nos parents qui ont toujours été la pour nous avec leur amour et leur soutien.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre promoteur Monsieur SEBBANE, qui a accepté de nous encadrer, nous le remercions infiniment pour sa grande patience, ses encouragements, son aide et ses conseils judicieux, durant la réalisation du présent travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciement les plus sincères vont également à tout le personnel de la laiterie fromagerie STLD de tizi ouzou de nous avoir permis de réaliser ce travail et pour tous leurs conseils pratiques sans oublier l'ensemble du personnel de la fromagerie saint Amour.

Nous présentant nos remerciement à tout nos enseignants de l'université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Dédicaces

Je dédie ce mémoire avant tout

A ma " mère "

La plus belle créature que Dieu a créé sur terre à cette source de tendresse. De patience et de générosité. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à terme mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de faire depuis ma naissance.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon " Père "

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs " Ouerdia et Melissa "

En témoignage et l'attachement de l'amour et l'affection que j'ai pour vous, je vous dédie ce travail j'espère que vous serez fière de moi.

A mon frère " Boussad "

Qui a toujours été la pour moi dans tous mes moments d'examens par son soutien morale.

Mes grands parents

Mes tantes, oncles, cousines, cousin et tous les membres de la famille

Mes amies

Lydia, Sonia, Yousra, Meriem

Louisa



Dédicace

Ce travail est dédié à la mémoire de ma maman qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A mon père pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes tantes Malha et Djedjiga pour leur soutien et encouragements.

A mon oncle belaïd à qui je souhaite un prompt rétablissement.

A mon cousin Ouali qui a toujours été là pour moi.

A Louisa avec qui j'ai partagée ce modeste travail.

Tous (tes) mes amis (es), notamment Lydia, Yamina, Ouardia.

A tous ceux qui me sont chers.

Sonia



Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
I. Etat de la filière lait en Algérie	4
I.1. Définition de la filière lait	4
I.2. Situation laitière en Algérie	4
I.3. Principales contraintes entravant la filière laitière	8
II. Lait et fromage	10
II.1. Lait	10
II.1.1. Définition	10
II.1.2. Caractéristiques physico-chimique du lait	10
II.1.3. Composition biochimique	11
II.1.4. Microbiologie du lait	19
II.1.5. Principales activités microbiennes dans le lait	21
II.2. Fromage	23
II.2.1. Définition	23
II.2.2. Classification des fromages	23
II.2.3. Fromage à pate molle	25
II.2.3.1. Définition	25
II.2.3.2. Camembert	26
II.2.3.2.1. Composition et valeur nutritionnelle	26
II.2.3.2.2. Etapes de la fabrication du camembert	28
II.3. Dénomination « fromage fermier » - « fromage au lait cru »	34
II.3.1. Définitions	34
II.3.2. Modes de production des fromages fermiers	34

II.4. Biochimie de l'affinage.....	36
II.5. Les peptides bioactifs.....	38
II.5.1. les activités biologiques des peptides bioactifs.....	39
II.5.1.1. Activité anti-oxydante.....	39
II.5.1.2. Activité antibactérienne.....	40
II.6. Paramètres influencent sur l'affinage.....	41

Partie pratique

Description du lieu de stage	44
------------------------------------	----

Matériels et méthodes

I. Echantillonnage et description du diagramme de fabrication	46
I.1. Echantillonnage	47
I.2. diagramme de fabrication	50
II. Méthodes	50
II.1. Analyses physicochimiques.....	50
II.1.1. Détermination de la densité	50
II.1.2. Détermination du Ph.....	50
II.1.3. Détermination de l'extrait sec total (EST.....	51
II.1.4. Détermination de l'acidité titrable	51
II.1.5. Détermination de la teneur en matière grasse du fromage	51
II.1.6. Détermination de l'extrait sec dégraissé	51
II.1.7. Dosage des protéines	52
II.1.8. Dosage des groupements NH ₂ libres par l'emploi de l'acide 2-4-6 trinitrobenzène sulfonique (TNBS)	52
II.2. Activités biologiques	53
II.2.1. Pouvoir antioxydant	54
II.2.2. Pouvoir réducteur.....	54
II.3. Analyse microbiologique	55
II.3.1. Recherche d'antibiotique dans le lait par le beta star Combo	55
II.3.2. Recherche et dénombrement des flores.....	55

II.3.3. Dénombrement de flore totale aérobie mésophile (FTAM)	58
II.3.4. Déroulement des coliformes totaux et fécaux.....	58
II.3.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures	58
II.3.7. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
II.4. Etude de l'activité antibactérienne.....	60
II.5. Analyse statistique des résultats	61

Résultats et discussions

I. Résultats physicochimiques.....	62
I.1. Résultats physicochimique du lait.....	62
I.2. Résultats physicochimiques des fromages.....	64
I.3. Suivi de la protéolyse par le dosage des acides aminés libres	67
II. Résultats microbiologique	69
II.1. Résultats microbiologique du lait	69
II.2. Résultats de l'évolution microbienne au cours de l'affinage du fromage.....	73
II.2.1. Fromage industriel	73
II.2.2. Fromage artisanal	73
II.2.3. Résultat de la recherche de <i>S. aureus</i> dans les fromages	78
II.3. Résultats du suivi des activités biologiques	79
II.3.1. Activités antioxydante	79
II.3.2. Détermination de l'activité antibactérienne en milieu gélosé	81
Conclusion et perspectives	86
Références bibliographique	88

Annexes

Résumé

Cette étude a été menée dans le but de valoriser la production fromagère artisanale au lait cru en Algérie.

Les résultats physicochimiques ont montré que la variation du pH est inversement proportionnelle à l'acidité Dornic. Les teneurs en extrait sec total, matière grasse et protéines augmentent au cours de l'affinage avec des différences significatives ($P < 0.05$) en fonction du stade de l'affinage et le type de fromages. Les résultats de l'analyse microbiologique ont montré une augmentation de la flore lactique et l'absence de germes pathogènes au cours de l'affinage. La diminution des coliformes (fécaux et totaux) dans le camembert artisanal, témoigne sur la présence des substances antibactériennes qui peuvent être soit des bactériocines soit des peptides bioactifs. Ces derniers sont mis en valeur par le degré de la protéolyse avec la méthode TNBS et par l'élévation du pouvoir anti-radicalaire et antioxydant. L'activité antibactérienne dans le fromage au lait cru, a été étudiée sur le surnageant et sur une solution de différentes concentrations de lyophilisats de la solution fromagère contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherchia coli* ATCC 25922, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose par disques. La présence des zones d'inhibition sur gélose confirme les résultats de l'abaissement du nombre de coliforme.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour les éleveurs et le développement du segment de fromage au lait cru en Algérie contribuant en valeur ajoutée à l'économie rurale.

Mots clés : activité antimicrobienne, activité antioxydante, affinage, camembert, lait cru, lait pasteurisé, peptides bioactifs.

Abstract

This study was conducted with the aim of promoting artisanal raw milk cheese production in Algeria.

The physicochemical results showed that the pH variation is inversely proportional to the Dornic acidity. The total dry extract, fat and protein contents increase during ripening with significant differences of less than ($P < 0.05$) depending on the stage of ripening and the type of cheese. The results of the microbiological analysis showed an increase in the lactic flora and the absence of pathogenic germs during ripening. The reduction of coliforms (faecal and total) in artisanal camembert, testifies to the presence of antibacterial substances which can be either bacteriocins or bioactive peptides. These are enhanced by the degree of proteolysis with the TNBS method and by the rise of the anti-radical and antioxidant power.

The antibacterial activity in raw milk cheese was studied on the supernatant and on a solution of different concentrations of lyophilisates of the cheese solution against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherchia coli* ATCC 25922, using the disk diffusion method on disc agar. The presence of the zones of inhibition on agar confirms the results of the lowering of the number of coliforms.

These results open up new perspectives for breeders and the development of the raw milk cheese segment in Algeria, contributing in added value to the rural economy.

Key words: antimicrobial activity, antioxidant activity, ripening, camembert, raw milk, pasteurized milk, bioactive peptides.

Liste des abréviations

°D : degré dornic.

AAL : acide aminé libre.

AFNOR : Association française de Normalisation.

Aw : activité de l'eau.

BSA : sérum albumine bovine.

DO : densité optique.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

nm : nanomètre.

TCA : acide trichloracétique.

TNBS : acide 2, 4, 6, trinitrobenzène sulfonique.

PA : potentiel antioxydant.

PNDA : Plan National de Développement Agricole.

PNDAR : Plan National de Développement Agricole et Rural.

MADR : Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural.

STLD : Société de Transformation du Lait et Dérivé.

SF : solution fromagère.

UFC : unité formant colonie.

ATB : antibiotique.

FTAM : flore totale aérobie mésophile.

Liste des figures

Figure 1 : Structure d'un globule de matière grasse	14
Figure 2 : Micelle de caséine et sous micelle de caséine	17
Figure 3 : Diagramme de fabrication de fromage a pate molle type camembert.....	28.
Figure 4 : Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage.....	38
Figure 5: Organigramme de l'organisation administrative de la laiterie STLD.....	44
Figure 6: Diagramme de fabrication du camembert industriel et artisanal.....	47
Figure 7 : Fromage à pate molle type camembert industriel « le fermier » et artisanal « Saint - Amour ».....	49
Figure 8 : Réaction de TNBS avec des groupes amino.....	53
Figure 9: Dénombrement des principales flores dans le lait et dans le Fromage.....	57
Figure 10 : Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> par enrichissement en milieu GC et isolement sur milieu BAIRED-PARKER.....	59
Figure 11 : Evolution du pH et de l'acidité du fromage industriel aux différents stades de l'affinage	66
Figure 12: Evolution du pH et de l'acidité du fromage artisanal aux différents stades de l'affinage	66
Figure13: Evolution de la des acides aminés libres au cours de l'affinage pour la solution fromagère en mMol glycine/g de fromage.....	67
Figure 14: Evolution de la des acides aminés libres au cours de l'affinage pour les protéines sériques en mMol glycine/g de protéines totales.....	67
Figure 15 : Résultat de l'antibiogramme des souches ciblées <i>S.aureus</i> ATCC 25923 et <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	82
Figure 16: Zones d'inhibitions du surnageant bruts et neutralisés vis-à-vis de <i>E.coli</i> ATCC 25922 et <i>S.aureus</i> ATCC 25923 dans les deux types de fromages.....	82
Figure 17 : Zones d'inhibitions obtenues vis-à-vis de <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i> pour le lyophilisat du surnageant.....	83

Liste des tableaux

Tableau I : Composition moyenne du lait de vache.....	12
Tableau II : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales	13
Tableau III : Composition moyenne et distribution des protéines du lait	16
Tableau IV : Principales caractéristiques physicochimiques des caséines.....	15
Tableau V : Classification des fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage.	24
Tableau VI : Composition moyenne comparée du lait et des fromages	27
Tableau VII : Caractéristiques des deux modes habituels de coagulation du lait.....	31
Tableau VIII : Flores microbiennes dénombrées.....	56
Tableau IX: Valeur moyenne des analyses physicochimiques du lait utilisé en fabrication fromagère.....	62
Tableau X : Résultats d'analyses physico-chimiques du camembert artisanal « Saint Amour » et industriel « Fermier » an cours d'affinage.....	65
Tableau XI : Résultats de l'analyse microbiologique du lait.....	69
Tableau XII : Résultats d'analyses microbiologiques du camembert industriel « fermier »...	73
Tableau XIII : Résultats de l'analyse microbiologique du camembert artisanal « Saint amour ».....	75
Tableau XIV: Recherche des bactéries pathogènes dans le fromage industriel « fermier » et artisanal « Saint-amour ».....	78
Tableau XV : Résultats de l'évolution de l'activité anti-radicalaire et du pouvoir réducteur dans les différentes fractions des protéines des fromages au cours de l'affinage.....	79.

Introduction

Introduction

Le lait est un aliment de base riche en nutriments, sa composition est propre à chaque espèce laitière. Très vite, l'homme a compris que le lait peut constituer une partie importante de son alimentation mais lorsqu'il a voulu le conserver il s'est heurté à sa fragilité. En effet, de part sa richesse en nutriment, il constitue un milieu propice et favorable pour le développement de nombreux microorganismes qui peuvent l'altérer et le déstabiliser. Le développement microbien dans le lait change son aspect pour se transformer en gel possédant des caractéristique organoleptique diverses avec des taux élevés en lactose, lipides et en protéines en font de lui un aliment nutritif, riche en énergie (Walther et *al*, 2008).

La maîtrise de ces transformations va conduire à ce que nous appelons le fromage qui fut à son origine, un mode de conservation du lait ou du moins des éléments susceptibles d'être conservés, par fermentation, que l'Homme a appris à maîtriser (Eck et Gillis, 2006).

En Algérie la production locale des fromages est constituée essentiellement de fromage fondu (80-90000 t/an), fromage à pâte molle type camembert (7-8000t/an) et en fromage type petits suisses naturels ou aromatisés (6-7000 t/an).

Les fromages artisanaux sont caractérisés par un lien fort avec leur terroir d'origine et attestent de l'histoire et de la culture de la communauté qui les produit. Chaque fromage artisanal provient de systèmes complexes qui lui donnent des caractéristiques organoleptiques spécifiques. Ces dernières sont liées à divers facteurs de biodiversité, comme l'environnement, le climat, la prairie naturelle, la race des animaux, l'utilisation de lait cru et de sa microflore naturelle. La technologie fromagère s'appuie sur le savoir-faire unique de l'homme et non pas sur une technologie automatisée (Licitra, 2010). En Algérie, au moins dix types sont actuellement recensés dans les différentes régions du pays. La majeure partie de ces produits appartient à la catégorie des fromages frais (Jben, Klila, Bouhezza, Medeghissa).

Des études réalisées sur les dérivés laitiers artisanaux et sur le secteur laitier en général, indiquent que ces derniers ont besoin d'appui pour leur développement et l'augmentation de leur compétitivité sur le marché (Leksir et Chemam, 2015).

Dans l'élaboration industrielle par contre, il est plus répandu d'utiliser le lait cru pasteuriser car l'industrie a besoin d'une très grande quantité de lait pour satisfaire sa production. La pasteurisation est le moyen d'éliminer le risque potentiel que peut présenter la

Introduction

survie des microorganismes pathogènes et d'altérations. Cependant, ce traitement détruit également la majeure partie des bactéries lactiques, ce qui nécessite un ré-ensemencement du lait pasteurisé par cette flore, d'une manière contrôlée, pour une production fromagère diminuant ainsi la typicité des fromages industriels.

A l'opposé, les fromages fermier (au lait cru), de part le savoir faire de l'éleveur-fromager et le respect de l'hygiène, de la collecte jusqu'à la commercialisation du fromage permettent de joindre entre la salubrité du produit et la qualité organoleptique avec une typicité remarquable. L'effet antibactérien dans le fromage au lait cru notamment le camembert a été attribué à la protéolyse des caséines qui va libérer des peptides bioactifs doué d'effet anti radicalaire et anti oxydant. Ces produits de terroir représentent une valeur ajoutée à l'économie rurale en transformant le lait cru en produits dérivé comme fromage par l'éleveur lui-même ou les coopératives fermières.

En Algérie, l'exode rural a provoqué une hémorragie dans le tissu industriel et agricole ayant comme résultats la non autosuffisance et la dépendance en matière première de l'étranger.

La filière lait reste déstructurée avec un taux de collecte très marginale, qui ne dépasse pas le 10% (Kacimi-El hassani, 2013) qui fonctionne exclusivement avec de la poudre de lait importée et les quantités importée de cette dernière n'ont pas connu une tendance baissière, passant de 17.076,42 tonnes à la fin de 2015, contre 14.758,08 tonnes à la fin de l'année 2014, soit une augmentation de 15,71% (Anonyme, 2016).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui en comparant entre 2 types de fromages à pate molle type camembert l'un issu d'une fabrication industrielle « fermier » fabriqué au sein de la laiterie STLD de Tizi-Ouzou à base de lait pasteurisé, l'autre d'une fabrication fermière artisanale « Saint-amour » fabriqué au sein de la fromagerie artisanale de ouacif de Tizi-Ouzou en s'appuyant sur la démarche suivante :

Dans un premier temps : la comparaison de la qualité physicochimique et microbiologique des deux camemberts aux différents stades de l'affinage.

Dans un second temps : la mise en évidence de l'activité biologique des protéines dans la protection contre les radicaux libres, par estimation du pouvoir antioxydant en utilisant deux méthode d'analyse le pouvoir réducteur et chélateur au premier et dernier jour d'affinage ainsi que le pouvoir auto-préservatif des deux camembert contre les bactéries pathogènes par l'étude de l'activité antibactérienne au dernier jour d'affinage.

I. Etat de la filière lait en Algérie

I.1. Définition de la filière lait

La filière lait peut être définie, comme l'ensemble des segments qui vont, de la production du lait cru, à la ferme, jusqu'à sa consommation, en passant par les transformations industrielles et la distribution sur le marché (Bekhouche, 2011). Il est à signaler, que la couverture des besoins en lait et produits laitiers en Algérie est assurée, essentiellement, par les trois ressources suivantes :

- Le lait pasteurisé reconstitué ou recombinaison emballé en sachet polypropylène, ce dernier représente l'un des produits de base ;
- Le lait cru produit localement, essentiellement autoconsommé, ou distribué par le secteur informel et/ou artisanal. Ce lait échappe à tout contrôle de qualité hygiénique par les pouvoirs publics (Belhadia et al. 2009).
- Le lait industriellement transformé et conditionné sous emballage divers (Bouteille, Tétrapak) Conçu pour de longues durées de conservation (Kabir, 2014).

I.2. Situation laitière en Algérie

I.2.1. Production laitière en Algérie

La production laitière constitue un secteur stratégique de la politique agricole algérienne, notamment pour son rôle de fournisseur de protéines animales face à une croissance démographique galopante, la filière lait participe à la création d'emploi et de richesses (Ouakli et Yakhlef, 2003).

En amont de la filière, la production laitière est assurée en grande partie pour environ 80% par le cheptel bovin et à 20% par les autres espèces laitières (ovines, caprines, camelines) (Kacimi El Hassani, 2013).

Les programmes d'intensification des différentes productions animales et notamment, celle de la production laitière par l'importation de génisses à haut potentiel de production, n'ont pas permis la satisfaction des besoins nationaux. En effet, l'Algérie est considérée comme l'un des grands pays consommateurs en ce qui concerne la filière lait et dérivés, et cela est dû aux traditions alimentaires, à la politique de substitution de protéines animales par des protéines laitières, à sa substitution aux viandes relativement chères et le soutien de l'Etat, qui sont autant de paramètres qui ont dopé la demande. Une demande qui ne peut être satisfaite par la production laitière nationale qui a atteint environ 03 milliards de litres en

2011, soit un accroissement de 84% par rapport à l'année 2000 ; année coïncidant de lancement du plan National de Développement Agricole (PNDA).

La consommation de lait a connu une augmentation rapide, elle a passé successivement de 54 l/hab/an en 1970 à 112 l/hab/an en 1990, pour atteindre les 120L en 2013 (Kacimi El Hassani, 2013).

I.2.1.1.Zones de productions laitières :

En Algérie il existe trois zones de productions déterminées sur la base des conditions de milieu, principalement le climat :

- Une zone littorale et sublittorale à climat humide. Cette zone représente 60% de l'effectif bovin laitier et 63% de la production de lait, fortement liée à la production fourragère, où elle présente une superficie de 60.90%des superficies fourragères totales ;
- Une zone agropastorale et pastorale à climat semi aride et aride, représentant 26% de l'effectif bovin laitier et 26% de la production du lait cru. Cette zone renferme 31.8% des superficies fourragères totales ;
- Une zone saharienne à climat désertique, représente 14% de l'effectif de bovin laitier, et 11% de la production de lait cru, et un apport fourrager ne dépassant pas les 7,3% de l'ensemble des superficies (Temmar, 2005).

I.2.1.2.Production du lait cru en Algérie

La production nationale, estimée à 01,6 milliard de litres par an, ne couvre qu'environ 40% des besoins (Yakhlef et *al*, 2010). Le reste est importé, sous forme de poudre du lait et de matière grasse laitière anhydre (MGLA).

La production du lait cru, a été évaluée en 2000 à 01.38 milliards de litre, contre une demande de 03.3 milliard de litre en 2003 à 01.6 milliards de litre (Anonyme 1, 2004). En 2012 la production laitière a été évaluée à 03.14 milliards de litres (En 2015 la production nationale du lait cru est estimée 03.6 milliards de litres, dont 02,7 milliards de litres est essentiellement bovine et seulement 1/3 de cette production est valorisé sur le circuit industriel (Anonyme 2, 2016). La quasi-totalité de la production ovine, caprine et cameline est autoconsommée (Bekhouche, 2011).

La production du lait, a enregistré un accroissement notable mais insuffisant pour couvrir une forte demande en perpétuel progression. De même, le programme de réhabilitation de la production laitière, n'a pas pu faire progresser, de manière significative.

L'Algérie est le premier pays consommateur de lait au Maghreb (Ghozlane et al, 2010), avec un marché annuel qui a été estimé en 2007 à 01.7 milliard de DA (Dinar Algérien). Ce dernier, ayant un taux de croissance évaluée à 08% (Souki, 2009).

Afin de booster la production laitière locale, l'état algérien a mis en place deux plans de développement agricole : PNDA et PNDAR. Malgré les efforts les importations de la matière première restent prédominantes et la consommation laitière est dépendante du marché laitier mondial (Kali et al, 2011).

I.2.2.La collecte

Des centres de collecte réalisés dans le but de promouvoir la collecte de lait cru, sont représentés par un nombre, relativement important, au niveau de la zone I classée avec 57 centres de collecte ; 27 centres de collecte sont implantés dans la zone II et 16 centres de collecte sont implantés dans la Zone III (Kali et al, 2011).

Le capital zootechnique laitier par habitant reste trop faible, environ une vache pour 40 habitants et sur tout une collecte du lait cru très marginale, ou plus de 60% de la production du lait est autoconsommée en zone rurale, elle concerne la totalité de la production caprines, ovine et camelines et 2/3 de celle des vaches (Soukehal, 2013). L'effectif du cheptel total bovin est d'environ 02 millions de têtes, dont l'effectif des vaches laitières est estimé à plus d'un million de têtes (Anonyme, 2016).

I.2.3.Transformation

Il existe différents types d'unités de transformation en rapport avec les systèmes de production :

- A la ferme ;
- Artisanale au village ;
- A l'usine.

Dans les deux premiers cas, le lait est utilisé immédiatement après la traite, comme il peut être apporté par les producteurs eux-mêmes dans le cas des unités artisanales. Alors que les produits fabriqués sont destinés seulement à des marchés locaux. Pour le troisième cas, la transformation est beaucoup plus exigeante du fait qu'elle exige un système de stockage du lait refroidi et une collecte organisée. Ce type fabrique des produits adaptés au marché urbain en particulier (Fauconneau, 1989). De ce fait , et pour l'industrie laitière qui fonctionne essentiellement sur la base de matière première importée, la transformation du lait est destinée à la fabrication de lait pasteurisé qui représente la grande part des produits laitiers avec un

taux de 81.90%, lait stérilisé à ultra haute température (UHT) et dérivés de lait où on trouve le lait fermenté (5.24%), fromages (5.64%), yaourt (2.67%) et autres. Les activités de transformation sont le fait des industries laitières publiques et privés implantés sur l'ensemble du territoire, à proximité des grands centres de consommation (Hacini, 2007).

I.2.4.La commercialisation

L'état a adopté depuis quelques années une politique de vente concomitante aux industriels dont les quotas de poudre de lait sont proportionnels à la quantité de lait issu des fermes nationales d'élevage de bovins. Pour soutenir le prix public du lait ordinaire, vendu à 25 DA le sachet de un litre, l'Etat consacre une subvention de l'ordre de 15 milliards de dinars.

En Algérie, la filière lait a été concernée pratiquement par tous les plans de développement qu'a connu le pays (triennal, quadriennal et quinquennal). Tous ces plans n'ont pas abouti aux résultats escomptés. Néanmoins, ils ont permis d'asseoir un tissu d'industries de transformation laitière et un début de modernisation d'élevage (Nouad, 2007).

I.2.5.Importation

Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière Lait connaît une croissance annuelle de 8%. L'infrastructure industrielle a été conçue dans le but de répondre à une demande galopante pour le lait et les produits laitiers avec la perspective de développer la production laitière et d'en faire la principale source d'approvisionnement en matière première et de l'intégrer dans le processus de transformation. Mais avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (Mokdad, 2000 ; Hacini, 2007; Anonyme 3, 2008).

La flambée des prix de cette matière première sur le marché international a conduit les pouvoirs publics à mettre en œuvre un programme quinquennal (2009-2010) d'intensification des productions agricoles, à l'effet d'augmenter la production de lait de vache et de l'intégrer dans les circuits de la production (Bourbouze *et al*, 1989 ; Anonyme 4, 2009).

En effet, selon l'Office National Interprofessionnel du lait en 2009, la production de lait cru a permis de par son intégration dans le processus de transformation au niveau des laiteries d'abaisser la facture d'importation de poudre de lait à environ 400 millions de dollars, contre 750 millions en 2008 (Bouziani, 2009).

I.3.Principales contraintes entravant la filière laitière

Les actions menées pour le développement de la production laitière ont été multiples et des fonds publics importants ont été mobilisés dans cette perspective, mais force est de constater qu'au-delà des efforts indéniables déployés, la production et la collecte du lait cru tardent à se développer (Kali et *al*, 2011). Les contraintes tant sur le plan technique qu'économique sont très importantes et difficiles à lever sur le court terme. Ces contraintes sont, aujourd'hui, bien identifiées :

- Les retards techniques, économiques et structurels de l'élevage laitier :
 - Les rendements économiques de 3.000 l/vaches/an sont de moitié inférieurs aux rendements génétiques minimum (6.000 l/an) des vaches sélectionnées importées, soit des coûts de production plus élevés et une moindre rentabilité (Anonyme 5, 2013);
 - Le caractère extensif de l'élevage comme principal facteur d'extraversion de la filière au détriment de développement de grandes fermes de production (Amellal, 1995) ;
 - la mauvaise alimentation des cheptels laitiers, l'insuffisance et la mauvaise qualité des ressources fourragères (Guerra, 2009).
- Le fort degré de dépendance de l'industrie laitière vis-à-vis du marché extérieur du fait que le lait cru produit localement n'entre que pour une très faible part dans l'activité des laiteries (Amellal, 1995) ;
- Le faible taux d'intégration du lait cru collecté et la perturbation des circuits de distribution entre le formel et l'informel (Bencherif, 2001);
- Organisation inadaptée des réseaux de collecte suivant les bassins de production et autour des unités de transformation et la fixation du prix du lait à la consommation à un niveau bas ce qui rend très difficile la couverture des charges de sa production (Kacimi el-hassani, 2013).

II. Lait et fromage

II.1. Lait

II.1.1. Définition

D'après le congrès international de la répression des fraudes de 1909, le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Bourgeois et Larpent, 1996).

II.1.2. Caractéristiques physico-chimique du lait

Le lait est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, à odeur peu marquée et un goût douceâtre, sécrété par les glandes mammaires des mammifères, comme la vache, la chèvre, et la brebis, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant (Marcel, 2007).

Le lait est un aliment complet mais du point de vue physicochimique est un produit très complexe. La connaissance approfondie de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensable à la compréhension des transformations du lait et des produits obtenus lors des différents traitements industriels (Lapointe-Vignola, 2002).

II.1.2.1. Densité : poids spécifique ou masse volumique

Pour une même espèce, la densité n'est pas constante. Elle dépend de la richesse du lait en éléments dissouts et en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse. La densité du lait fraîchement extrait de la mamelle est instable et tend à augmenter avec le temps (Seydi, 2004).

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C (Vierling, 2008).

II.1.2.2. pH

Le pH nous renseigne précisément sur l'état de fraîcheur de lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose sera dégradé en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH (Anonyme 6, 2011).

II.1.2.3. Acidité de titration ou acidité dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°D. Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (Mathieu, 1998). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (Cpic lait, 2011).

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10ml de lait en présence de phénophtaléine (Dieng, 2001).

II.1.2.4. Point de congélation

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

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

II.1.2.5. Point d'ébullition

D'après Amiot et *al*, (2002), on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau soit 100,5°C.

II.1.3. Composition biochimique

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants ; ceux-ci sont particulièrement adaptés aux besoins nutritionnels et aux possibilités digestives du jeune animal qui y trouve tous les éléments nécessaires à sa croissance comme le montre le tableau I (Cayot et Lorient, 1998). Quatre composants sont dominants du point de vue quantitatif : l'eau, les matières grasses, les protéines et le lactose ; les composés mineurs sont représentés par les matières minérales, les enzymes, les vitamines, les gaz dissous. (Ramet, 1985).

Tableau I : composition moyenne du lait de vache (Alais et al, 2008)

Constituants	Composition (g/l)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre
Glucides : lactose	49	(3,7%) solution
Lipides	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns de diamètre)
MG proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Partie insaponifiable, stérols, carotènes, tocophérols	0,5	
Protéines	34	Suspension micellaire de phospho-caséinate de calcium Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Caséines	27	
Protéines solubles (globuline albumine)	5,5	
Substances azotées non protéiques	1,5	
Sels :	9	Solution ou état colloïdal
- L'acide citrique	2	
- L'acide phosphorique	2,6	
- L'acide chlorydrique	1,7	

Plusieurs facteurs sont à l'origine de la variation de la composition du lait cru, parmi lesquels la race, le stade de lactation, l'âge et la saison. Le tableau II résume la composition chimique du lait chez différents mammifères.

Tableau II : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales :(Amiot et al, 2002).

Animaux	Eau (%)	MG(%)	Protéines(%)	Glucides(%)	Minéraux (%)
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Jument	88,9	1,9	2,5	6,2	0,5

II.1.3.1.Eau :

L'eau c'est le constituant le plus important du lait, en proportion. Elle représente environ 80% du lait. (Goursaud et Boudier, 1995). Son caractère lui permet de former une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (Bouvier, 1993).

II.1.3.2.Lactose

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose ; en outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi le lait contient près de 4,8% de lactose (Montreuil, 1971).

II.1.3.3.Matière grasse

La MG est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0,1 à 10 X 10⁻⁶ m et est essentiellement constitué de triglycérides (98%), de phospholipides (1%) comme s'est illustré dans la figure 1 et d'une fraction insaponifiables (1%) [Cholestérol et de β carotène] (Kuzdzal, 1987).

Les Phospholipides sont classés comme lipides complexe : on distingue 3 types : les lecithines, les céphalines et les sphingomyelines (Cayot et Lorient, 1998). Leur caractéristique la plus importante est leur propriété émulsifiante qui est due à leur capacité amphipolaire caractérisée par la présence d'une partie hydrophile, qui s'associe à l'eau, et d'une partie lipophile qui s'associe aux constituants du globule de MG (Ratray, Galman, Jelen, 1997) ;

Les triglycérides sont des esters de glycérol, ils sont formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol (Walstra, 1990) ;

Fractions insaponifiables : c'est un ensemble de constituants de la matière grasse qui ne réagissent pas avec la soude ou la potasse pour donner des savons, on retrouve principalement des stérols, les caroténoïdes, les xanthophylles et les vitamines A, D, E, K (Peereboom, 1969).

La MG représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acide gras saturé et de 35% d'acide gras insaturé (Vignola, 2002).

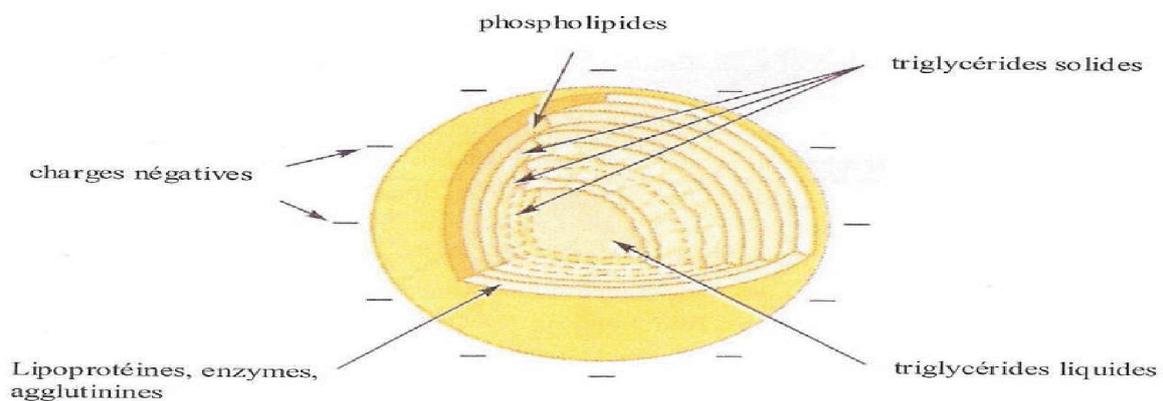


Figure 1 : Structure d'un globule de matière grasse (Vignola, 2002)

II.1.3.4. Protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait (Lankveld, 1995). L'analyse du lait par minéralisation, appelée méthode Kjeldahl, permet d'évaluer que 95% de la quantité totale d'azote est présente dans les protéines dont la concentration moyenne est de 3,2%. Les composés azotés non protéiques sont principalement des protéases, des peptones et de l'urée (Tableau III).

Différentes structures et propriétés physicochimiques distinguent les protéines du lait (Cayot et Lorient, 1998).

On les classe en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité, d'une part les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4,6, d'autre part les protéines solubles qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'effet de la chaleur (Whitney et *al*, 1976).

Tableau III : composition moyenne et distribution des protéines du lait (FAO, 1998)

	Moyennes absolues g/l	Moyennes relatives %
Matières azotées totales	34	100
Protéines	32	94
Caséines	26	82
Protéines solubles	6	18
β- lactoglobuline	2,7	45
α-lactalbumine	1,5	25
Sérum-albumine	0,3	5
Globulines immunes	0,7	12
Protéoses peptones	0,8	13
Substances azotées non protéiques	2	6

✓ Caséines :

Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait.

Elles se regroupent sous forme sphérique appelée micelle illustrée dans la figure 2. Les micelles de caséines sont constituées de 92% de protéines et de 8% de minéraux (Mc Mahon et Brown, 1984). Leurs principales caractéristiques physicochimiques sont résumées dans le tableau IV.

Elles comprennent quatre entités majeures dénommées : caséines $\alpha 1$, $\alpha 2$, β et κ . Ces protéines ont une finalité alimentaire car elles constituent la base de la transformation du lait en fromage (Cheftel et *al*, 1985).

Tableau IV : principales caractéristiques physicochimiques des caséines d'après Eck (1990).

	$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	κ
Résidus d'acides aminés	199	207	209	169
Poids moléculaire en Daltons	23600	25200	24000	19000
Résidus Cystéine	-	2	-	2
Glucides	-	-	-	+
Hydrophobicité (Kj/résidu)	4,9	4,65	5,6	5,1
Charge à pH 6,6	-20,9	-14,8	-12,3	-3,0
Sensibilité à la chymosine	+	-	+	+++
Sensibilité au Calcium	++	+++	+	-

✓ Protéines solubles :

Les protéines solubles représentent environ 20% des protéines totales. Les deux principales sont la β -lactoglobuline et l' α lactalbumine ; les autres protéines solubles sont les immunoglobulines (Eigel et *al*, 1984).

- La β lactoglobuline : est la plus importante des protéines solubles puisqu'elle en représente environ 55%. Sa structure tertiaire lui permet de fixer la vitamine A et certains acides gras (Pien, 1975) ;
- L' α Lactalbumine : est une métalloprotéine qui représente environ 22% des protéines solubles (Pien, 1975) ;
- Les immunoglobulines : constituent environ 13% des protéines du sérum. Ce sont des glycoprotéines jouant le rôle d'anticorps (Pien, 1975) ;
- La lactoférine ; représente environ 4% des protéines solubles. Comme son nom l'indique, cette protéine est porteuse de fer, sous forme d'ions ferrique (Fe^{3+}) (Pien, 1975).

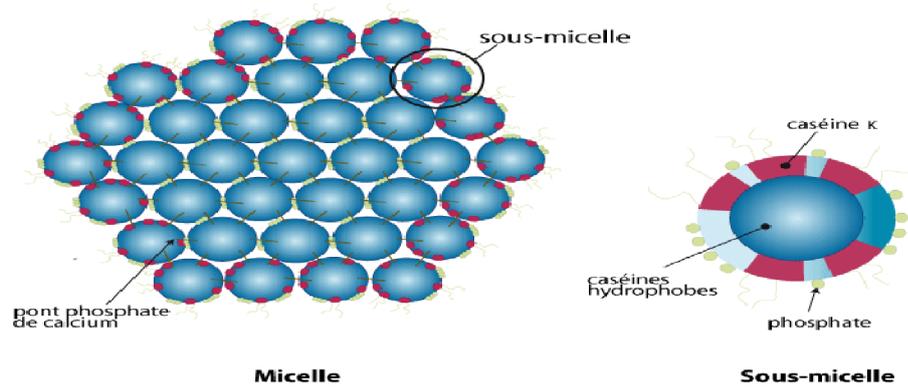


Figure 2 : micelle de caséine et sous micelle de caséine selon (Schmidt, 1980)

II.1.3.5. Les minéraux

Les minéraux contenus dans le lait, prennent plusieurs formes; ce sont le plus souvent des sels, des bases et des acides. A cette liste s'ajoutent certains éléments, comme le soufre présent dans les protéines et les oligo-éléments suivants, qui sont présents à de faibles concentrations à l'état de trace : manganèse, bore, fluor ; silicium, brome, molybdène, cobalt, titane, lithium et probablement d'autres (Brulé, 1987).

Les minéraux ont un rôle structural et fonctionnel : ils sont souvent impliqués dans le mécanisme physiologiques (régulation nerveuse ou enzymatique, contraction musculaire...) (Guegen, 1979 et Brulé, 1987).

Le lait est les produits laitier sont des principales sources alimentaire de calcium et phosphore, pour lequel ils couvrent plus de la moitié de nos besoins journaliers. Ce sont les éléments plastiques intéressants dans l'ossification, et leur apport est crucial pour les sujets jeunes et âgés.

II.1.3.6. Les vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires.

On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité, soit :

- Les vitamines hydrosolubles : vitamines du groupe B, vit C, vit H, acide folique, niacine et niacinamide, acide pantothénique qui se retrouvent en plus grandes concentration dans le sérum ;
- Les vitamines liposolubles : vitamines A D E K qui sont associées à la matière grasse (Adrian, 1987).

II.1.3.7. Les enzymes natifs du lait

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydase) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (Kitchen et *al*, 1970).

- Les lipases :

Sont des estérases qui catalysent l'hydrolyse des triglycérides à l'échelle des liaisons entre les acides gras et le glycérol. Cette réaction, nommée lipolyse, forme des acides gras libres et différents glycérides, mono ou di glycérides.

Les lipases présentes dans le lait sont d'origine naturelle et d'origine antimicrobienne. Les premières sont détruites par la pasteurisation, tandis que les lipases microbiennes sont plus résistantes (Got, 1971).

- Les phosphatases :

Elles catalysent l'hydrolyse des esters phosphoriques. La phosphatase alcaline est une glycoprotéine présente dans le lait. Elle est active à un pH alcalin, entre 9 et 10, et nécessite la présence d'ions magnésium et zinc. Sa dénaturation peut se faire par un chauffage (Got, 1971).

- Les protéases :

C'est des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liens peptidiques des protéines et qui produisent des protéases, des peptones, des peptides ou même des acides aminés selon le degré de l'hydrolyse.

Les deux principales protéases du lait sont :

- Le lysozyme : elle possède des propriétés antibactériennes puisqu'elle hydrolyse les protéines des parois cellulaires des bactéries ;
- La plasmine : qui joue un rôle important dans le lait, car elle hydrolyse les caséines β , α_1 et α_2 , ce qui libère des peptides de différentes longueurs, ce sont eux qui amènent les goûts particuliers de certains fromages. Cette enzyme est thermorésistante (Got, 1971).

- Les déshydrogénases ou oxydases :

Ce sont des enzymes qui catalysent les réactions d'oxydation. Les deux principales oxydases présentes dans le lait sont :

- La sulfhydryle oxydase qui est une métalloglycoprotéine qui permet la formation des ponts dissulfure présents dans la structure tertiaire de certaines protéines du lait, cette réaction d'oxydation forme du H_2O_2 qui sera éliminé par la catalase ;
- La xanthine oxydase quant à elle son rôle est moins bien défini dans le lait, on sait toutefois qu'elle participe à la formation de l'acide urique lors de la décomposition des bases puriques telles que l'adénosine et la guanine (Got, 1971).

- La lactoperoxydase :

C'est une glycoprotéine qui catalyse l'oxydation, par le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 de certains composés réducteurs tels que les phénols. Sa présence est appréciable dans le lait et son pH d'activité maximale est près de la neutralité, soit 6,8. Sa dénaturation est totale par une pasteurisation à $72^\circ C$ pendant 15 secondes. En raison de cette caractéristique, on évalue de plus en plus l'activité de cette enzyme pour vérifier l'efficacité de la pasteurisation (Got, 1971).

II.1.4.Microbiologie du lait

L'étude de la microbiologie permet de caractériser et de mieux contrôler les quatre principaux groupes de microorganismes présents dans l'environnement alimentaire et laitier (Virus, bactéries, levures et moisissures) (Leclerc, 1969).

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminant, cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène (Plommet, 1987).

II.1.4.1. Flore indigène ou originelle :

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs.

Le lait qui sort du pis de la vache est pratiquement stérile. Les genres dominants de cette flore sont principalement des microorganismes mésophiles (Plommet, 1987).

II.1.4.2. Flore contaminante :

La flore contaminante c'est l'ensemble de microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits laitiers. On considère comme flore contaminante d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache. Il semble que la contamination à l'étable soit la plus importante (Andelot, 1983).

II.1.4.2.1. flore d'altération

Incluse dans la flore contaminante, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture. Parfois certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre.

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bassilus sp* et *Clostridium sp* et certaines levures et moisissures (Andelot, 1983).

II.1.4.2.2. Flore pathogène :

Comme la flore d'altération, cette dernière fait partie de la flore contaminante du lait et leur peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (Andelot, 1983).

Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella sp*, *Bacterium tuberculosis*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria*

monocytogènes, Escherchia coli, Campylobacter jejuni, Shigella sonnei, Brucella abortis, Mycobacterium tuberculosis avec certaines moisissures qui sont pour la plupart toxigènes, c'est-à-dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire (Lambien, German, 1961).

Même si les levures ne sont pas pathogènes, la dégradation d'aliment causé par microorganisme peut être un indice de mauvaises pratiques de fabrication mal contrôlées (Abdelmalek et Gibson, 1952).

II.1.5.Principales activités microbiennes dans le lait

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Il y a six principales catégories d'activités métaboliques pouvant survenir dans le lait : l'acidification, la production de gaz tels que le dioxyde de carbone, l'alcoolisation, le limonage, la protéolyse et la lipolyse (Guiraud et Galzy, 1980).

II.1.5.1.Acidification et production d'alcool et de gaz

Lors de leur croissance, les microorganismes et principalement les bactéries lactiques, hydrolysent le lactose pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose par la galactosidase. Généralement le glucose sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂ dans certains cas ou de l'alcool. Cette production de composés acides va amener un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et goûts surs. L'acidification du lait est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologiques et le respect de la chaîne de froid du lait cru. C'est pour cette raison que l'industrie laitière évaluera le pH ou l'acidité titrable du lait à la réception comme indice de qualité microbiologique de cette matière première (Hylan et al, 1984).

Certaines bactéries lactiques ne produisent que de l'acide lactique lors de la fermentation du lactose, elles sont homofermentaires. Toutefois, d'autres bactéries lactiques produisent du CO₂ et d'autres sous-produits en addition à l'acide lactique. On qualifie ces bactéries d'hétéro fermentaires. Outre les bactéries hétérofermentaires, il y a aussi des bactéries non lactiques acidifiantes produisant aussi du CO₂ comme sous produit de leur fermentation. Ces bactéries sont d'origine fécale ou tellurique, leur présence indique en générale que la production, la collecte ou la transformation du lait a pu se faire dans de mauvaises conditions hygiéniques. Enfin les levures ont aussi une activité fermentaire permettant de transformer le lactose en

alcool et en CO₂. Plusieurs de ces microorganismes sont thermotolériques (Charon, 1986). La principale conséquence est l'apparition d'une odeur de levure ou alcoolisée, souvent associée à la bière ou au pain (Alais, 1984).

II.1.5.2. Production de polysaccharides ou de polypeptides

Certains microorganismes utilisent les sucres ou les protéines du lait pour construire des molécules plus grosses et plus longues appelées respectivement polysaccharides ou polypeptides. On dira que ces germes sont filants, limoneux, texturants ou épaississants. La production de ces longues molécules donne une texture grasseuse au lait en raison de leur grosseurs et longueurs, la plupart de ces microorganismes sont mésophiles, la présence de ce problème dans les produits laitiers est souvent un indice d'un non respect de la chaîne de froid et des conditions hygiéniques (Kuzdzad et Mocqout, 1960).

II.1.5.3. Protéolyse

Au cours de leurs activités métaboliques, certains germes, grâce à l'action de leurs protéases, utilisent les protéines du lait. Ce phénomène produit à la libération de sous produits très variés, dont les peptides à longues chaînes, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés. Si cette activité n'est pas contrôlée elle pourra être à l'origine de l'apparition des goûts indésirables de fruits, de malt ou de vanille dans certains produits laitiers (Alais, 1965).

II.1.5.4. Lipolyse

Certains microorganismes grâce à leurs lipases, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeurs rances dans le produit laitier (Fox et *al*, 1987).

II.2.Fromage

II.2.1.Définition

Le fromage, selon La norme Codex, est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé est dans lequel le rapport protéines de lactosérum: caséines ne dépasse pas celui du lait. On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation. On peut aussi faire appel à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière a obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques. Chimiques et sensorielles similaires à celles de la définition précédente. Le fromage affine est un fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais qu'on doit maintenir pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage (Carole, 2002).

II.2.2.Classification des fromages

Le fromage affiné aux moisissures est un fromage dont l'affinage est provoqué essentiellement par la prolifération de moisissures caractéristiques, dans la masse ou sur la surface du fromage. Le fromage non affiné, dont le fromage frais, est un fromage qui est prêt à La consommation peu de temps après sa fabrication, Le fromage affiné est un fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais qu'on doit maintenir pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage (Carole, 2002).

La classification d'un fromage, tel que défini par les normes du codex alimentaire CODEX STAN A-6-1978 est obtenue après application des trois formules suivantes : Cette classification est donnée dans le tableau V :

Cette classification peut être accompagnée par des formules descriptives appropriées:

- Selon la fermeté (Formule I) qui appartient à l'intervalle de 69 à 51 % d'où la pâte molle évolue jusqu'à la pâte extra dure, cette classification est portée selon la teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD).

- La deuxième classification (Formule II) est classée selon la teneur de la matière grasse par rapport à l'extrait sec total.
- La troisième classification (Formule III) les fromages sont classés en trois catégories différentes selon l'affinité du fromage, ces classifications sont mentionnées dans le tableau IV

Tableau V : Classification des fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage (CODEX STAN A-6-1978).

Formule I		Formule II		Formule III
TEFD %	Le présent élément de la dénomination sera	MGES %	Le second élément de la dénomination sera	Dénomination d'après les principales caractéristiques d'affinage
<51	Pâte extra dure	>60	Extra gras	1- Affinage *principalement en surface *principalement dans la masse
49-56	Pâte dure	45-60	Tout gras	
54-63	Pâte dure	25-45	Migras	
61-69	Pâte demi dure	10-25	Quart gras	
>67	Pâte demi molle	<10	Maigre	2- Affiné aux moisissures a- Principalement en surface b- Principalement dans la masse 3- Frais

TEFD : pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé c'est-à-dire :

$TEFD = \text{poids de l'eau du fromage} \times 100 / (\text{poids total du fromage} - \text{matière grasse du fromage})$. MGES : pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec c'est-à-dire :

$MGES = \text{la teneur en matière grasse du fromage} \times 100 / (\text{poids total du fromage} - \text{eau dans le fromage})$.

Le fromage est donc classé selon trois critères successifs: sa teneur en eau dans la fraction dégraissée, sa teneur en matières grasses dans l'extrait sec et son type d'affinage.

Ainsi on distingue:

- Le fromage à pâte fraîche ou fromages blancs : Ils sont obtenus par caillage acide. Ces derniers, sont très humides (60 à 80% d'eau) et consommés en l'état ou additionnés à du sel, sucre, d'arômes, d'herbe, Etc. Exemple : « Petit suisse ».
- Le fromage à pâtes pressées : à croûte moisie, croûte lavée. Le fromage à pâtes fermes non cuites : à croûte lavée.
- Le fromage à pâtes fermes cuites : à croûte avec ouverture, à croûte sans ouverture « Beaufort ».
- Le fromage à pâtes molles : à croûte fleurie comme le « Camembert », à croûte lavée définies, à croûte non définies et à croûte séchée (Padilla M. et Ghersi G, 2001)

II.2.3.Fromage à pate molle

II.2.3.1.Définition

Ce groupe de fromages peut bien regrouper des produits traditionnels qu'industriels. Ce type de fromage est caractérisé par une coagulation mixte équilibrée avec une concentration d'enzyme coagulante moyenne (18 à 22 ml /100 l lait), un taux de bactéries lactiques de $5 \cdot 10^6$ UFC/ml, une température adéquate à la croissance des bactéries lactiques et à l'enzyme coagulante (32-35°C) et une activité acidifiante (pH de l'emprésurage 6,30-6,40). Ce schéma conduit à un coagulum mixte avec un égouttage moyen par une acidification importante et une longue élimination du lactosérum (Eck et Gillis, 2006). Il existe des fromages à caractère mixte mais à dominance soit lactique ou enzymatique, fonction de la concentration des coagulants et de la température du lait (32 - 35°C) et de la durée de la coagulation. En Algérie, les fromages sont à dominance lactique et ils subissent un égouttage lent, permettant la poursuite de l'acidification et de la déminéralisation, tranchage avant moulage est facultatif, avec un égouttage lent conduisant à une plus forte destruction du gel et à une moindre cohésion de la pâte du fromage Vers la fin.

Tous les fromages à pâte molle subissent un affinage grâce à une microflore adaptée, ferments lactiques, *Geotrichum candidum* et *Penicillium candidum*. La flaveur de la croûte fleurie s'obtient par catabolisme de la méthionine par *Brevibacterium linens* ou *Geotrichum candidum* tandis que la croûte lavée, une flore de surface la caractérise telles que les bactéries corynéformes et les microcoques responsable de la dégradation des acides aminés en acides gras volatils (Mahaut et al, 2000 ; Eck et Gillis, 2006).

II.2.3.2. Camembert

Selon le codex Le Camembert est un fromage à pâte molle, affiné en surface, principalement par des moisissures, conformément à la Norme générale pour le fromage (CODEX STAN 283-1978), qui se présente sous la forme d'un cylindre plat ou de morceaux du cylindre. La pâte a une couleur allant du blanc cassé au jaune pâle et une texture molle mais non friable, affinée de la surface au centre du fromage. Les trous de gaz sont généralement absents, mais la présence de quelques ouvertures et fissures est acceptable. Une croûte molle, entièrement recouverte de moisissures blanches mais présentant parfois des taches de couleur rouge, brunâtre ou orange, se développe. Le fromage entier peut être coupé ou formé en morceaux avant ou après le développement des moisissures.

Pour le Camembert prêt à la consommation, la procédure d'affinage destinée à développer les caractéristiques de goût et de texture dure normalement 10 jours minimum à une température comprise entre 10 à 16 °C, en fonction du degré de maturité requis. D'autres conditions d'affinage (y compris l'ajout d'enzymes d'amélioration de l'affinage) peuvent être utilisées.

Le Carré de Camembert est un fromage à pâte molle affiné en surface de forme carrée, qui satisfait à tous les autres critères et exigences spécifiques au Camembert.

II.2.3.2.1. Composition et valeur nutritionnelle

Selon son mode d'élaboration, le Camembert renferme 30 à 50 % de matière azotée / matière sèche. Il s'inscrit ainsi parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée La composition comparative du lait et du fromage est résumée dans le tableau V De plus, la haute valeur biologique de ces protéines lui est conférée tant par leur composition équilibrée en acides aminés, que par leur propriété de former une pâte fromagère très appréciée par les consommateurs dans de nombreuses régions du monde (Mietton, 1995).

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

Concernant le lactose, il est à noter que les fromages affinés sont pratiquement dépourvus de glucides car la faible quantité de lactose, restant dans le caillé après égouttage, est transformée en acide lactique au cours de l'affinage. Pour les autres nutriments, le *Camembert* constitue un apport important en calcium. (200 à 700 mg/ 100g), en phosphore, en sodium et en vitamines (notamment du groupe B), (Eck, 1990).

Tableau VI : Composition moyenne comparée du lait et des fromages Selon Alais et Linden (1993).

	Lait	Fromages
Eau	Environ 87%	Éliminée en partie par la fabrication. Teneur en eau varie de : 35% (Pâte cuite dure) ; 50%(pâte molle) ; 80% (fromage frais).
Glucides	Lactose 5% Les ferments lactiques le transforment en acide lactique, il peut également être transformé en alcool.	Pratiquement éliminé avec l'eau par la fabrication.
Lipides	Environ 4% Sous forme de globule gras en émulsion dans le liquide.	Se retrouvent dans la majorité des fromages sauf dans les fromages maigres ; 23% fromages à pâte molle et 30% dans les fromages à pâte dure.
Protéines	Environ 3,5% Les plus importantes en quantités sont les caséines 3% et les protéines sériques sont aussi d'un apport non négligeable.	La caséine coagulant avec la présure est l'élément essentiel de tous les fromages même maigre : 18% fromage à pâte molle ; 19% fromage blanc au lait écrémé ; 24% fromage à pâte ferme.
Minéraux	Très importante valeur minérale car très riche en calcium et en phosphore. Contient aussi potassium et chlorure de sodium mais pas de fer.	Grande richesse en calcium et en phosphore mais plus au moins riche en chlorures de sodium selon leur fabrication.
Vitamines	B1 en petite quantité ; B2 assez importante ; C en quantité variable dans le lait frais, mais pratiquement détruite durant les manipulations ; A en quantité importante mais absente dans le lait écrémé ; D en quantité variable selon la saison.	Les fromages à pâte molle sont de bonnes sources de vitamine B du fait des synthèses réalisées par les moisissures. La vitamine A se retrouve dans les fromages selon leurs teneurs en MG.

II.2.3.2.2. Etapes de la fabrication du camembert

L'élaboration de ce type de fromage à caractéristiques organoleptiques particulières passe par la réussite de nombreuses étapes technologiques. Ces étapes de fabrication du camembert sont résumées dans la figure 3

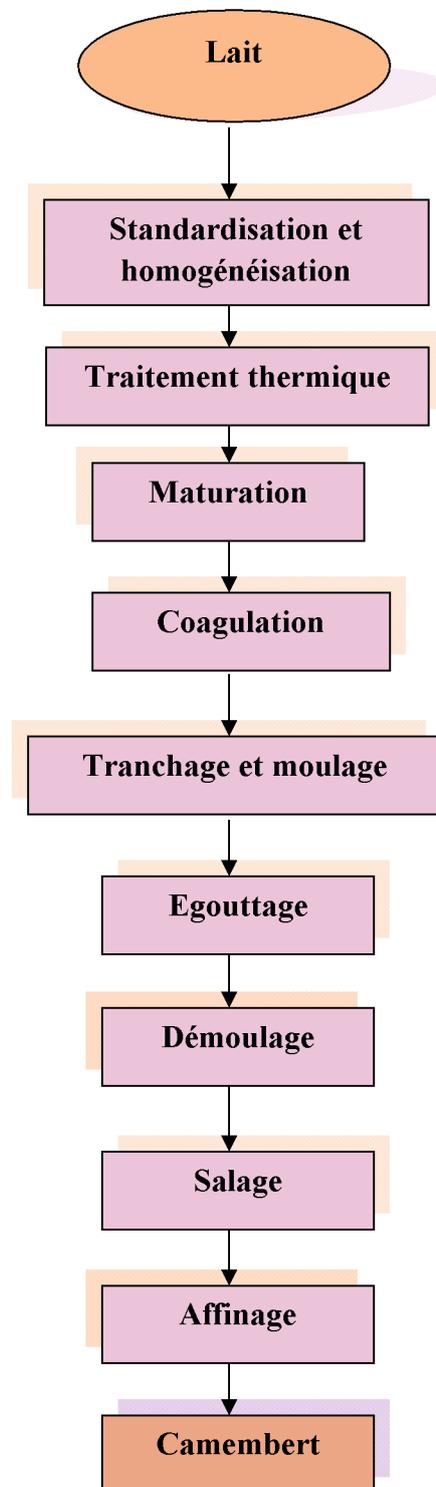


Figure 3 : Diagramme de fabrication de fromage à pâte molle type camembert

- **Nature de la matière première :**

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

Remeuf *et al* (1991) soulignent en outre que l'aptitude à la transformation du lait en fromage est dépendante d'un certain nombre de paramètres:

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

- **Traitements préliminaires du lait :**

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

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

- **Standardisation :**

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

- **Homogénéisation :**

C'est une action mécanique réalisée à une température supérieure à 60 °C dans un homogénéisateur. Elle a pour but de stabiliser l'émulsion de la matière grasse du lait par la

réduction du diamètre des globules gras à environ 1 micron et ce grâce à une pression exercée sur le lait de 100 à 200 bars (Bourdier et Luquet, 1991).

- **Traitements thermiques:**

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

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

- Pasteurisation haute (HTST) 72°C pendant 20 secondes (Luquet et Bourdier, 1991).

- **Phase d'ensemencement – maturation :**

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

Un petit volume du lait estensemencé avec des ferments lactiques mésophiles à une dose de 1,5 à 2% (Lenoir *et al*, 1983). La maturation permet la multiplication et le développement des souches de bactéries lactiques inoculées (Bertrand, 1988). Une fois ses souches revivifiées, le levain (tel que préparé) servira à ensemenecer les grandes cuves de coagulation.

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

- **Coagulation :**

La coagulation se traduit par la formation d'un gel (ou coagulum) qui résulte dans le cas du *Camembert*, des modifications physico-chimiques qui interviennent autour des micelles de caséines et qui concourent à leur déstabilisation extrême. Pour les fromages à pâtes molles, la coagulation est généralement mixte, provoquée par l'action conjuguée de la présure (coagulation enzymatique) et les bactéries lactiques (coagulation acide). Les caractéristiques de ces deux modes de coagulation sont mentionnées dans le tableau VII.

Dans le cas de la coagulation acide (provoquée par l'acide lactique d'origine bactérienne), l'abaissement du pH induit la solubilisation du calcium et du phosphate inorganique. Par équilibre, le pont salin dégarni peu à peu les micelles. Ces dernières, vont se lier entre-elles et former un gel cassant, très friable et peu élastique (Mietton, 1995).

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

Il a été établi qu'au cours de la coagulation enzymatique, la présure en hydrolysant la caséine k au niveau de la liaison (Phe105- Met106), induit une déstabilisation des micelles de caséines qui vont peu à peu flocculer pour former un gel ferme, compact et ayant une bonne cohésion (Veisseyre, 1979).

Tableau VII : caractéristiques des deux modes habituels de coagulation du lait selon (Desmazeaud , 1982)

	Coagulation par	
	Action des enzymes	Acidification
Processus biochimique	Action enzymatique (lactose non dégradé)	Fermentation lactique
Fermentation de la caséine	Transformation en para caséine, séparation d'une partie non protéique	Pas de modification chimique de la protéine elle même
pH composition du coagulum	6,8 phospho-paracaséinate de calcium	Vers 4,6 caséines déminéralisées
Nature du coagulum	Gel élastique imperméable à l'eau	Gel friable sans cohésion et perméable à l'eau
Synérèse (réaction naturelle du gel et expulsion du sérum)	Rapide	Lente

- **Egouttage :**

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

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

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

- **Salage**

Le salage constitue une phase importante de la fabrication de beaucoup de fromage à l'exception de la plupart des fromages frais qui ne sont pas salés; il consiste à enrichir la pâte en chlorure de sodium, au taux moyen de 2% (Ramet, 1985); elle peut s'élever à 3-4% (Alais et Linden, 1997). On reconnaît habituellement au chlorure de sodium incorporé dans le fromage un triple rôle:

- il complète l'égouttage des fromages en favorisant le drainage de la phase aqueuse libre de la pâte.
- Il modifie également l'hydratation des protéines et par là intervient dans la formation de la croûte.
- Il agit soit directement, soit par activité d'eau (a_w) interposée sur le développement des microorganismes, et l'activité des enzymes et de se fait agit sur la phase d'affinage dans son ensemble.
- Il apporte son goût caractéristique et la propriété d'exalter ou de masquer la sapidité de certaines substances apparaissant au cours de maturation du fromage (Eck et *al*, 1975).

Il existe en pratique quatre méthodes de salages (Mansour et Alais, 1971) :

- Le salage à sec.
- Le salage en saumure du fromage moulu.

- **Affinage**

Après le caillage, tous les fromages autres que les fromages frais passent par toute une série de processus de nature microbiologique, biochimique et physique. L'affinage confère au caillé des caractères physico-chimiques (acidité, pH,...) et organoleptiques (consistance, couleur, aspect et arôme...) (Gripon *et al*, 1993). Plusieurs types de dégradation s'effectuent simultanément ou successivement dans la pâte fromagère touchant la fermentation du lactose, la lipolyse et la protéolyse (Mc sweeney et Sousa, 2000). Les transformations précitées se font par l'intermédiaire d'agents de maturation et principalement par les microorganismes et les enzymes (Ramet, 1985).

C'est un processus biochimique complexe et long qui correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants du caillé par les différents agents. Le fromage devient donc le siège de différentes dégradations qui s'effectuent simultanément ou successivement aboutissant à la libération de substances sapides et odorantes en même temps que la modification de la texture (Choisy *et al*, 1997 a). Le fromage est ainsi comparé à un bioréacteur complexe dont le fromager devra maîtriser l'évolution pour la porter vers les caractéristiques optimales recherchées (Ramet, 1997).

La pâte est ainsi modifiée dans son aspect, sa texture et sa consistance, ce qui lui permet de passer sous la forme d'un produit élaboré dénommé fromage.

Selon Desmazeaud et Cogan (1996), L'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir :

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

II.3.La dénomination « fromage fermier » - « fromage au lait cru »

II.3.1.Définitions

Un fromage ne peut être vendu sous l'étiquette "fromage fermier" ou toute autre indication laissant entendre une origine fermière, que s'il répond à quatre conditions obligatoires :

- être fabriqué par un producteur agricole ;
- selon des techniques traditionnelles ;
- avec le lait produit sur son exploitation ;
- le lait doit être transformé en fromage sur le lieu même de l'exploitation.

Par conséquent, tout achat de lait, de caillé ou de fromage en dehors de l'exploitation est formellement interdit.

Qui dit fromage fermier, sous entend le plus souvent fromage au lait cru, c'est-à-dire un fromage fabriqué avec du lait qui n'a pas été chauffé au delà de 40°C. Si le lait a subi un traitement thermique au delà de 40°C (pasteurisation, thermisation) le fromage n'a plus droit à la mention "au lait cru". Il faut noter que cette limite de température s'applique au lait avant emprésurage et non au caillé travaillé en cuve. (FRANCE. Décret N° 88-1206 du 30 décembre 1988).

II.3.2.Modes de production des fromages fermiers

Selon David et Forte (1998) La fabrication d'un fromage, et en particulier celle d'un fermier comporte les principales opérations suivantes : filtration du lait, emprésurage (parfois précédé d'une acidification), caillage, moulage, égouttage (entrecoupé éventuellement de retournements), démoulage, salage, séchage, affinage.

Bien entendu, tel qu'il est décrit, ce mode de production n'exclut pas d'autres opérations liées au processus de fabrication de certains fromages régionaux ou à des technologies particulières liées à des types particuliers de fromages.

Le principe posé demeure que les techniques de fabrication mises en œuvre par les producteurs fermiers doivent se rattacher à des usages, à des traditions, à des pratiques ou des savoir-faire, ceci sans intervention de techniques industrielles productivistes, s'éloignant des "principes fermiers" associés à une qualité artisanale.

Dans la mesure où il est impossible de recenser toutes les techniques fromagères traditionnelles, une liste de techniques considérées comme "industrielles" a été établie et, par conséquent, non admises pour la fabrication du fromage fermier :

- l'ultrafiltration du lait,

- l'emploi de lait concentré ou en poudre ou de protéines laitières ou sériques,
- le délactosage sauf pour les pâtes pressées,
- l'utilisation d'enzymes coagulantes d'origine fongique ou microbienne (seule la présure animale peut être utilisée ainsi que les coagulants végétaux),
- l'addition de sorbate (conservateur) dans les fromages frais,
- la coagulation en continu avec injection de présure,
- le moulage des caillés en boudineuse mécanique,
- l'affinage sous film ou atmosphère contrôlée afin d'accélérer les opérations d'affinage.

Cette liste n'est pas limitative et concerne toutes les techniques considérées comme "industrielles" (FRANCE. Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1994).

Pour autant, l'adaptation de techniques améliorant la maîtrise de la qualité et rendant l'organisation du travail plus rationnelle (cuves mécanisées pour les pâtes pressées cuites et non cuites, emploi de multimoules...) n'est pas exclue.

Il s'agit de techniques généralement acceptées pour certaines d'entre elles pour les fromages d'appellation d'origine, dont l'extension aux fromages fermiers est admise :

- l'addition de chlorure de calcium dans le lait,
- la pasteurisation du lait (arrêté du 13 janvier 1970),
- le recours aux levains lactiques du commerce pour l'acidification du lait,
- l'utilisation du multimoule,
- l'ensemencement du lait ou des fromages par suspension de spores pour l'affinage,
- les sels de fonte autorisés pour les fromages fondus,
- il est également admis l'utilisation de chlorhydrate de lyzosome (lutte contre les gonflements d'origine butyrique) dans les pâtes pressées ainsi que le traitement des croûtes non consommées de fromages entiers à pâte pressée avec la pimarinine.

II.4. Biochimie de l'affinage

La biochimie de l'affinage peut être subdivisée en processus primaires et processus secondaires de dégradation. Le processus primaire comporte : la fermentation du lactose résiduel, de l'acide lactique et de l'acide citrique, ainsi que la dégradation des protéines et des lipides. Suite à ces événements primaires, d'autres événements biochimiques secondaires prennent place et sont très importants pour le développement des composés aromatiques. Le processus secondaire concerne donc la dégradation des acides aminés et des acides gras (Mc sweeney, 2004).

II.4.1. Fermentation du lactose

Le lactose peut être métabolisé par de nombreux micro-organismes présents dans le lait et les pâtes fromagères. Ce diholoside est clivé par la β galactosidase en glucose et galactose. Ces deux sucres sont ensuite dégradés selon la voie principale des hexoses phosphates (voie d'Embden-Meyerhof) et secondairement selon la voie des pentoses phosphates. Selon (Eck, 1990), le lactose est métabolisé très tôt dans la pâte du *Camembert*.

Les moisissures dégradent rapidement les lactates et leur évolution est particulièrement importante entre le quatrième et le septième jour. Il est à noter que la dégradation des lactates provoque la neutralisation de la pâte et joue un rôle important dans la métabiose du fromage. Il a été montré par Thompson *et al* (1978), que dans un milieu carencé en sucre comme les pâtes fromagères, le métabolisme énergétique des bactéries lactiques peut être perturbé et donner naissance à des quantités importantes de divers composés carbonés tels que l'acide formique, l'acide acétique et l'éthanol. Ces derniers participent néanmoins à la formation de l'arôme et de la saveur.

Mietton (1995), signale aussi que quand la teneur en lactose est trop élevée au démoulage et/ou dans le cas où elle n'est pas rapidement réduite, les bactéries lactiques, même après salage continuent leur métabolisme en provoquant une post-acidification génératrice des défauts de "coeur blanc", de "coulage sous croûte" et d'amertume.

II.4.2. Lipolyse

La lipolyse est un phénomène limité qui participe positivement à l'élaboration des qualités gustatives des fromages. Les enzymes lipolytiques dans les fromages proviennent du lait, de la présure et des microorganismes. Le lait contient une lipase lipoprotéique (LPL) qui reste assez active dans les fromages au lait cru. D'autre part plusieurs microorganismes peuvent intervenir dans la lipolyse des fromages comme principalement les moisissures et les microcoques (Alais et Linden, 1997).

Les bactéries lactiques sont dotées d'endolipases qui activent dans les fromages après lyses des cellules (Mc sweneey, 2004). Les changements dans la saveur et l'arôme des fromages sont attribués à la lipolyse selon la teneur en acides gras libéré. Il est à noter qu'un taux de lipolyse élevé induit l'apparition de goût de rance et de savon dans le fromage (Chilliard et Lamberet, 1987).

Suite à l'ensemble des réactions de dégradation des constituants du caillé, différentes modifications apparaissent dans le fromage affectant directement ses propriétés organoleptiques dont principalement l'arôme et la texture.

II.4.3. Protéolyse

La protéolyse apparaît comme l'un des phénomènes majeurs pendant l'affinage des fromages et c'est le plus complexe (Mc sweeney, 2004). Elle contribue à la texture des pâtes, au goût, à l'ouverture et au croûtage par dégradation biochimique des protéines (Courroye, 1987). Cette dégradation est réalisée par les systèmes enzymatiques des microorganismes, des enzymes coagulantes et des enzymes du lait.

L'activité des enzymes naturelles du lait telles que la plasmine et la cathepsine D est très limitée dans les fromages. La plasmine a un pH optimum d'action de 7,5 et agit sur la caséine β . L'action de la cathepsine D sur les caséines est très similaire à celle de la chymosine et son pH optimum est d'environ 4,00 (Fox et *al*, 1994).

Par ailleurs, l'activité protéolytique des microorganismes est variable. Les enzymes mis en jeu sont des endopeptidases et des exopeptidases. En effet, la dégradation des protéines extracellulaires grâce aux protéases membranaires des lactobacilles et lactocoques assure leur besoins en acides aminés (Atlan *et al*, 2000).

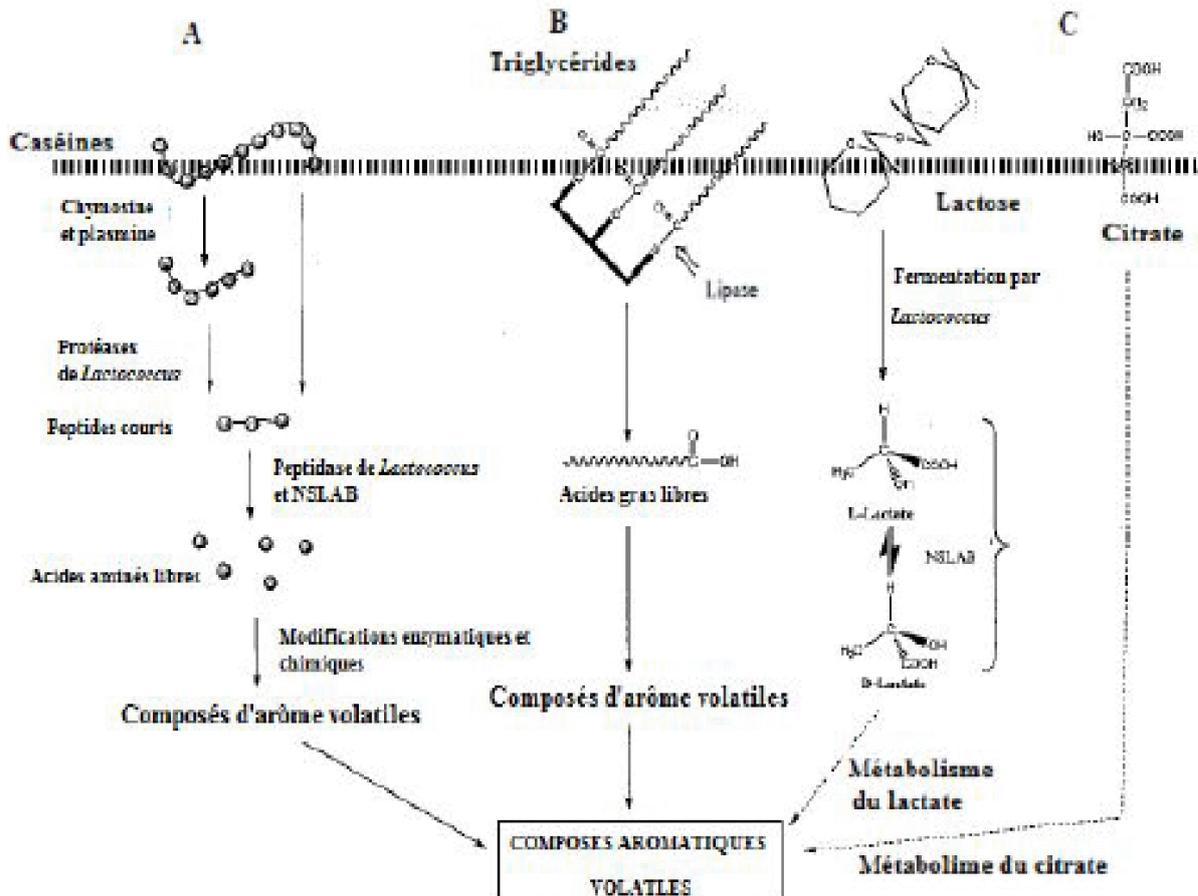


Figure 4 : Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage Protéolyse(A), lipolyse (B) métabolisme de lactose, de lactate et de citrate (C) (traduit de Mc sweeney et Sousa, 2000).

II.5. Les peptides bioactifs

L'hydrolyse enzymatique des protéines du lait peut libérer des fragments capable d'exercer des activités biologiques spécifiques, telle que l'anti hypertension, anti microbien, opioïde, antioxydant, immunomodulant. De tels fragments de protéines, connus sous le nom de peptides bioactifs, sont formés d'une protéine précurseur inactive pendant la digestion gastro-intestinale et/ou pendant la transformation des produits alimentaires (Kunene et *al*, 2000). En raison de leur polyvalence physiologique et physico chimique, les peptides du lait sont considérés comme composant fortement préminent pour la santé favorisant des applications pharmaceutiques et alimentaires (Mahi, 2010). Il est aujourd'hui incontesté qu'en plus d'une valeur nutritive, les protéines ont des propriétés fonctionnelles et biologiques qui peuvent être influencées par des procédés technologiques.

Diverses protéines alimentaires peuvent être utilisées comme sources de peptides bioactifs (Leonil et *al*, 2002). Etant inactifs à l'intérieur de la chaîne d'acides aminés, ces

peptides doivent auparavant en être extraits pour pouvoir développer leur action physiologique. Au cours de la fermentation les protéines sont dégradées par les protéases et la présure naturellement présente dans le lait ainsi que par les protéinases et les peptidases de microorganismes protéolytiques. Au cours de ce processus, il y a formation de peptides bioactifs. Les produits laitiers sont actuellement considérés comme nos principaux fournisseurs de peptides bioactifs, même si d'autres protéines de provenance animale, et même des protéines végétales, contiennent également des séquences potentiellement bioactives (Walther, 2006).

II.5.1. Les activités biologiques des peptides bioactifs :

II.5.1.1. Activité anti-oxydante

Les protéines du lait sont des précurseurs de peptides à activité anti-oxydante grâce à leur richesse en certains acides aminés comme l'histidine ou en acides aminés hydrophobes.

Les peptides dérivés de ces protéines sont capables d'inhiber la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux libre (Kullisar et *al*, 2003).

Concernant la fraction protéique du lait, certains peptides bioactifs ont une capacité anti-oxydante. Ces peptides bioactifs sont inactifs dans le lait d'origine et exercent leur effet antioxydant une fois libérés de la matrice « mère » du lait après protéolyse durant la digestion (Power et *al*, 2013).

En effet, des digestions *in vitro* montrent que le potentiel antioxydant du lait augmente jusqu'à 2,5 fois durant la digestion (Şanlıdere Aloglu, 2013)

Le potentiel antioxydant de la caséine est lié à ses acides aminés constitutifs alors que pour le lactosérum les groupements thiols de la β -lactoglobuline joueraient un rôle majeur (Clausen et *al*, 2009).

Les laits cru, pasteurisé et stérilisé semblent présenter une capacité antioxydante proche (Zulueta et *al*, 2009) et le chauffage du lait à 63°C pendant une heure n'affecte pas la capacité antioxydante (Chen et *al*, 2003).

Si les traitements thermiques peuvent dénaturer certains antioxydants du lait comme le rétinol (l'une des trois formes de la vitamine A), les tocophérols, la lactoperoxydase et la β -lactoglobuline (Andrei et *al*, 2007). De nouveaux antioxydants en relation avec la réaction de Maillard, comme les mélanoidines (Calligaris et *al*, 2004) . Par conséquent, la combinaison temps-température des traitements thermiques joue un rôle important sur la capacité antioxydante du lait. Par ailleurs, durant le stockage la capacité antioxydante du lait tend à diminuer (Amamcharla et *al*, 2014).

Les données sont moins nombreuses avec les fromages qu'avec le lait, les yaourts et autres laits fermentés.

Dans une étude réalisée sur 224 fromages, la capacité antioxydante totale est significativement corrélée avec la saisonnalité de la fabrication et le temps de maturation. Des corrélations significatives avec le contenu en rétinol, le pourcentage de matières grasses et le pourcentage de protéines sont également rapportées (Revilla et *al*, 2016).

Durant le processus de maturation du fromage, la protéolyse augmente sa capacité anti-oxydante (Barac et *al*, 2016). Ce processus pourrait cependant ne durer que 4 à 5 mois. En effet la capacité anti-oxydante redescend ensuite jusqu'à 9 mois de maturation car les peptides bioactifs antioxydants libérés initialement sont ensuite dégradés par l'activité protéolytique du fromage affiné sur le long terme (Gupta et *al*, 2009).

L'addition de probiotiques aux fromages entraîne également une augmentation de la quantité de peptides antioxydants bioactifs, mais l'effet semble différer selon les souches utilisées (Abadia-Garcia et *al*, 2013). Les peptides 98-105 de la caséine β et 80-90 de la caséine α_1 pourraient jouer un rôle important dans la capacité antioxydante du fromage (Gupta et *al*, 2010).

Dans l'ensemble, le potentiel antioxydant des produits laitiers est donc proche de celui de différents groupes d'aliments d'origine végétale. Parmi tous les produits laitiers, les fromages pourraient présenter le plus haut potentiel antioxydant, en particulier en raison de la teneur en protéines plus élevée. Chez l'homme, les résultats ont montré qu'une prise adéquate de produits laitiers pouvait atténuer de manière significative le stress oxydatif dans le syndrome métabolique et chez les sujets obèses (Anthony Fardet, 2017).

II.5.1.2. Activité antibactérienne

Les protéines du lait ont suscités beaucoup d'intérêt par rapport à leurs propriétés biodéfensives qui ont été bien décrites et largement reconnues depuis plusieurs décennies. Le colostrum et le lait fournissent de nombreux substrats antimicrobiens. Les immunoglobulines sont parmi les premières lignes de protection qui sont dispensés au nouveau-né grâce à l'allaitement et permettent de fournir passivement l'immunité acquise. Les propriétés antimicrobiennes de la lactoferrine, le lysozyme et la lactoperoxydase ont été bien étudiées (El-Agamy et *al*, 1992 ; Clare et *al*, 2003 ; Lopez- Exposito et Recio, 2006).

En outre, plusieurs peptides antimicrobiens ont été libérés par hydrolyse enzymatique de protéines du lait, inactives à l'état natives. C'est le cas des protéines de lactosérum, l' α -

lactalbumine et la β -lactoglobuline qui génèrent, par hydrolyse enzymatique, plusieurs peptides antimicrobiens. La digestion trypsique de α -lactalbumine a libéré deux fragments : LDT1 (α 1-5) et LDT2 (α 17-31/ 109-114). Alors que la digestion chymotrypsique a libéré le peptide LDC (α 61-86 /75-80). Ces peptides sont principalement actifs sur des bactéries à Gram positif. La digestion trypsique de la β -lactoglobuline a donné, quatre peptides (15-20, 25-40, 78-80, 92-100) ayant une activité antimicrobienne sur des bactéries à Gram positif (Pellegrini et *al*, 2001).

L'hydrolyse pepsique libère les fragments (14-18), (123-125), (50-54), (143-146), (134-136) (147-149) de la β -lactoglobuline et le fragment (117-121) de l' α -lactalbumine (Theolier et *al*, 2013).

Par ailleurs, les caséines, protéines majeures du lait, libèrent, par hydrolyse enzymatiques différents peptides antimicrobiens avec un large spectre d'action (actifs aussi bien sur les bactéries à Gram positif et Gram négatif) (Zucht et *al*, 1995 ; Recio et Visser, 1999 ; Malkoski et *al*, 2001 ; Mc Cann et *al*, 2006).

Rizzello et *al*. (2005), ont rapporté la présence de peptides antimicrobiens correspondant à des fragments de caséines bovines dans des fromages italiens tels que le Pecorino Romano, le Canestrato Pugliese, le Crescenza et même dans le cheddar.

II.6.Paramètres influencent sur l'affinage

La maîtrise de l'affinage est conditionnée par les paramètres suivant :

II.6.1.Rôle du pH

Son rôle est essentiel, il règle à la fois :

- Le développement des micro-organismes constituant les flores interne 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 (Ramet et *al*, 1980).

La sensibilité particulière des micro-organismes au facteur pH constitue un élément sélectif primordial de la colonisation du fromage par les souches souhaitées, ainsi que par celles d'origine accidentelle dont le rôle peut être indésirable (Callon et *al*, 2004).

Le pH détermine par ailleurs la production d'enzymes par les microflores ainsi que l'activité de ces enzymes. En général, les protéases présentent une activité maximale à un pH compris entre 5,5 et 6,5. Toutefois, la plupart d'entre elles possèdent une activité encore importante, de part et d'autre de cette zone. Les lipases présentent un caractère basophile plus marqué que les protéases. Leur optimum d'activité se situe généralement entre 6,5 et 7,5, mais, là aussi, on observe de nombreuses exceptions.

Pour certains fromages à pâte molle, la neutralisation de la pâte est obtenue par voie biologique à l'aide de moisissures acidophiles se développant en surface ou dans la masse (Leclercq-Perlat et *al*, 2004).

II.6.2. Rôle de l'activité de l'eau « aw »

En début d'affinage, l'aw du fromage résulte en partie des modalités de la coagulation et de l'égouttage qui ont conduit à l'élimination plus ou moins importante de l'eau constitutive du lait, mais également de l'état de répartition du sel apporté lors du salage. Dans la suite de l'affinage, le facteur principal déterminant l'aw est l'hygrométrie des locaux. Le choix de l'hygrométrie doit tenir compte de la sensibilité à l'aw des catégories de microorganismes dont il convient de favoriser en surface le développement ou au contraire, l'inhibition (Eck et *al*, 2006 ; St-Gelais et *al*, 2002).

L'hygrométrie étant inférieure à 100 % d'humidité relative, il se produit toujours une évaporation de l'eau contenue dans le fromage vers l'ambiance. Cette perte en eau varie fortement d'un type de fromage à un autre en fonction de diverses caractéristiques de celui-ci, à savoir :

- La teneur en eau totale. En général, plus le fromage est humide, plus la perte en eau totale est élevée ;
- La surface spécifique du fromage détermine l'importance de la surface d'évaporation ;
- L'état de liaison de l'eau. L'eau susceptible de s'évaporer est constituée par l'eau libre : l'eau liée restant fixée dans le produit. C'est donc l'AW qui définit l'évaporation potentielle dans l'ambiance ;
- L'état de surface des fromages. Il influence fortement l'évaporation. Un fromage à croûte sèche aura un effet barrière vis-à-vis de l'évaporation plus prononcé qu'un fromage de même nature, à croûte humide ;
- Le temps de séjour dans les locaux d'affinage influence également la perte en eau.

Celle-ci est accrue lorsque la durée d'affinage est prolongée.

Il convient de noter par ailleurs que les réactions d'ordre biochimique intervenant dans le substrat en cours d'affinage correspondent pour la plupart à des réactions d'hydrolyse qui fixent de l'eau. En conséquence, elles entraînent une diminution de l'eau libre et donc celle de l' a_w (Upadhyay et *al*, 2004 ; Lefrileux et *al*, 2016).

II.6.3. Rôle de la température

Les micro-organismes intervenant dans l'affinage sont presque exclusivement mésophiles.

Les levures et les moisissures possèdent leur optimum de développement à 20 – 25° C. Les bactéries lactiques ont leur optimum à 30 – 35° C, à l'exception des espèces thermophiles pour lesquelles l'optimum de croissance est voisin de 45° C (Al Othaibi et *al*, 2004 ; Raynaud et *al*, 2016).

La production d'enzymes par ces micro-organismes est généralement maximale à une température proche de la température de croissance, ou à une valeur légèrement inférieure à celle-ci. Par contre, l'activité optimale de ces enzymes se situe le plus souvent entre 45° et 50° C. 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 (Montel et *al*, 2014).

Dans ces conditions, la protéolyse est considérablement ralentie ; par contre, la lipolyse l'est moins.

II.6.4. Rôle de la composition de l'air

Pour les fromages affinés à l'aide de micro-organismes, il y a lieu d'adapter la composition de l'atmosphère des locaux à leurs besoins en oxygène. D'une manière générale, les atmosphères confinées sont à proscrire dans tous les cas d'affinage à l'aide de micro-organismes aérobies stricts. De telles atmosphères rendent difficile la croissance de la flore souhaitée et favorisent le développement de microorganismes indésirables. De ce fait, un renouvellement d'air par apport d'air neuf est indispensable. Il y a intérêt à filtrer celui-ci pour éviter le risque de contamination des locaux et des fromages (Lefrileux et *al*, 2016).

✓ Fromagerie STLD

Le fromage industriel est fabriqué par La laiterie STLD (Société de transformation du lait et dérivés) le fermier « société de transformation du lait et dérivés » situé au niveau de la Zone d'activité. Draâ Ben Khedda Tizi Ouzou, Son organisation administrative est représentée dans l'organigramme de la figure 5.

L'unité dispose de plusieurs bâtiments et de locaux et elle a un effectif de 133 personnes avec un régime de quatre équipes / 24 heures.

A l'heure actuelle, son volume de production est de 70000 litres de lait par jour et elle commercialise les différents produits suivants :

- Lait de vache pasteurisé conditionné entier et écrémé (sachet de un litre) ;
- Lait de vache fermenté et pasteurisé Lben (sachet de un litre) ;
- Fromage à pâte pressée « le fermier » ;
- Camembert au lait de chèvre « le chèvre fermier » ;
- Camembert au lait de vache « le fermier » (objet de notre étude).

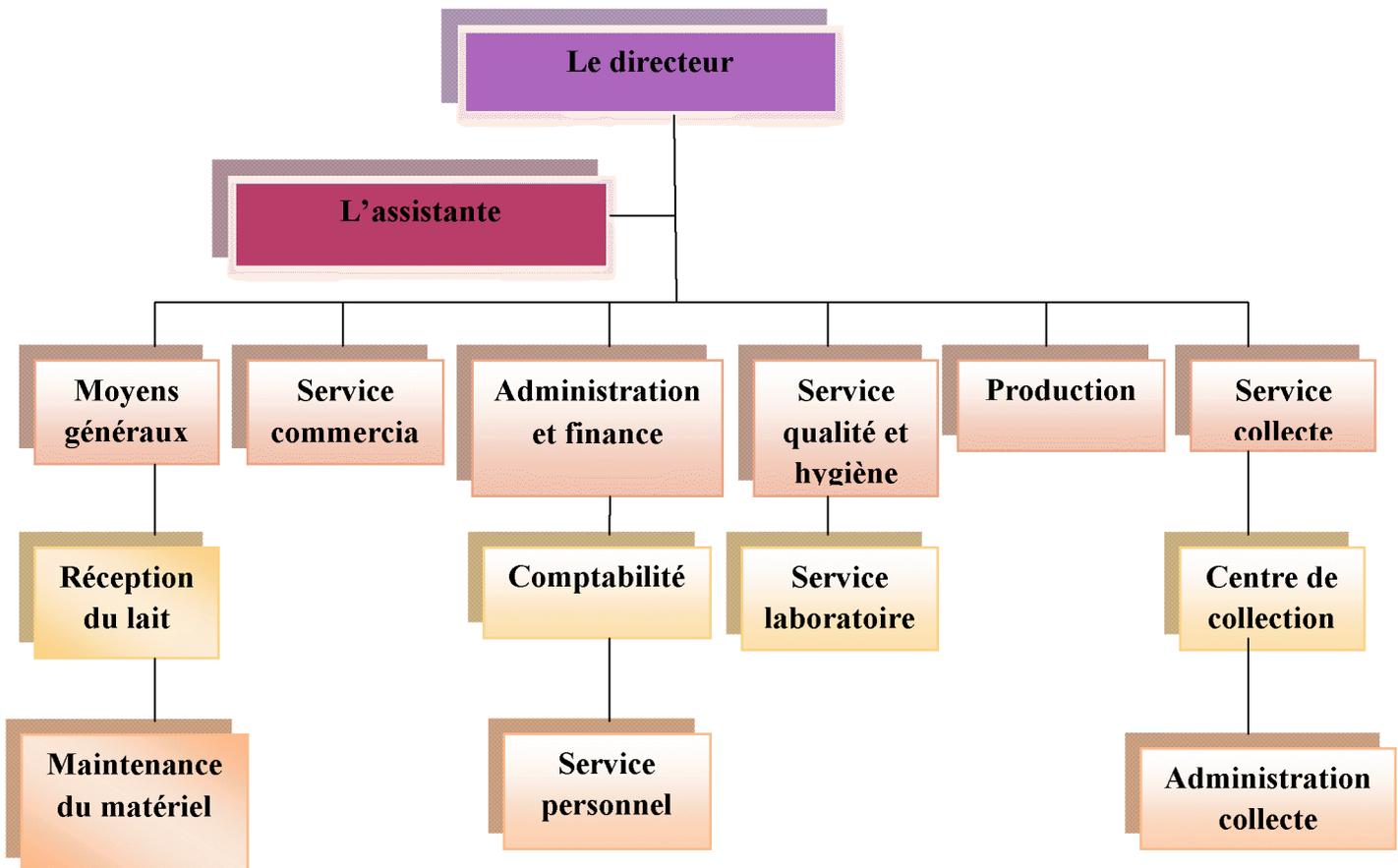


Figure 5: Organigramme de l'organisation administrative de la laiterie STLD

✓ Fromage Saint-Amour

Le fromage artisanal est fabriqué par une entreprise familiale de type TPE (Très Petite Entreprise) gérée par un couple éleveur-fromager de la région de Ouacif qui traitent et transforment le lait de leur propre troupeau en fromages et autres dérivés du lait.

Le troupeau est constitué de 11 vaches de races provenant d'un mélange (d'hostlein canadienne, de simmental et de montvéliarde) et une quarantaine de chèvres (de race alpine et saanen).

Leur maîtrise est le résultat de nombreux stages effectués en Alsace, une région de France sur la fabrication de fromages et aussi grâce à l'aide de l'association AMSED « Association Migration Solidarité et Echange pour le Développement » basé à Strasbourg en collaboration avec l'association ADPAL « Association pour le Développement et la promotion de l'artisanat local » qui ont organisés plusieurs formations et stages qui leur a permis d'être bien formés dans le domaine.

Ils produisent une dizaine de variétés de fromages à pâte molle, à pâte demi-dur. Mais aussi de la tomme de chèvre et de vache, du camembert, du Saint Marcellin, du reblochon, du double et du triple crème, du fromage fondu, du mi chèvre, du mi-vache, du fromage affiné aux herbes, au foin ou encore aux épices, ils fabriquent aussi des fromages à base de fruits secs, d'olives de Kabylie. Hormis les fromages, d'autres dérivés du lait sont disponibles, à savoir le yaourt, le beurre, le lait caillé et le petit lait.

Leur savoir faire artisanal leur a permis de faire traverser leurs produits hors des frontières de ces petits villages en acquérant des marchés importants dans la capitale. Actuellement, ils sont le fournisseur de l'hôtel Sofitel et de différents restaurants algérois, sans oublier plusieurs magasins et superettes. Ils exposent également leurs produits dans différentes ambassades à Alger à l'instar de l'ambassade de France, des USA, de Belgique et de Suisse.

Aujourd'hui, ils souhaiteraient ouvrir leur propre «ferme-école», qui englobera la conduite d'élevage, la fabrication artisanale du fromage et autres produits laitiers, afin de continuer à vivre leur passion et de former, à leur tour, de futurs artisans fromagers.

Le but de cette étude est de suivre l'évolution physico-chimique et microbiologique ainsi que la recherche d'éventuelles activités biologiques notamment l'activité anti-oxydante et antibactérienne aux différents stades d'affinage d'un fromage à pâte molle type camembert fabriqué par deux techniques différentes : industrielle et artisanale.

I. Echantillonnage et description du diagramme de fabrication

I.1.Échantillonnage

Les échantillons des laits, et des fromages ayant servi aux différentes analyses sont issues de la laiterie STLD de Tizi-Ouzou et de la fromagerie artisanale « Saint Amour » de Ouacif pendant la période mars-juin 2018.

Ces échantillons quand ils ne sont pas analysés sur place, ils sont acheminés dans une glacière à 4°C au laboratoire de Microbiologie de l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Les échantillons concernés sont constitués :

- 500ml de lait cru (fromage artisanal) et 500ml du lait pasteurisé (fromage industriel) qui servent à la fois pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques ;
- Un échantillon de 03 pièces de 250g du camembert a été prélevé à chaque stade de l'affinage (J+1, J+6 et J+12), le nombre total c'est 18 boites (9 pour l'industriel et 9 pour l'artisanal).

I.2. Présentation du diagramme de fabrication

Les différentes phases de production des deux camemberts industriel et artisanal ainsi que leur différence sont résumées dans la figure 6

I.2.1.Matière première

- **Fromage industriel**

Le lait cru provient de différentes fermes laitières et de différents troupeaux est réceptionné dans des camions citernes isothermes à partir des centres de collecte de l'unité.

A la réception, le lait subit des tests rapide de qualité notamment : acidité, antibiotique, densité et il passe également dans un appareil appelé le lactoscan qui donne

plusieurs paramètres à savoir le taux de matière grasse, ESD, taux de protéines, le pH et la densité pour permettre d'avoir une idée globale sur sa qualité.

- **Fromage artisanal**

La traite s'effectue deux fois par jour (le matin et le soir) dans de bonnes conditions d'hygiène, le lait provient du même troupeau.

I.2.2.Traitement thermique

- **Fromage industriel**

Le lait subit une pasteurisation dans un échangeur à plaques réglé au barème de 80°C pendant 15 secondes, ensuite il est refroidit à une température de 37°C.

- **Fromage artisanal**

Le lait ne subit aucun traitement thermique il passe juste au chauffage qui se fait à une température de 37°C pendant une heure pour mettre les bactéries lactiques en conditions de température favorable.

I.2.3.Coagulation

Se traduit par la formation d'un gel (ou coagulum) qui résulte des modifications physico-chimiques qui interviennent autour des micelles de caséines et qui concourent à leur déstabilisation extrême.

Elle s'effectue en deux étapes :

- **Maturation**

C'est l'étape d'introduction de la flore lactique (levains lactiques) qui va participer à la coagulation du lait en provoquant son acidité allant jusqu'à 23-24°D à une température de 37°C. Ils ajoutent également le chlorure de calcium (CaCl_2 à 1%) afin de rétablir l'équilibre salin du lait.

Pour le fromage artisanal l'étape de maturation ce n'est qu'autre que le chauffage et ici il n'y a ni ajout de ferments ni de chlorure de calcium.

- **L'emprésurage**

Il y a ajout de la solution de présure.

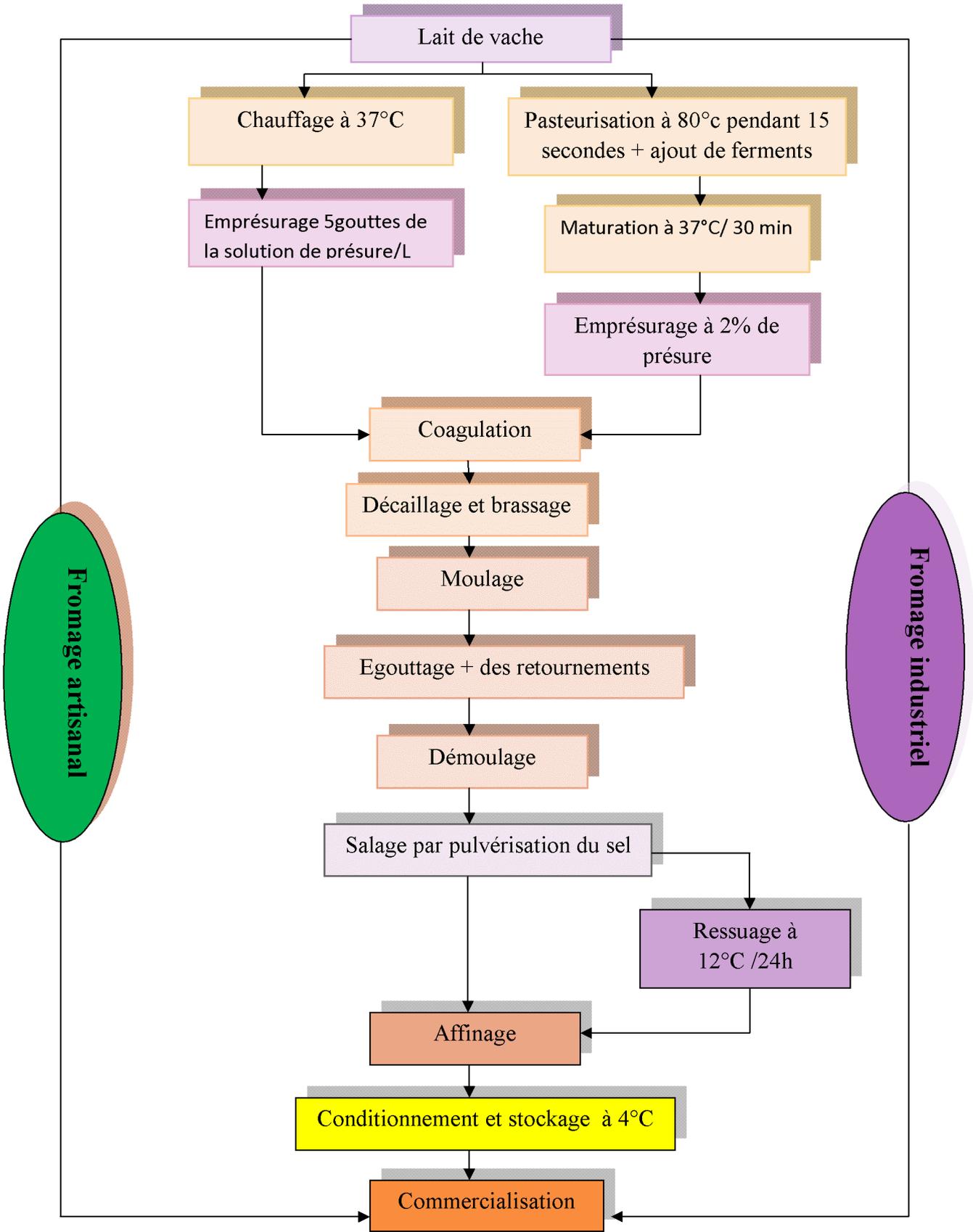


Figure 6: Diagramme de fabrication du camembert industriel et artisanal

I.2.4. Décaillage et brassage

Le caillé va être tranché en petits morceaux afin d'accroître la surface d'exsudation du lactosérum ensuite ils vont être soumis au brassage.

I.2.5. Moulage

Le caillé brassé est mis dans des moules perforés laissant échapper le lactosérum, ce qui permet d'obtenir la forme définitive du fromage.

I.2.6. Egouttage

C'est l'étape qui permet la séparation du lactosérum et du caillé, les fromages restent 24 heures et ils subissent des retournements pour avoir une meilleure exsudation.

I.2.7. Salage

Le salage est effectué en pulvérisant le sel fin sur le fromage.

1.2.8. Ressuage

- **Fromage industriel**

Les fromages sont envoyés dans une salle de ressuage pour une durée de 24h à une température de 12°C et des retournements sont effectués pour permettre aux fromages de mieux sécher.

I.2.9. Affinage

Une fois les fromages séchés ils vont être introduits dans des hâloirs à une température de 12°C à 16°C pendant une durée de 12 jours.

Durant cette période les fromages industriels sont pulvérisés de *Penicillium camembertii*, en effectuant des retournements tous les deux jours mais pour les fromages artisanaux ils prélèvent 5g de la croûte d'un camembert industriel mélangé avec 45ml d'eau peptonée dans une boîte, ensuite la boîte est mise dans les hâloirs d'affinage afin de l'enrichir en spores de *Penicillium camembertii* pour améliorer la formation de la croûte feutrée.

La pâte est ainsi modifiée dans son aspect, sa texture et sa consistance et représente donc le produit fini qui est le camembert.

I.11.10. Conditionnement et emballage

Les fromages (produit fini) à pâte molle type camembert sont ensuite emballés et prêt à la commercialisation.



Camembert industriel



Camembert artisanal

Figure 7 : Fromage à pate molle type camembert industriel « le fermier » et artisanal « Saint-amour »

II. Méthodes

Pour le matériel, appareillage ainsi que les produits et réactifs utilisés (Voir annexe 01 et annexe 10).

II.1. Analyses Physicochimiques

Pour le lait la plupart des paramètres physico-chimiques à savoir : le taux de la matière grasse, le taux des protéines, extrait sec dégraissé, densité et le pH ont été déterminés par le Lactoscan SAP50 (voir annexe 02).

II.1.1. Détermination de la densité

La densité est le rapport des masses d'un volume de lait et d'un même volume d'eau à 20°C. Cette masse résulte des diverses densités des constituants du lait : eau, matière grasse, protéines, sucres, etc. La quantité de ces différents constituants n'étant pas constante, la densité du lait est donc variable. La matière grasse (MG) et l'extrait sec dégraissé (ESD) influencent particulièrement sur la densité.

II.1.2.Détermination du pH

La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications quelle donne sur la richesse du lait en certains de ces constituants, sur son état de fraîcheur ou sur sa stabilité (Mathieu, 1998). La mesure est effectuée par l'immersion du bout de l'électrode dans la pâte du fromage à analyser (Annexe 03).

II.1.3.Détermination de l'extrait sec total (EST)

La détermination de l'extrait sec total se fait au moyen d'un appareil appelé: Dessiccateur infrarouge (Sartorius MA35) qui donnera le taux de la matière sèche après dessiccation complète du produit à analyser. La teneur en eau (humidité) est également donnée par le dessiccateur. Le principe consiste à sécher l'échantillon par l'émission de radiations infrarouges à 110°C (Annexe 04).

II.1.4.Détermination de l'acidité titrable

Nous avons utilisé la méthode citée par Saoudi (2012) qui consiste à doser l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11M en présence de phénolphthaléine, comme indicateur coloré qui indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pale) (Voir annexe 05).

Pour le lait le dosage a été effectué à partir d'un volume de 10ml du lait, le volume de l'acidité en degré dornic est calculé selon la formule suivante : $A^{\circ}D = 10 \times V$ (ml) et pour le fromage on procède d'abord à la préparation d'une solution fromagère puis on prélève 50ml du surnageant Acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable (\% en acide lactique)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \times 90.05}{50}$$

N (mol/l) = Normalité de la solution NaOH.

90.05 (g/mol)= masse molaire de l'acide lactique.

II.1.5.Détermination de la teneur en matière grasse du Fromage

Nous avons utilisé la méthode de Gerber (1974) qui est basée sur la dissolution des éléments autres que la matière grasse dans le butyromètre par de l'acide sulfurique à 95% avec addition d'une petite quantité d'alcool amylique à 1% qui favorise le rassemblement de la matière grasse (voir annexe 06).

II.1.6. Détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD)

L'extrait sec dégraissé est obtenue par différence entre l'extrait sec total et la matière grasse :

$$\text{ESD \%} = \text{EST \%} - \text{MG \%}$$

-**ESD** : extrait sec dégraissée.

-**EST** : extrait sec total.

-**MG** : matière grasse.

II.1.7. Dosage des protéines

Pour le fromage

Le taux des protéines dans le fromage est dosé par la méthode colorimétrique de Lowry, en utilisant l'albumine sérique bovine comme protéine de référence [0 à 100ug/ml] (voir annexe 07).

Principe

La méthode de Lowry consiste en un dosage colorimétrique particulièrement sensible se basant sur deux réactions colorimétriques :

- la réaction de Biuret, dans laquelle Cu^{2+} , en présence d'une base, réagit avec la liaison peptidique en donnant une couleur bleu-profond ;
- et la chimie du réactif Folin-Ciocalteu, dans laquelle un mélange complexe de sels inorganiques réagit avec les résidus tyrosine et tryptophane des protéines en donnant une intense couleur bleu-vert (Lowry et *al*, 1951).

Ainsi, dans un premier temps, une courbe étalon est effectuée à partir d'une solution mère de (0,1mg/ml) qui a servi à la préparation des solutions filles de (0 à 100 μ g/ml) et Dans un second temps, la concentration en protéines totales de l'extrait protéique est déterminée par la mesure de l'absorbance des solutions à 750 nm.

II.1.8. Dosage des groupements NH₂ libres par l'emploi de l'acide 2-4-6 trinitrobenzène sulfonique (TNBS)

Le dosage des groupements NH₂ libres par le TNBS est une méthode spectrophotométrique adaptée à l'évaluation de la protéolyse lors de la maturation du fromage.

Nous avons utilisé la méthode de Kuchroo *et al* (1983), telle qu'elle a été optimisée par Polychroniadou (1988).

En effet, des groupes acides aminés libérés par suite de l'hydrolyse des protéines réagissant avec le TNBS pour donner des complexes trinitrophenylés jaunes, qui absorbent massivement à 420 nm comme le montre la figure 8.

Il existe une relation linéaire entre l'intensité de la réaction et la concentration en groupements α -aminés existant (Adler et Nissen, 1979).

La réaction se développe en présence de 0,5 ml de la dilution précitée, auquel on ajoute 0,5 ml du tampon borate (pH 9,5) et 1 ml de la solution aqueuse à 0,1% (P/V) du réactif (TNBS). Le mélange est incubé à 37°C pendant une heure. La réaction est stoppée par rajout d'une solution phosphate/sulfite (le mode opératoire est donné en annexe 09).

Le spectrophotomètre donne une valeur de densité optique (DO) qui permet de déterminer la concentration en groupes α -aminés libres de l'échantillon analysé en se référant à une courbe d'étalonnage DO= f(C) (Polychroniadou, 1988).

Nous avons réalisé une courbe d'étalonnage avec la glycine (0 à 0,5 mM) (voir annexe 08).

Le taux de groupements (NH₂) est ainsi exprimé en mmoles d'équivalents glycine/gramme d'extrait sec.

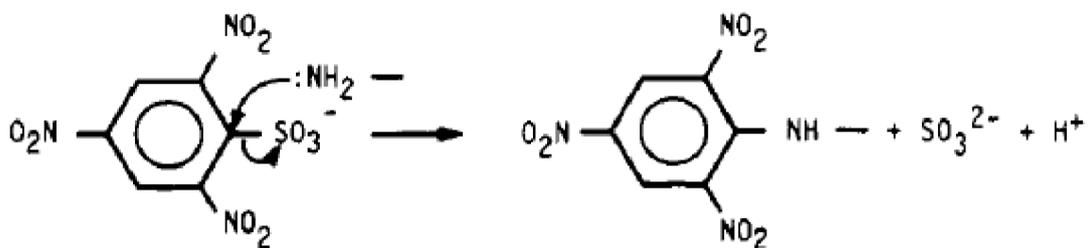


Figure 8 : Réaction de TNBS avec des groupes amino (Adler-Nissen, 1979)

II.2. Activités biologiques

Dans cette étude, l'activité antioxydante a été évaluée par deux techniques :

- Pouvoir réducteur en utilisant le test de FRAP ;
- Pouvoir anti-radicalaire en utilisant le test de DPPH (voir annexe 09).

La recherche de cette activité concerne les échantillons suivants :

- Fromage à pâte molle type camembert industriel « fermier » et artisanal « Saint-amour » : 1^{er} et dernier jour d'affinage 12^{ème}.

II.2.1. Test au DPPH

Nous avons suivi le Protocole décrit par Oyaizu (1986), qui consiste à utiliser le DPPH comme un radical libre qui se caractérise par une couleur violet, au contact d'un antioxydant et la vitamine C pris comme standard avec solution mère de (250µg/ml) à partir de laquelle des solutions filles de (0 à 250µg/ml) ont été préparées.

Le DPPH est réduit, cette réduction est caractérisée par un virage de la couleur du violet vers le jaune qui absorbe à 517nm.

Le test au DPPH est rapide, facile à mettre en œuvre et s'effectue à température ambiante, ce qui permet d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules testées.

Calcul du pourcentage d'inhibition

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (%) en utilisant la formule suivante

$$\% \text{ inhibition} = (\text{Abs Témoin} - \text{Abs solution}) / (\text{Abs témoin}) \times 100$$

Abs Témoin : absorbance du DPPH ;

Abs solution : absorbance de l'échantillon (test+DPPH).

Le témoin est préparé par l'utilisation de l'eau distillée à la place de l'échantillon.

II.2.2. Test de réduction du fer : FRAP

On a utilisé le protocole suivi par (Wu et *al*, 2003), Le principe de cette méthode est basé sur le test de la chélation des ions Fe^{2+} , il met en avant la capacité d'une molécule à fixer ces ions.

Les ions Fe^{2+} jouent un rôle important dans la production des radicaux libres notamment lors de la réaction de Fenton, qui survient à chaque fois qu'une molécule d' H_2O_2 est en contact d'ions Fe^{2+} et qui est à l'origine de la production des radicaux hydroxyl (OH), un des radicaux les plus réactifs (Denes, 2006). L'absorption se fait à 700nm.

La vitamine C est prise comme standards avec une solution mère de (0,1mg/ml) qui a servi à la préparation de solutions filles de (0 à 0,1mg/ml).

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés (Hubert, 2006).

II.3. Analyses microbiologiques

II.3.1. Recherche d'antibiotiques dans le lait par le beta star Combo

La recherche des antibiotiques est un test fait à la réception du lait cru, avant son acceptation par une méthode rapide appelée Beta Star Combo.

Le test Beta Star Combo est une méthode de type « Receptor Assay » basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique. Il permet la détection rapide dans le lait des résidus de β -lactames et de tétracyclines (voir Annexe 11).

II.3.2. Recherche et dénombrement des flores

Les germes recherchés, les milieux de cultures utilisés et les conditions d'incubation sont présentés dans le tableau VIII, des dilutions ont été réalisées dans de l'eau physiologique comme le montre la figure 9 à partir du lait et d'une solution fromagère qui a été préparée comme suit : après avoir éliminé la croûte l'échantillon du fromage est mélangé dans un mortier stérile, 10g on été ajoute à 90ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise bien pour une bonne dissolution du fromage (Voir annexe 13).

Afin de dénombrer les bactéries à partir des différentes dilutions on utilise la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{(n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

N : Nombre d'UFC par gramme du produit initial ;

Σ Colonies : sommes des colonies des boites interprétables ;

n 1 : nombre de boites considérés à la première dilution retenue;

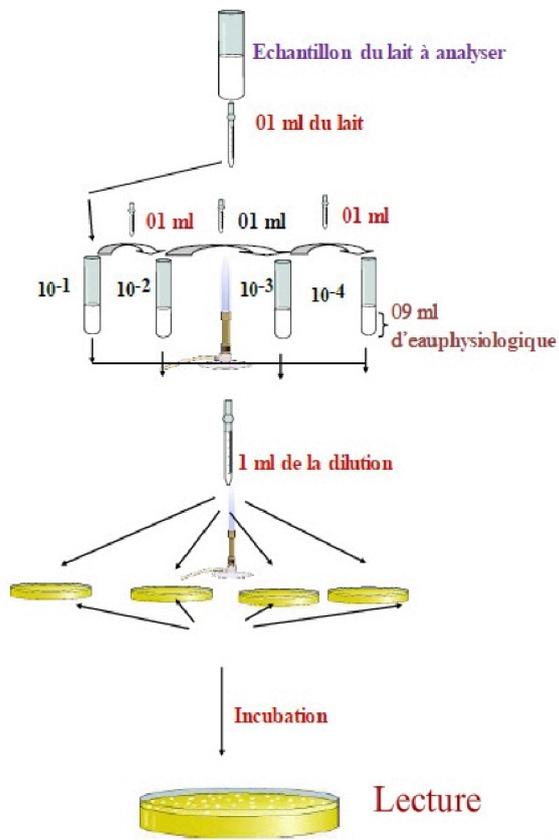
n 2 : nombre de boites considérés à la seconde dilution retenue;

d1 : facteur de la première dilution retenue.

Tableau VIII : Flores microbiennes dénombrées

Germes	Milieu de culture utilisé	Conditions d'incubation	Références
Flore Mésophile Aérobie Totale	PCA (Plate Count Agar)	30°C pendant 24 à 48h	Gobbetti et al (2002)
Coliformes totaux	VRBL (milieu lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre)	37°C pendant 24-48h	
Coliformes fécaux		44°C pendant 24-48h	
<i>Staphylococcus aureus</i>	GC (GIOLLITI CANTONI et gélose de BAIRED PARKER)	37°C pendant 48h	Tesone et al (1978)
Levures et moisissures	OGA (milieu gélosé glucosé à l'oxytétracycline)	22°C pendant 7jours	
Lactobacilles mésophiles	MRS (Man Rogosa Sharpe)	30°C pendant 48 à 72h en anaérobiose	Dahou et al (2015)
Streptocoques mésophiles	M17		

Lait



Fromage

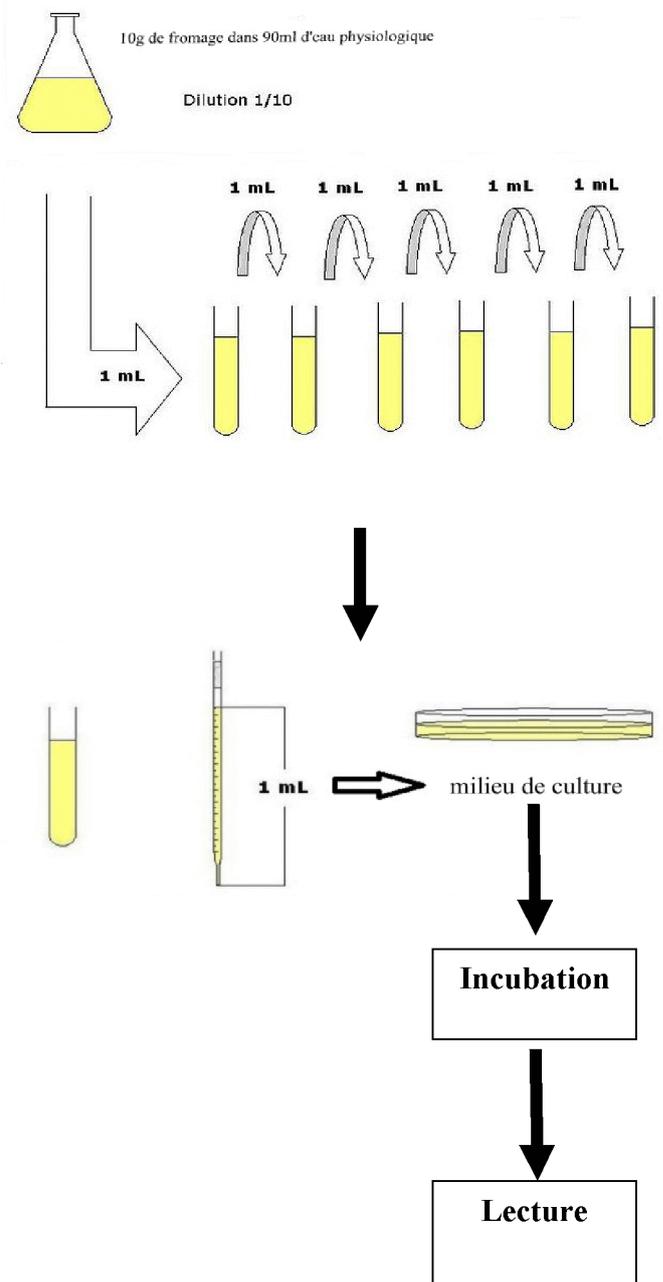


Figure 9: Dénombrement des principales flores dans le Fromage

II.3.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile

Le dénombrement de FTAM s'effectue sur gélose glucosée à l'extrait de levure appelée également milieu PCA « Plate Count Agar » après 24-48 heures d'incubation à 30°C (voir annexe 14).

➤ Principe

Les substances nutritives apportées par la tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à 30°C.

II.3.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

➤ Principe

Numération des colonies caractéristiques des coliformes totaux qui se sont développées en 24 h à 30°C et des coliformes fécaux à 44°C pendant 24h sur gélose VRBL (Milieu lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre) (voir annexe 15).

Sur ce milieu le développement de la plupart des bactéries n'appartenant pas à la famille des entérobactéries est inhibé par le cristal violet et le sel biliaire; il en est de même avec les *Proteus*. L'utilisation du lactose est mise en évidence par le virage au rouge de l'indicateur dans la colonie.

II.3.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

➤ principe

Les levures et moisissures peuvent être dénombrées sur le milieu OGA (milieu gélosé glucosé à l'oxytétracycline) avec incubation à 25°C pendant 5jours (voir annexe 17).

II.3.6. Dénombrement de la flore lactique

➤ principe

Leur principale propriété est de produire de l'acide lactique par fermentation du lactose; certaines produisent en outre du gaz carbonique et divers composés, dont certains contribuent à l'arôme des produits laitiers.

Les lactobacilles peuvent être dénombrés sur le milieu MRS (Man Rogosa Sharpe) et les streptocoques sur le milieu M17 avec incubation à 37°C pour les mésophiles pendant 72 (voir annexe 18).

II.3.7. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à l'origine de nombreuses infections ou intoxications alimentaires.

➤ **Principe** (voir annexe 16).

L'enrichissement se fait sur le milieu GC et l'isolement sur le milieu BAIRD PARKER comme le montre la figure 9.

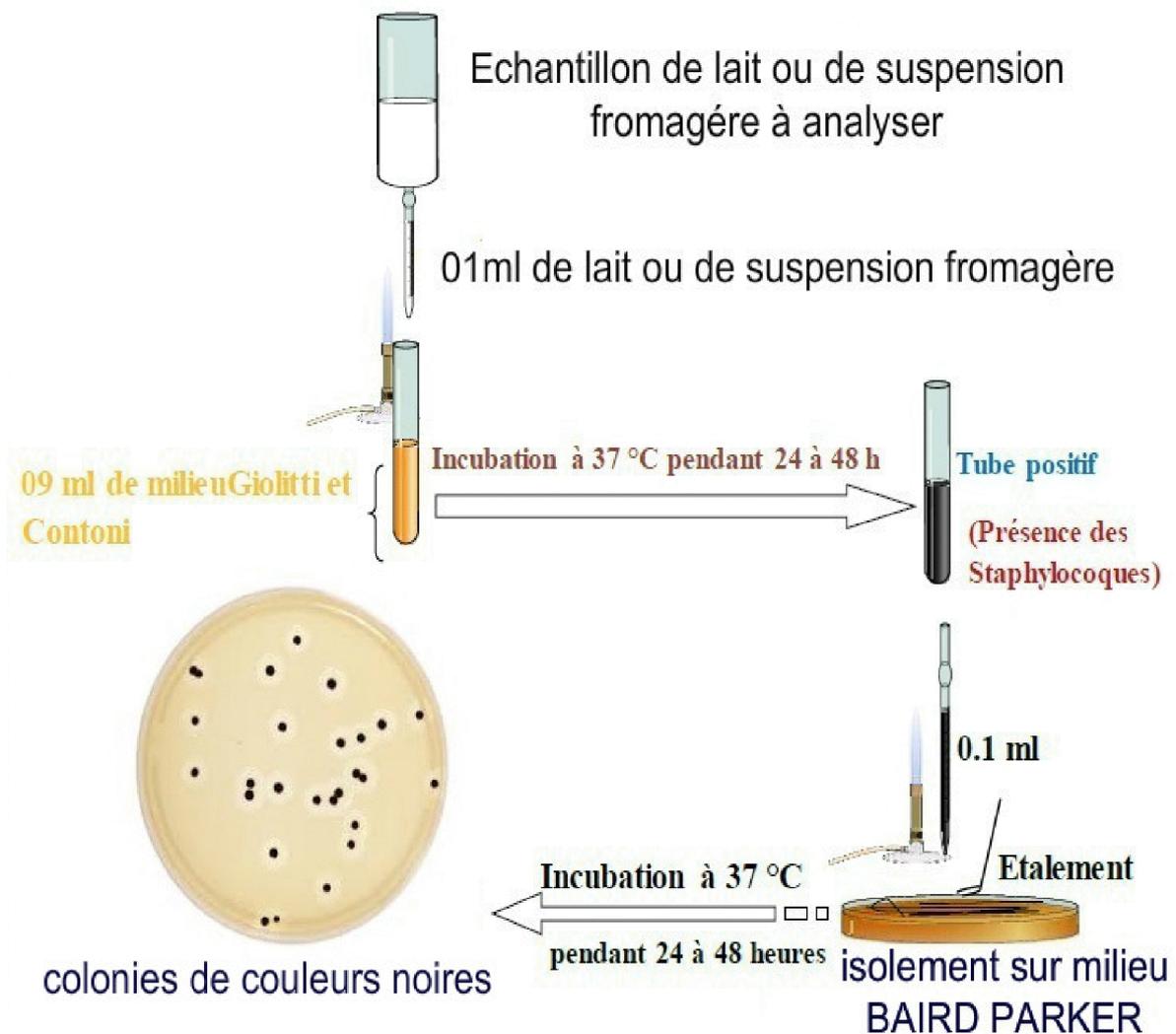


Figure 10 : Recherche de *staphylococcus aureus* par enrichissement en milieu GC et isolement sur milieu BAIRD-PARKER

II.4. Etude de l'activité antibactérienne

▪ principe

Ce test consiste à étudier l'activité antibactérienne d'extraits fromagers (surnageant et lyophilisats du 12^{ème} jour) vis-à-vis des souches indicatrices *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, en utilisant la méthode des disques décrite par Hayouni *et al*, (2007). Les souches nous ont été fournies par le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'UMMTO. La pureté des souches a été vérifiée par la coloration de Gram, test à la Catalase et Coagulase pour *S.aureus*.

II.4.1. Préparation de l'extrait fromager

Une solution mère a été préparée en mélangeant 20g de fromage (dernier jour d'affinage) avec 30ml d'eau physiologique, la crème est écartée par centrifugation à 3500 g pendant 30min à 4°C, nous avons récupéré ainsi le surnageant filtré à 0,45 µm (filtre à seringue).

Ce dernier sera divisé en deux parties, l'une sera lyophilisée pour préparer des solutions de lyophilisat à différentes concentrations (10, 25, 50 mg/ml) à partir d'une solution mère de 50 mg/ml.

L'autre partie sera divisée en deux, la première sera utilisée tel quelle (solution brute) la seconde sera neutralisée avec une base NaOH 1N afin d'éliminer l'effet acide et l'effet du H₂O₂ a été écarté en prélevant au cœur du camembert.

II.4.2. Préparation de l'inoculum

Les souches cibles ont été revivifiées dans 9 ml du bouillon BHIB durant 24h à 37 °C suivie d'un isolement en strie sur gélose MH, puis incubé à 37°C pendant 24h. À partir de cette gélose 2 à 3 colonies ont été prélevées et mise en solution dans 9ml d'eau physiologique. L'antibiogramme par diffusion est réalisé avec une suspension bactérienne standardisée à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm contenant environ 10⁸ bactéries par ml comme sa a été décrit dans le manuel de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national édité en 2016 par le réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Un antibiotique a été utilisée comme témoin positif ce derniers a été sélectionné en faisant un antibiogramme pour les souches testées.

II.4.3.Méthode des disques

Principe de la technique

Nous avons utilisé la méthode des disques décrite par Hayouni et *al*, (2007) qui consiste à ensemencer une suspension bactérienne sur la gélose Mueller-Hinton par écouvillonnage. Des disques en papiers Whatman stériles (de 5 mm de diamètre) ont été déposés à la surface de la gélose. Chaque disque a reçu 20 μ l des différents extraits, les boîtes ont été mises au réfrigérateur à 4°C pendant une heure pour une meilleure diffusion.

Un contrôle positif a été effectué en utilisant un antibiotique Amikacin 30 μ g. Les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24 h.

Après l'incubation, les boîtes de Pétri sont examinées et les diamètres des zones d'inhibition entourant les disques sont mesurés à l'aide d'une règle et comparés aux valeurs critiques des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorisation clinique.

Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la bactérie testée.

II.5.Analyse statistique des résultats

Les résultats de mesures du suivi de l'affinage obtenus dans cette étude sont soumis à une analyse statistique avec le logiciel STATISTICA 7.1 avec l'analyse de Anova à un facteur afin de montrer les degrés de signification des données à la probabilité (P-value) de $p < 0,05$.

Si la probabilité P est :

- $P > 0,05$: les variables montrent une différence non significative ;
- $P \leq 0,05$: les variables montrent une différence significative,
- $P \leq 0,01$: les variables montrent une différence hautement significative ;
- $P \leq 0,001$: les variables montrent une différence très hautement significative.

L'analyse statistique a été effectuée pour l'étude des trois stades de l'affinage, l'étude a été faite à un facteur qui est le stade d'affinage.

I. Résultats physicochimiques

I.1. Résultats physicochimiques du lait

Les résultats des analyses physicochimiques des laits sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IX: Valeur moyenne des analyses physicochimiques du lait utilisé en fabrication fromagère.

	Lait cru (Fromage artisanal)	Lait pasteurisé (industriel)	Normes FIL-AFNOR (1980)
pH à 20°C	6,4 ± 0,05	6,59 ± 0,08	6,6 – 6,8
Acidité °D	16 ± 1	17 ± 1	16-18
EST (%)	12,4 ± 0,2	11,06 ± 0,15	10,2 – 12,5
ESD (%)	6,75 ± 0,05	6,83 ± 0,06	8,75- 8,99
Protéines (%)	2,69 ± 0,11	2,65 ± 0,1	3,4 – 3,6
MG (%)	3,09 ± 0,12	3,11 ± 0,12	3,4- 3,6
Densité	1,029 ± 0,005	1,027 ± 0,005	1,028-1,032

I.1.1.pH

La valeur moyenne du pH des laits se situe dans les normes (FIL- AFNOR) avec un pH de 6,4 ±0,05 pour le lait cru et 6,59 ±0,08 pour le lait de mélange pasteurisé.

Le lait de vache à l'état frais a un pH compris entre 6.6 et 6.8. Ces valeurs peuvent être modifiées considérablement par les infections microbiennes; les formes aiguës vers l'acidification et les formes chroniques vers l'alcalinisation (Araba, 2006).

Il s'agit d'un important paramètre qui détermine la destination ultérieure de ce dernier c'est-à-dire son aptitude à la transformation. En effet, un faible changement du pH du côté acide, a des effets importants sur l'équilibre des minéraux et sur la stabilité de la suspension colloïdale de caséine (Alais *et* Linden, 2004). Aussi le pH règle le développement des flores internes et superficielles intervenant dans l'affinage du fromage (Ramet, 1985).

I.1.2.Acidité

La valeur moyenne de l'acidité titrable des laits se situe dans les normes (FIL- AFNOR) d'acidité d'un lait frais soit entre 16 et 18°D.

L'acidité du lait peut être un indicateur de qualité au moment de la livraison car elle permet d'apprécier la quantité d'acide produite par les bactéries ou les éventuelles fraudes (Joffin et Joffin, 2004). Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (Mathieu, 1998).

L'acidité et le pH dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique de la manutention du lait (Alais, 1984).

I.1.3.Densité

Les valeurs moyennes obtenues pour le lait cru et lait de mélange sont respectivement de $1.029 \pm 0,005$ et de $1.027 \pm 0,005$, le lait cru concorde avec la norme qui est du 1.028-1.032, hors que le lait de mélange présente une densité un peu faible par rapport à cette norme cette différence est liée à leurs teneur en EST comme trouvé auparavant le lait cru était plus riche en EST par rapport au lait de mélange.

Ce paramètre est très utile en industrie car il permet la détection des fraudes comme le mouillage qui abaisse la teneur du lait en ses divers constituants entraînant ainsi des modifications de ses constantes physiques.

I.1.4.Extrait sec total

La mesure de l'EST a révélé une moyenne de $12,4 \pm 0,2$ % pour le lait cru et $11,06 \pm 0,15$ % pour le lait de mélange pasteurisé, ces teneurs correspondent à la norme qui est de 10,2-12,5%.

Selon Martin et Coulon (1995), l'ingestion de quantités importantes de fourrages d'aliments concentrés par les vaches laitières entraîne une augmentation de la production du lait et aussi une augmentation du taux de MG et des protéines ce qui induit un accroissement du taux d'EST du lait de vache.

I.1.5.Extrait sec dégraissé

Les valeurs moyenne de l'ESD sont inférieurs aux normes ce qui explique la richesse du lait en matière grasse et selon Coubronne et *al*, (1980), les rations peu énergétiques réduisent le taux d'ESD.

I.1.6. matière grasse

C'est un critère relativement variable d'un jour à l'autre, car il est fortement lié à la traite. Cependant, il est parmi les solides du lait l'élément le plus fortement et le plus rapidement modifiable par l'alimentation (Hoden et Coulon, 1991).

La valeur moyenne trouvée dans notre étude est de $3,09 \pm 0,12$ % pour le lait cru et $3,11 \pm 0,12$ % pour le lait de mélange pasteurisé, ces valeurs sont un peu faibles par rapport aux normes et ceci peut être dû à l'alimentation de la vache, selon la période de lactation ainsi que la saison de la traite du lait et la race.

I.1.7. taux de protéines

La teneur en protéines du lait et les caractéristiques de ces protéines sont des facteurs prépondérants du rendement fromager (Remeuf et *al*, 1989 ; Vertes et *al*, 1989 ; Garel et Coulon 1990).

Les résultats trouvés montrent une moyenne de $2,69 \pm 0,11$ % pour le lait cru et de $2,65 \pm 0,1$ % pour le lait de mélange pasteurisé, ces valeurs sont faibles par rapport à la norme requise qui est de 3,4-3,6%. La teneur en MG des laits de vache est fortement corrélée à la teneur en protéine (Croguennec et *al*, 2008).

Martin et Coulon (1995) notent que beaucoup de facteurs sont susceptibles d'influer négativement sur le taux protéique des laits. Outre l'alimentation quotidienne déficiente en fourrages et plantes herbacées, il y a lieu de citer l'effet de la race, l'âge, le stade de lactation, la saison et le climat. Le premier facteur semble néanmoins prépondérant dans l'obtention de ces teneurs faibles.

I.2. Evolution des paramètres physicochimiques des fromages au cours de l'affinage

Les résultats de l'évolution physicochimiques au cours de l'affinage des deux types de fromage sont présentés dans le tableau X

Tableau X : Résultats d'analyses physico-chimiques du camembert artisanal « Saint Amour » et industriel « Fermier » an cours d'affinage

	Fromage artisanal (saint amour)			Fromage industriel (fermier)		
	J1	J6	J12	J1	J6	J12
pH à 20°C	5,2 ± 0,05	4,4 ± 0,2	4,6 ± 0,2	5,53 ± 0,70	4,7 ± 0,26	5,2 ± 0,52
Acidité (%)	6,30 ± 0,3	13,32 ± 0,76	11,34 ± 0,72	10,55 ± 0,78	10,76 ± 0,37	9,52 ± 0,71
MG (%)	22 ± 1	26 ± 2	27 ± 1,15	23 ± 1	23 ± 1	25 ± 1
EST (%)	43,64 ± 2,32	46,78 ± 2,60	47,79 ± 2,01	48,46 ± 0,62	50,26 ± 0,43	54,5 ± 0,32
ESD (%)	20,46 ± 3,31	20,78 ± 1,01	21,64 ± 1,19	25,46 ± 0,40	27,26 ± 0,82	29,5 ± 0,70
Pro (%)	11,48 ± 0,89	12,28 ± 0,83	13,1 ± 0,45	12,14 ± 0,36	13,48 ± 0,26	14,57 ± 0,32

I.2.1. Evolution de l'acidité et du pH

Les figures 11 et 12 montrent l'évolution du pH et de l'acidité du fromage industriel et artisanal aux différents stades d'affinage, on remarque qu'ils évoluent inversement c'est-à-dire lorsque l'un diminue l'autre augmente.

Le pH diminue légèrement au 6^{ème} j d'affinage ainsi l'acidité augmente légèrement a son tour ceci est du a la formation de l'acide lactique par fermentation du lactose par les bactéries lactiques (Vignola, 2002), au dernier jour on remarque une augmentation de pH au dernier jour d'affinage et une diminution pour l'acidité qui peut être due à la formation du *Penicillium* car selon Lenoir (1963) les moisissures consomment l'acide lactique et désacidifie la pâte.

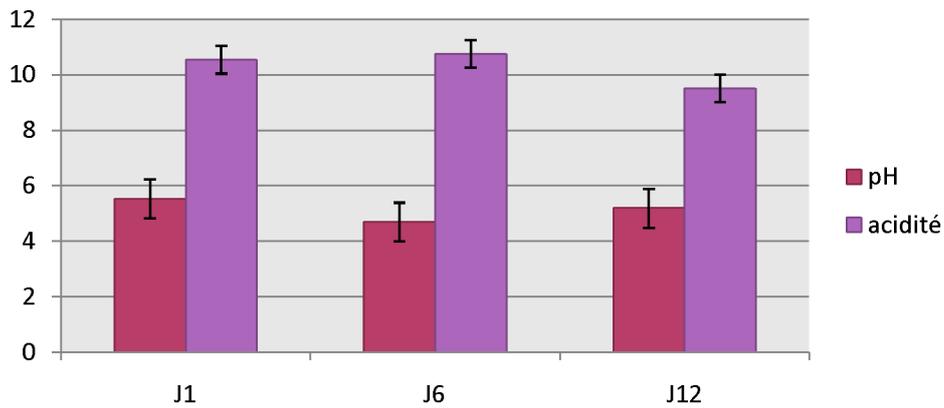


Figure 11 : Evolution du pH et de l'acidité du fromage industriel aux différents stades de l'affinage

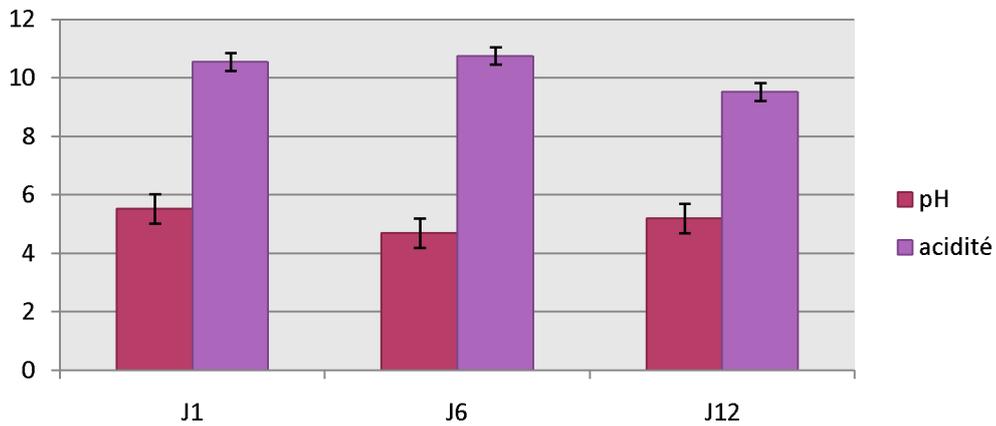


Figure 12: Evolution du pH et de l'acidité du fromage artisanal aux différents stades de l'affinage

Il y a une différence hautement significative entre les différents stades d'affinage pour les deux paramètres et aussi au même stade d'affinage pour les deux fromages, ceci est confirmé par l'analyse de la variance qui donne une valeur de probabilité très faible par rapport à $\alpha=0,005$ (Voir annexe 20 tableau 1, 2, 3, 4, 5 et 6).

I.2.2. Evolution de l'EST, ESD, MG et protéines

Les teneurs en EST, ESD, MG et protéines augmentent au cours de l'affinage que se soit pour le camembert industriel ou artisanal, ces résultats s'expliquent par le fait que les constituants de la matière sèche essentiellement la MG et les protéines se concentrent au cours de l'affinage.

L'humidité relative agit indirectement sur la teneur en matière sèche au cœur du fromage (Riahi, 2006). Selon Vassal et al (1986), le taux de matière grasse est corrélé à l'extrait sec.

L'analyse statistique d'EST et ESD, MG et Protéines et l'analyse comparative pour le camembert industriel et le camembert artisanal montrent qu'il existe des différences significatives aux différents stades d'affinage ainsi qu'au même stade d'affinage pour ces paramètres et ceci est confirmé par l'analyse de la variance qui donne des valeurs de probabilités inférieure à $\alpha=0,05$ (Voir annexe 20 tableau de 7 à 15).

I.3. Suivi de la protéolyse par le dosage des acides aminés libres

Les résultats obtenus avec la méthode de TNBS pour le dosage d'acides aminés libre pour le camembert sont représentés dans les figures 12 et 13

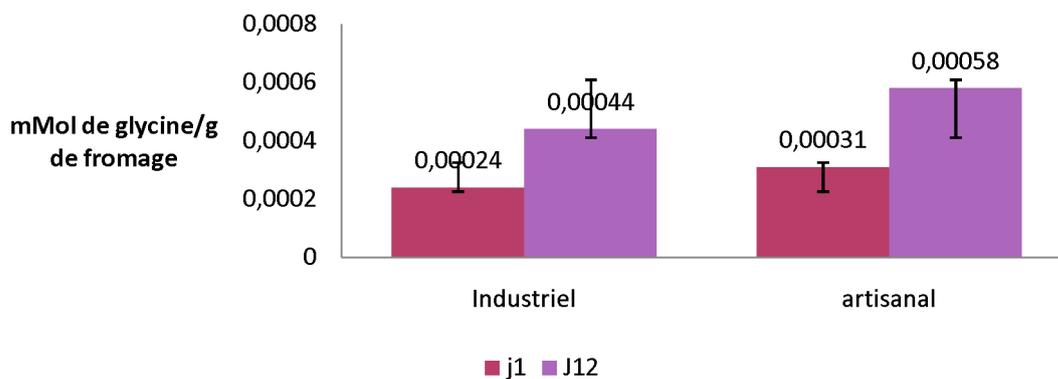


Figure13 : Evolution de la des acides aminés libres au cours de l'affinage pour la solution fromagère en mMol glycine/g fromage

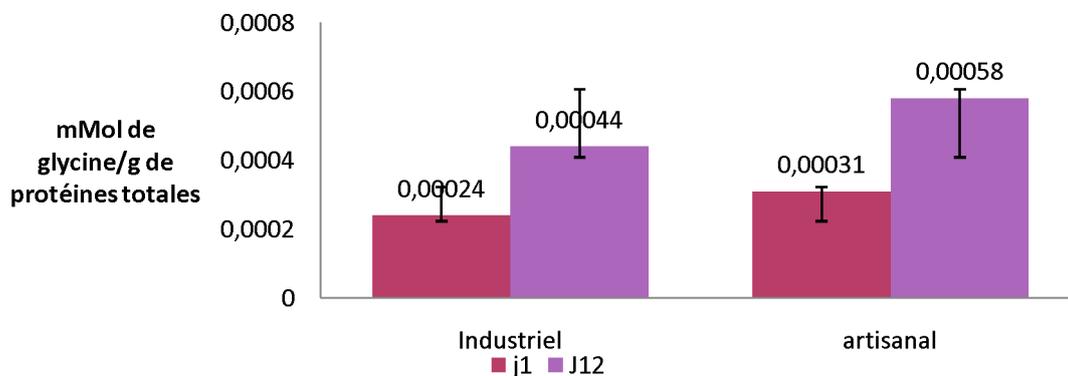


Figure 14: Evolution de la des acides aminés libres au cours de l'affinage pour les protéines sériques en mMol glycine/g de protéines totales.

La méthode de TNBS permet d'avoir une idée sur la cinétique de l'évolution de la protéolyse pour les fromages. Les taux d'acides aminés libres augmentent au cours de l'affinage. L'analyse de la variance confirme qu'il y a une différence hautement significative avec une probabilité de 0,01 dans le cas de l'évolution des acides aminés libres dans les solutions fromagères pour les deux fromages (voir annexe 20 tableau 19) et une différence significative dans le cas des protéines sériques pour le fromage artisanal avec une probabilité de 0,01 et une différence très hautement significative pour le fromage industriel avec une probabilité de 0,0008 (Voir annexe 20 tableau 20).

Une analyse comparative au même stade d'affinage pour les deux fromages a été également effectuée et montre qu'il existe une différence très hautement significative (Voir annexe 20 tableau 21).

Etant bien corrélée aux méthodes classiques de suivi de la protéolyse dans le fromage (Kuchroo *et al*, 1983), la procédure au TNBS permet d'évaluer, de façon plus fiable, l'état de dégradation des protéines dans les Camemberts testés selon le temps d'affinage considéré. En effet, chaque liaison peptidique hydrolysée, sous l'action d'enzymes protéolytiques, libère un radical NH₂ libre qui réagit avec cet acide.

Au niveau de l'affinage du Camembert, les travaux ont montré que la protéolyse est déclenchée initialement par l'enzyme coagulante : la présure (Desmazeaud *et Spinnler*, 1997), puis elle est poursuivie par l'action de la plasmine, notamment sur la caséine β . Ces deux enzymes sont surtout impliquées dans la dégradation primaire des protéines du fromage où les caséines sont scindées en gros peptides (Grappin *et al*, 1985 ; Bertrand, 1988). Ces derniers, seront repris par le complexe enzymatique microbien donnant naissance à des peptides courts et acides aminés libres.

Selon Gripon *et al* (1976), la libération des peptides par la présure seule est suffisamment importante pour atteindre, en fin d'affinage, des valeurs d'azote soluble de l'ordre de 32% de l'azote total du Camembert.

Les résultats obtenus montrent une évolution progressive des groupements aminés au fur et à mesure que le stade d'affinage augmente.

Notons que la méthode au TNBS a été utilisée par Polychroniadou (1988) sur des fromages à pâtes dures et par Humbert *et al* (1989) sur des pâtes molles type brie. Ces auteurs ont pu mesurer l'augmentation progressive de la teneur en groupements aminés libres au cours de l'affinage, de ces fromages.

II. Résultats microbiologique

II.1. Résultats microbiologique du lait

Les résultats des analyses microbiologiques des laits utilisés, le lait cru pour la fabrication fromagère artisanale, lait de mélange pasteurisé dans la fabrication fromagère industrielle sont exprimés en UFC/ml sont présentés dans le tableau XI :

Tableau XI : Résultats de l’analyse microbiologique du lait

Production 1, 2, 3	Lait cru de mélange pasteurisé	Lait cru
La flore mésophile totale	2,54.10 ⁴ UFC/ml	2,98.10 ⁵ UFC/ml
Lactobacillus lactiques	1.5.10 ² UFC/ml	2,24.10 ⁴ UFC/ml
Streptococcus lactiques	0.9.10 ² UFC/ml	1,44.10 ⁴ UFC/ml
Levures et moisissures	Abs	7,63.10 ¹ UFC/ml
Coliformes totaux	Abs	3,1.10 ² UFC/ml
Coliformes fécaux	Abs	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	
ATB	Abs	

II.1.1.Recherche d’antibiotiques :

Nous remarquons que le lait de vache qui est destiné à la fabrication du camembert, est caractérisé par une absence totale d’antibiotique, donc ce lait a une sélection bien affectée pour la fabrication du camembert.

La présence de résidu d’antibiotique présente des risques directs ou indirects pour le consommateur, il peut aussi être l’origine de l’inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d’origine bactérienne.

II.1.2. Flore mésophile aérobique totale (FTAM)

Dans le cas du lait de mélange pasteurisé le résultat $2,54.10^4$ UFC/ml est conforme a la norme établie dans le journal officiel qui est de 10^5 UFC/ml, par contre dans le cas du lait cru le résultat obtenu qui est de $2,98.10^5$ UFC/ml dépasse la norme, ceci peut être expliqué par l'absence de microfiltration.

Des échantillons de lait seraient qualifiés de mauvaise qualité si on se référait aux normes algériennes qui fixent le seuil de contamination à 10^5 UFC/ml et malgré une température relativement basse (Amhoury et al, 1998).

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

Ils révèlent un manque de respect des bonnes pratiques de production et de stockage du lait de la traite du soir qui va ensuite être mélangé avec le lait de la traite du lendemain matin, et au niveau de la multitude des transvasements (Amhoury et al, 1998).

La flore mésophile aérobique totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait (Guiraud et Rose, 2004).

II.1.3. Flore lactique

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans les équilibres microbiens du lait (Caridi et al, 2003).

✓ *Lactobacillus lactiques*

Le lait de mélange pasteurisé analysés semble être moins chargé en lactobacilles mésophiles avec une valeur de $1.5.10^2$ UFC/ml, par rapport au lait cru analysés dont la valeur est de $2.24.10^4$ UFC/ml.

Les niveaux de lactobacilles retrouvés dans les laits crus sont assez faibles pour les laits de vache et de chèvre. Ils se situent entre 10 et 100 ufc.ml⁻¹(Desmasure et al, 1997 ; Michel et al, 2001 ; Tormo et al, 2010 ; Malet et al, 2010).

Les lactobacilles sont les bactéries lactiques les plus ubiquitaires (Desmazeaud, 1982), leurs taux faible dans le lait de mélange est le résultat de la pasteurisation, ces bactéries seront apportés par le levain lors de la fabrication fromagère, par contre lors de la fabrication fermière les ferments sont apportés par le lait cru lui même, ces derniers peuvent s'implanter et se développer dans les fromages avec une forte capacité invasive. Dans le Comté, (Bouton et al, 2002) ont montré que *lactobacilles* originaire du lait cru se maintenait dans les fromages, alors que les lactobacilles utilisées comme levain, avait disparu en quatre semaines dans le Cheddar.

✓ Streptocoques lactiques

Dans le lait de mélange pasteurisé le résultat est de $0,9.10^2$ UFC/ml inférieur a celui du lait cru qui est de l'ordre de $1,44.10^4$ UFC/ml.

Les streptococcus lactiques jouant un grand rôle dans la protéolyse des caséines et des peptides dans le fromage jusqu'au stade des acides aminés (Kawai et al, 1999) ; (Wasiljevic et al, 2005).

Cependant, il a été clairement démontré que les streptocoques lactiques du levain exercent un rôle déterminant dans la formation de la flaveur du fromage comme le Cheddar. On obtient des fromages de Cheddar de bonne qualité organoleptique lorsqu'on utilise comme levains des cultures pures de streptocoques qui sont incapable d'atteindre des populations maximales élevées dans le caillé, qui associe d'une part la flaveur médiocre et l'amertume lorsque ces bactéries atteignent 10^{10} UFC/ml.

II.1.4.Coliformes totaux

Les coliformes totaux semblent être absents dans le lait de mélange pasteurisé, et avec une valeur de $3,1.10^2$ UFC/ml dans le cas du lait cru analysés. La réglementation algérienne ne définit pas de norme pour cette flore dans le lait. Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par des études similaires (Quinine et al, 2004) avec ($1,01.10^7$ UFC/ml), et par (Afif et al, 2008) avec $3,2.10^4$ UFC/ml, au Maroc.

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 (Larpent, 1990).

Les laits crus sont relativement chargé en coliforme. La flore lactique joue un rôle antagoniste vis-à-vis de la flore nuisible, et particulier les coliformes, ces derniers devraient présenter un taux d'autant plus faible que la flore lactique est abondante (Bourgeois, 1981).

II.1.5. Coliformes fécaux

Les résultats montrent l'absence des coliformes fécaux dans le lait cru et aussi le lait cru de mélange pasteurisé. Ceci témoigne les bonnes conditions de la traite ainsi que le respect de l'hygiène.

L'absence des coliformes fécaux dans le lait cru répond à la norme Algérienne qui est fixée à 10^3 UFC /ml. Ceci est peut être dû au fait que les étables possèdent des mécanisations de la traite et lavage systématique des mamelles en métal (Akhtar et *al*, 2001).

La présence de coliformes fécaux est souvent associée à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella*, les *Shigella*, les *Yersinia* et certains biotypes d'*E.coli* (Guiraud et Rose, 2004). Aussi, les coliformes fécaux sont des *Escherichia coli* dans 95 à 99% des cas (Rozier et *al*, 1985).

La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale, il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi qu'à la mauvaise manipulation (Guiraud et Rose, 2004).

II.1.6. *Staphylococcus aureus*

La recherche des staphylocoques dans les deux types du lait est négative.

La norme concernant *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru et les résultats obtenus ne sont conformes à la norme (JORA, 1998).

Selon (Booth et Dodd, 2000), le *Staphylococcus aureus* est considérée 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.

S. aureus peuvent avoir aussi une origine intra-mammaire due aux mammites subcliniques des vaches. Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie est responsable d'une proportion importante des mammites sub-cliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques. Les quantités de *S. aureus* excrétées dans le lait des quartiers infectés peuvent être considérables, de 10^3 à 10^5 bactéries/ml en moyenne, mais peuvent atteindre 10^6 bactéries /ml en cas d'infection sub-clinique, et jusqu'à 10^8 bactéries/ml en cas d'infection clinique (Bassa et *al*, 2010).

II.2. Résultats de l'évolution microbienne au cours de l'affinage du fromage :

II.2.1. Fromage industriel

Les différents résultats issus de dénombrement des groupes microbiens dans le camembert industriel « Fermier » sont présentés dans le tableau XII

Tableau XII : Résultats d'analyses microbiologiques du camembert industriel « fermier »

	1 ^{er} jour	6 ^{ème} jour	12 ^{ème} jour
FTAM	2.2.10 ⁶ UFC/g	1.1.10 ⁶ UFC/g	3.10 ⁵ UFC/g
Coliforme totaux	Abs	Abs	Abs
Coliforme fécaux	Abs	Abs	Abs
Lactobacilles lactique	6.8.10 ⁴ UFC/g	1.9.10 ⁵ UFC/g	2.3.10 ⁵ UFC/g
Streptocoque lactique	1.5.10 ⁴ UFC/g	1.9.10 ⁵ UFC/g	2.10 ⁵ UFC/g
Levure et moisissure	6.10 ³ UFC/g	1.5.10 ⁴ UFC/g	1.8.10 ⁵ UFC/g

✓ Flore mésophile aérobie totale

Cette flore varie tout au long de l'affinage, à partir de lait jusqu'au premier jour d'affinage 2,2.10⁶ UFC/g, on constate une évolution régressive de cette flore pour atteindre une valeur de 3.10⁵UFC/g au dernier jour d'affinage. Cette évolution peut être expliquée par deux facteurs intrinsèques tels que le pH acide et la présence de composés antimicrobiens générés par les ferments utilisés qui peuvent avoir des effets inhibiteurs dans le fromage (Lenovich, 1987).

Certains facteurs tels que le stade de lactation et l'ensilage influent sur la qualité du lait utilisé en fabrication fromagère type « camembert ». En effet, le lait est chargé en cellules microbiennes en début de lactation puis cette charge se réduit vers la fin des 10 derniers mois. De même, l'ensilage peut contenir différentes bactéries lactiques (pédiocoques, lactobacilles, coliformes) qui se transmettent au lait puis au fromage (Montel et Chatelard- Chauvin ,2014).

✓ Coliformes

Une absence de coliformes totaux et fécaux a été enregistrée dans les fromages industriels, il présente une bonne qualité hygiénique, qui serait le résultat du traitement thermique subit (pasteurisation) et de bonnes conditions d'hygiène lors de sa fabrication.

Selon (Buňková et Buňka, 2015), la qualité microbiologique du fromage dépend principalement de la qualité microbiologique de la matière première utilisée, des conditions d'hygiène pendant la production ainsi que du type de matériau d'emballage et des conditions de stockage.

✓ Flore lactique

Les bactéries lactiques sont des bactéries Gram positif produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples tels que le glucose et le galactose (Axelsson, 2004).

Elles jouent un rôle majeur dans l'acidification du lait et du caillé. Ce sont également des agents de l'affinage des fromages, par leurs aptitudes protéolytiques et lipolytiques (développement du goût, des arômes et de la texture) (Singleton, 2002).

Elles ont un rôle dans le développement des caractéristiques de divers fromages, son élimination provoque la réduction de la flaveur et de l'effet bio-conservateur. Les traitements thermiques ont pour but d'éliminer les agents pathogènes et de réduire la flore d'altération, mais ils conduisent parallèlement à la destruction de la flore lactique qui présente un intérêt technologique. L'équilibre entre la charge des bactéries banales et des bactéries lactiques réside dans les pratiques d'hygiène à la ferme lors de la collecte du lait cru et surtout de la désinfection. Une désinfection excessive conduit à un déclin de la diversité des bactéries du lait cru, ce qui fournit un produit fini de mauvaises qualités microbiologique et sensorielle (Tormo et *al*, 2010).

- Lactobacilles

Le nombre des lactobacilles évolue tout au long de l'affinage allant d'une valeur $6,8 \cdot 10^4$ UFC/g au premier jour d'affinage jusqu'au dernier jour d'affinage avec une valeur de $2,3 \cdot 10^5$ UFC/g.

- Streptocoque lactique

Les streptocoques évoluent d'une manière progressive tout au long de l'affinage pour atteindre à la fin de l'affinage une valeur $2 \cdot 10^5$ UFC/g. Nos résultats sont proches de ceux portés par (Dahou, 2017) avec des valeurs de 10^6 à 10^7 UFC/g.

Les bactéries lactiques sont des bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples tels que le glucose et le galactose (Axelsson, 2004).

Elles jouent un rôle majeur dans l'acidification du lait et du caillé. Ce sont également des agents de l'affinage des fromages, par leurs aptitudes protéolytiques et lipolytiques (développement du goût, des arômes et de la texture) (Singleton, 2002).

✓ Levures et moisissures

On remarque une évolution importante des levures et moisissures et cela à partir du premier jour d'affinage avec une valeur de $6,2 \cdot 10^3$ UFC/g jusqu'au dernier jour d'affinage avec une valeur de $1,8 \cdot 10^5$ UFC/g. La croissance de ces derniers est favorisée par le pH acide du milieu ainsi la consommation de l'acide lactique produit par les bactéries lactiques.

Elles interviennent dans la désacidification de la pâte au début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible comme les bactéries coryneformes, et interviennent également dans la formation du goût (Leclercq-Perlat et al, 2004 ; Mounier et al, 2007). Les moisissures sont responsables du feutrage blanc des camemberts (Irlinger et al, 2015).

II.2.2. Fromage artisanal

Les résultats microbiologiques du fromage artisanal « Saint amour » sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XIII: résultats de l'analyse microbiologique du camembert artisanal « Saint amour »

	1 ^{er} jour	6 ^{ème} jour	12 ^{ème} jour
FTAM	$3.6 \cdot 10^6$ UFC/g	$2 \cdot 10^7$ UFC/g	$2.7 \cdot 10^7$ UFC/g
Coliforme totaux	$3 \cdot 10^3$ UFC/g	$4.8 \cdot 10^2$ UFC/g	3.6 UFC/g
Coliforme fécaux	$1.4 \cdot 10^3$ UFC/g	$9.2 \cdot 10^2$ UFC/g	5.1 UFC/g
Lactobacilles	$1.1 \cdot 10^5$ UFC/g	$2.2 \cdot 10^6$ UFC/g	$7.2 \cdot 10^6$ UFC/g
Streptocoque lactique	$5.1 \cdot 10^5$ UFC/g	$7.8 \cdot 10^6$ UFC/g	$2.11 \cdot 10^7$ UFC/g
Levure et moisissure	$4.6 \cdot 10^4$ UFC/g	$5.9 \cdot 10^5$ UFC/g	$1.9 \cdot 10^6$ UFC/g

✓ Flore mésophile aérobie totale

Le nombre de germes totaux évolue progressivement au cours de l'affinage partant de $3,6 \cdot 10^6$ UFC/g au premier jour d'affinage jusqu'à une valeur de $2,7 \cdot 10^7$ UFC/g au dernier jour de l'affinage. Ces valeurs sont plus importantes dans ce fromage artisanal par rapport au fromage industrielle, ceci peut être dû à l'absence de pasteurisation dans la fabrication fermière.

Nos résultats sont proches de ceux trouvés par (Abdelhak Driouich, 2011) avec une moyenne de $1,4 \cdot 10^7$ UFC/g.

Ce développement accru peut être expliqué par la désacidification de la pâte autrement dit Phase de neutralisation après le développement du *Penicillium* cette désacidification permet l'implantation de la flore acido-sensible et halotolérante en surface (Hassouna et al 1996).

La flore totale d'un fromage à pâte molle peut atteindre au moins 10^8 bactéries/g s'il est fabriqué d'une manière manuelle et en absence d'une réfrigération du lait (Richard et Zadi, 1983).

✓ Coliformes totaux

De part l'absence de la pasteurisation et la traite manuelle et la fabrication artisanale dans le fromage fermier, les coliformes totaux sont présents à des valeurs plus ou moins importantes, ces derniers baissent au cours de l'affinage.

✓ Coliformes fécaux

Les résultats du dénombrement de cette flore varient tout au long de l'affinage avec une valeur égale à $1,4 \cdot 10^3$ UFC/g au premier jour d'affinage qui semble être élevée par rapport à la norme établie par le (JORA 1998) qui est de 10^3 UFC/g. Cette valeur tend à diminuer tout au long de la maturation.

Après le premier jour d'affinage cette flore évolue d'une manière régressive pour atteindre des valeurs de $5,1$ UFC/g au dernier jour d'affinage, ce résultat qui est en adéquation avec la norme citée auparavant. Ces valeurs restent inférieures à celles citées par (Hamama, 2001) qui ont été de $2 \cdot 10^4$ UFC/g.

Cette diminution peut être expliquée par le pH acide du camembert ou bien par la présence de substances inhibitrices qui ont freiné leurs proliférations.

➤ La flore lactique

Le dénombrement de la flore lactique de ce fromage montre que cette flore est plus élevée dans ce fromage.

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans les équilibres microbiens du lait. Ainsi, leur développement excessif ou insuffisant peut induire des défauts de texture et de goût des fromages. Elles constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments, du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles (Caridi *et al*, 2003). En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes, comme des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du dioxyde de carbone, de la reutéline, du diacétyle et des bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

• Lactobacilles

Les lactobacilles évoluent d'une manière progressive pour atteindre au dernier jour d'affinage une valeur de $(7.2.10^6 \text{ UFC/g})$.

Cette flore est plus importante dans ce camembert par rapport au camembert industriel ceci est confirmé par l'analyse statistique comparative qui nous donne une différence significative au dernier jour d'affinage.

• Streptocoque lactique

Les streptocoques lactiques évoluent d'une manière significative tout au long de l'affinage d'une manière similaire aux lactobacilles avec une valeur de (2.10^7 UFC/g) au dernier jour d'affinage.

Selon (Aissaoui Zitoun, 2006), La microflore du fromage de ferme est formée essentiellement de bactéries lactiques : les streptocoques lactiques mésophiles (4,9 et 7,52 LOG UFC/g) et les lactobacilles mésophiles (5,48 et 7,75 LOG UFC/g). De même, dans les fromages d'expérimentations la présence de ces groupes bactériens est marquée par une charge variant entre 6 et 7 LOG UFC/g. Cette flore est plus importante dans ce camembert par rapport au camembert industriel.

✓ Levures et moisissures

Les levures et moisissures évoluent d'une manière importante lors de l'affinage pour atteindre une valeur maximale au dernier jour d'affinage qui est de $(1.9.10^6 \text{UFC/g})$. Leurs croissances sont favorisées par le pH acide du milieu ainsi la consommation de l'acide lactique produit par les bactéries lactiques.

Les levures et les moisissures désacidifient la surface des fromages. En oxydant le lactate, du CO_2 est émis, celui-ci contribue à l'augmentation du pH qui passe de 4,8 à 5,8, voir plus, Ils sont considérés comme des microflore d'intérêt technologique en transformation fromagère. Largement employé comme levain d'affinage en particulier pour les fromages à pâte molle et à croûte fleurie, (Pottier et *al*, 2008). Les levures et moisissures jouent un rôle important que se soit dans l'apparence du camembert mais aussi dans la production d'aromes.

II.2.3. Recherche de *S. aureus* dans les fromages :

Une bactérie pathogène a été recherché dans le camembert industriel « le fermier » et le camembert artisanal « Saint amour », il s'agit de *Staphylococcus aureus* les résultats obtenus sont présenté dans le tableau suivant XIV

Tableau XIV: résultats de la recherche des bactéries pathogènes dans les deux camemberts

	1 ^{er} jour d'affinage	6 ^{ème} jour d'affinage	12 ^{ème} jour d'affinage
<i>S.aureus</i>	Abs	Abs	Abs

Les résultats obtenus montrent l'absence de ce germe tout au long de la fabrication du fromage, ce qui est conforme à la norme établie par le (JORA 1998).

La recherche de ce germe est très intéressent vu le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques, qui est dû à la production d'une enterotoxine, elle n'est détruite ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage des fromages (El atyqy, 2008).

La recherche de *S.aureus* dans le camembert industriel « fermier » fabriqué à base du lait pasteurisé semble être négative .Ce qui peut être expliqué par les conditions physicochimiques de la masse fromagère défavorables à leur croissance. Par exemple la baisse du pH grâce aux acides organiques qui sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation qui permettent d'inhiber la croissance des bactéries qui ne peuvent

se développer à pH acide. La pasteurisation du lait aussi élimine une grande partie des bactéries indésirables et l'absence de celle-ci tout au long de la fabrication témoigne l'absence d'une recontamination et le respect des conditions d'hygiène au long de la fabrication.

La recherche des *S. aureus* dans le camembert « Saint amour » fabriqué à base du lait cru n'ayant subi aucun traitement thermique semble être négative. Ce qui peut être expliqué par les conditions physicochimiques de la masse fromagère défavorables à leur croissance. Par exemple le pH, lorsque celui-ci s'éloigne de la neutralité la survie des bactéries semble affecté négativement. Selon Vignola (2002), Les acides organiques qui sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation permettent d'inhiber la croissance des levures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide.

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la conservation des produits alimentaires, elles sont capables de produire une variété de produits inhibiteurs dont les effets peuvent se répercuter sur la flore lactique elle-même mais aussi sur la flore indésirable ou pathogène (Piard et Desmazaud, 1991).

II.3. Résultats du suivi des activités biologiques

II.3.1. Activités antioxydantes

Dans notre étude, nous avons essayé de mettre en relief l'activité anti-oxydante dans les différentes fractions des protéines dans les deux fromages par l'utilisation de deux méthodes : Pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau XVI

Tableau XVI : Résultats de l'évolution de l'activité anti-radicalaire et du pouvoir réducteur dans les différentes fractions des protéines des fromages au cours de l'affinage.

Activités	Fermier	J1	J12	Saint-amour	J1	J12
Activités anti-radicalaire(%)	SF	19	53	SF	34,43	75,76
	S	5,38	23,03	S	24	40
Pouvoir réducteur	SF	0,22	0,24	SF	0,21	0,27
	S	0,048	0,14	S	0,11	0,17

SF : Solution fromagère, S : Surnageant

Il aurait été intéressant d'utiliser les mêmes concentrations de la vitamine C pour déterminer l'IC50, on s'est contenté de déterminer la concentration équivalente en vitamine C pour les mêmes activités anti oxydantes que celles retrouvées dans les fromages.

D'après les résultats obtenus on remarque une évolution remarquable du pouvoir réducteur ainsi que du pouvoir inhibiteur dans les deux types de fromages au cours de l'affinage avec des proportions plus intense dans le fromage artisanal « saint-amour ».

Le DPPH qui est un radical libre a été largement utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes des protéines (Klompong, Benjakul, Kantachote, & Shahidi, 2007) et une activité de piégeage de DPPH relativement élevée a été observée.

Selon les résultats obtenus pour le pouvoir réducteur on remarque que la solution fromagère testée ainsi que les protéines sériques ont une habilité à réduire l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} mais avec des aptitudes différentes.

Selon Salami et al, (2010) les protéines doivent leurs activités anti-oxydantes à la présence de certains acides aminés dans leur structure primaire. A partir de nos résultats on remarque que l'activité anti oxydante présente dans les différentes fractions des protéines des fromages augmente au cours de l'affinage avec des taux différents, ceci peut être du à la libération d'AAL grâce à la protéolyse au cours de l'affinage.

En effet selon Blandras (2008), ces peptides inactifs lorsqu'ils sont encore inclus dans la séquence de la protéine dont ils sont issus, peuvent être libérés par protéolyse.

D'après Wolosiak (2006), en plus d'une source des acides aminés les caséines peuvent jouer un rôle comme antioxydant, ce qui est peut être lié à la capture des radicaux libres par les résidus d'histidines. Saiga et al, (2003), ont aussi attribués le pouvoir antioxydant des protéines aux acides aminés issus de leurs hydrolyses, Cette activité antioxydante est donc liée à la teneur en caséines vu que c'est la major protéines du lait.

L'hydrolyse des caséines αS_1 par les enzymes du lait et les protéases microbiennes donnent naissance à des peptides riche en histidine et sont chargé positivement ce qui leurs confèrent un potentiel anti radicalaire. Ces peptides s'accumulent durant l'affinage et avec ceci augmente le pouvoir réducteur et anti radicalaire du fromage (Ardo et al, 2009).

Hayes et al, (2007) ont montrés que la combinaison suivante d'acides aminés (Pro-his-his) été identifié comme le centre de plusieurs peptides qui ont un pouvoir anti-oxydant.

Selon Irshad *et al*, (2013), les fractions avec 1kDa issus de l'hydrolyse des caséines présentaient le maximum pouvoir de chélation des radicaux libres. Des études similaires avaient montrés que les peptides ayant moins de 3kDa exerçaient la plus forte activité antioxydante par rapport à d'autres peptides ayant plus de 3kDa (Chang *et al*, 2013).

Le potentiel antioxydant (PA) est une propriété nutritionnelle importante des aliments. Dans les produits laitiers, la fraction protéique contient une activité antioxydante, en particulier la caséine. Parmi les produits laitiers, les fromages présentent les PA les plus élevés en raison de leur teneur en protéines plus élevée. Le PA du lait augmente jusqu'à 2,5 fois pendant la digestion à cause des peptides antioxydants libérés. PA de la caséine est liée à des acides aminés spécifiques, alors que les groupes β -lactoglobuline thiol jouent un rôle majeur dans le PA du lactosérum. Les traitements thermiques tels que le traitement à ultra-haute température n'ont aucun effet sur le PA du lait. Les laits crus ont un PA plus élevé en raison des antioxydants lipophiles. Le PA pourrait participer aux effets protecteurs des produits laitiers rapportés contre certaines maladies chroniques (Farder et Rock, 2017).

Il est aujourd'hui incontesté qu'en plus d'une valeur nutritive, les protéines ont des propriétés fonctionnelles et biologiques. En effet ceci est confirmé par l'analyse statistique qui affirme qu'il y a une différence hautement significative entre les différents stades d'affinage (Voir annexe 20 tableau 22-27).

II.3.2.Détermination de l'activité antibactérienne en milieu gélosé

La révélation du spectre d'activité antibactérienne des extraits fromagers des deux types de camembert, artisanale « Saint amour » et industriel « Fermier » a été réalisée sur des bactéries pathogènes Gram positif *S.aureus* ATCC 25923 et à Gram négatif *E. coli* ATCC 25922.

Les résultats de l'antibiogramme utilisé pour les deux souches est illustré dans la figure 15

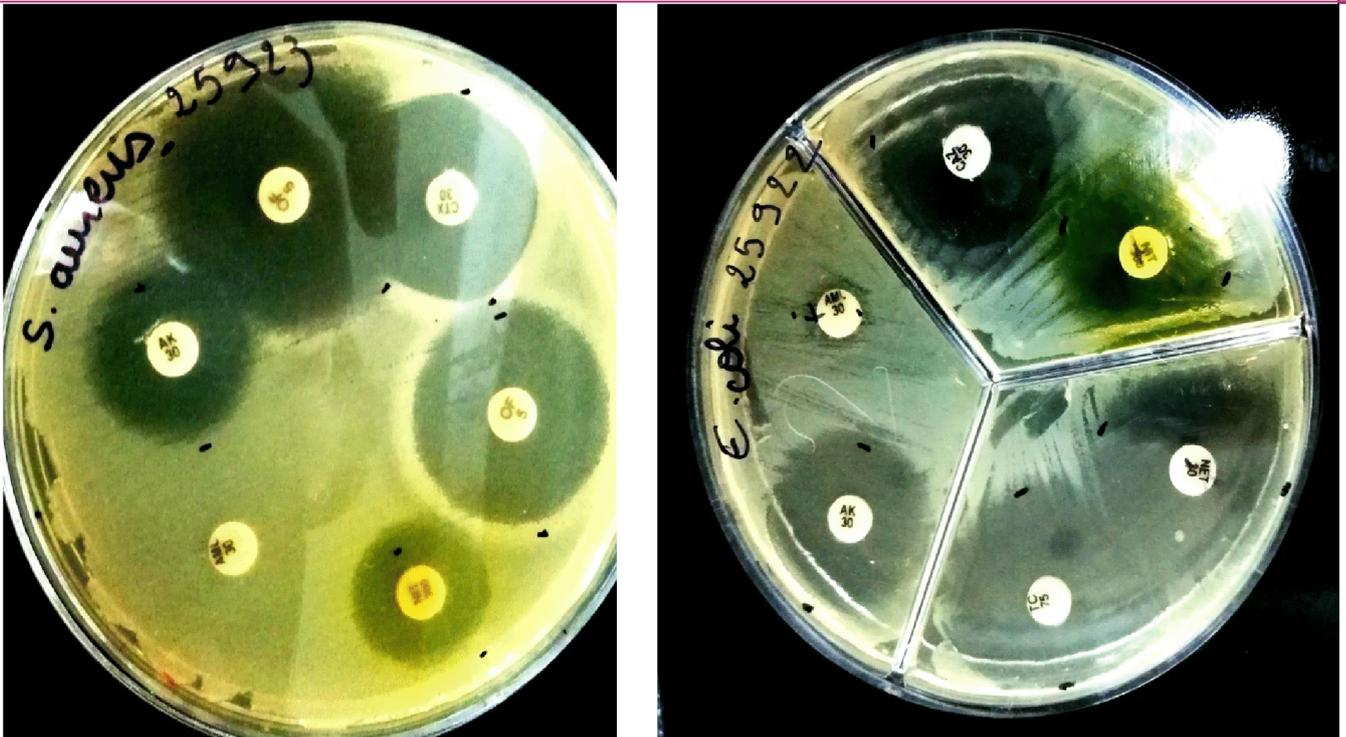


Figure 15 : Résultat de l'antibiogramme des souches ciblées *S.aureus* ATCC 25923 et *E.coli* ATCC 25922

Les résultats obtenus par la méthode des disques montrent l'apparition des halos transparents autour des disques imbibés de surnageant brute et neutralisé et de solution de lyophilisat, ces halos correspondent à des zones d'inhibitions comme le montre la figure 16.

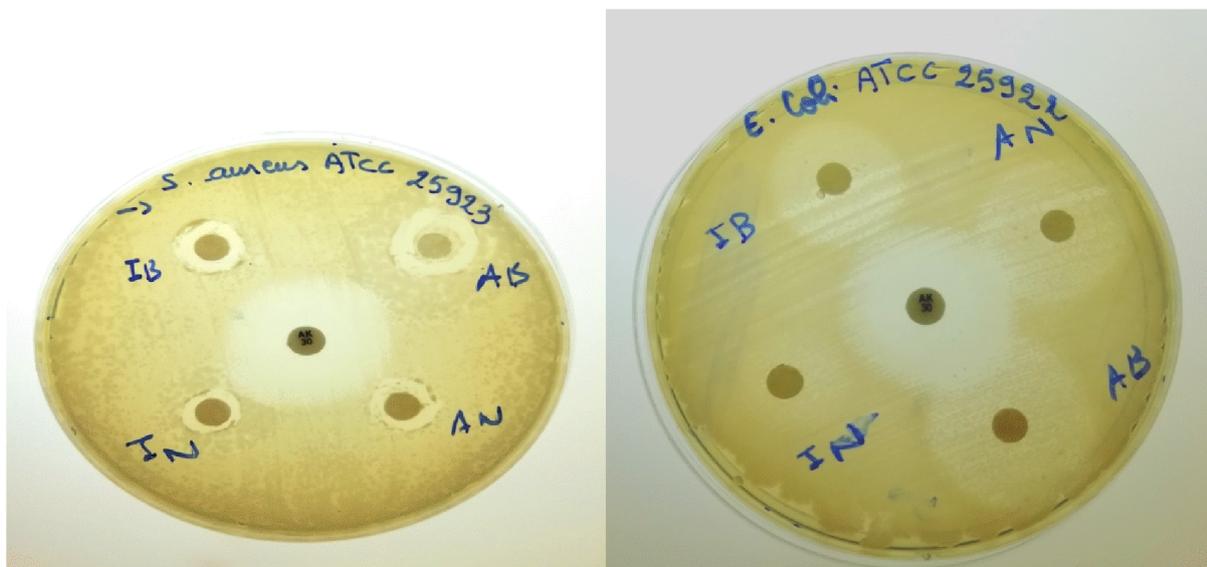


Figure 16: zones d'inhibitions du surnageant bruts et neutralisés vis-à-vis de *E.coli* ATCC 25922 et *S.aureus* ATCC 25923 dans les deux types de fromages. (IB : Industriel brut, IN : industriel neutralisé, AB : artisanal brut et AN : artisanal neutralisé).

La figure 17 montre les zones d'inhibitions obtenues vis-à-vis *E.coli* et *S.aureus* en testant le lyophilisat du surnageant à 50 mg/ml.

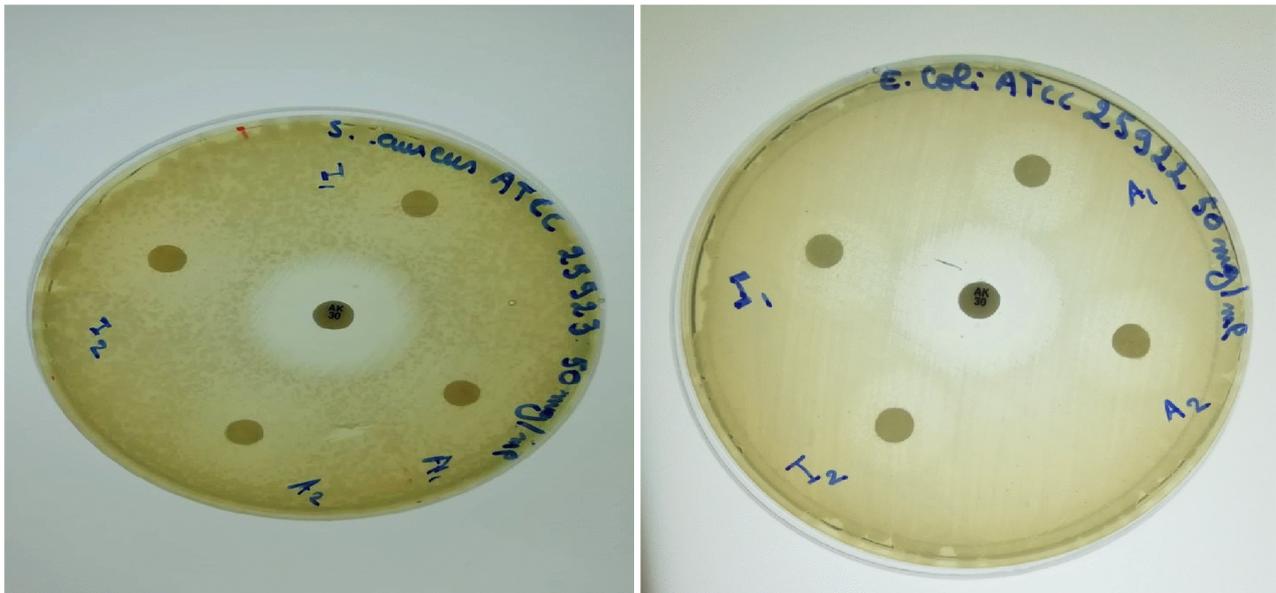


Figure 17 : zones d'inhibitions de solutions du lyophilisats du surnageant vis-à-vis de *E.coli* ATCC 25922 et *S.aureus* ATCC 25923.

L'élimination de l'effet des acides organiques, notamment des acides lactiques et acétiques par la neutralisation des extraits fromagers et ciblé le centre du fromage afin d'éviter l'effet de H_2O_2 n'entraînent pas la diminution du diamètre d'inhibition et montre que ces halos sont du à des substances autres que les acides organique vis-à-vis de *S.aureus* et *E.coli*, et la présence de zone d'inhibition autour du témoin AMIKACIN30 , témoigne qu'il a un effet inhibiteur envers ces bactéries . Les images suivante montre les différentes zones d'inhibition obtenues vis-à-vis *E.coli* et *S.aureus* dans les deux types du camembert « Saint amour » et « Fermier ».

D'après les résultats obtenus par les deux méthodes cités, on conclut que les deux types de fromages artisanale et industriel possèdent un caractère antibactérien vis à vis les deux souches pathogènes *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*.

Cela témoigne sur la présence de substance antibactérienne à l'égard des souches testées, ce qui pourrait confirmer la diminution des coliformes totaux et fécaux observé dans le fromage artisanal.

Cet effet peut être incriminé par la présence de bactériocines et de peptides bioactifs, ces derniers sont soutenus par l'augmentation des acides aminés libres issus de la protéolyse.

Ce caractère est largement recherché dans la bio conservation des aliments, cette méthode biologique qui a fait l'objet de nombreuses études. Elle consiste en une augmentation de la durée de vie et une amélioration de la sécurité sanitaire des produits alimentaires comme le fromage, grâce à l'utilisation de microorganismes et/ ou de leurs métabolites (Stiles, 1996 ; Ross *et al*, 2002).

Selon De Vuyst *et al*, (2007), les écosystèmes microbiens implantés sur les matrices fromagères exercent des effets protecteurs vis-à-vis de l'implantation d'autres flores par un ensemble de mécanismes plus ou moins spécifiques. En plus de mécanismes généraux comme la compétition nutritionnelle, de nombreuses souches de bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser des bactériocines.

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que se soit dans la bioconservation des aliments ou dans la biothérapie grâce à leur pouvoir d'inhiber les bactéries pathogènes et altérantes (Uehara *et al*, 2006 ; Dortu et Thonart, 2009 ; El-Ghaish *et al.*, 2011). Cette inhibition est conférée soit par la diminution du pH suite à la production d'acides organiques, ou par la production de différents autres métabolites tels le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl, le dioxyde de carbone, la reutérine et les bactériocines (Albano *et al*, 2007 ; Anas *et al*, 2008).

Les bactéries lactiques peuvent produire des bactériocines, des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène à activité antimicrobienne qui aident l'industrie à développer des aliments sur mesure visant certains segments de la population et améliorer la bio-conservation de ces produits (Mansel et Griffiths, 2008).

Les caséines, protéines majeures du lait, libèrent, par hydrolyse enzymatique différents peptides antimicrobiens avec un large spectre d'action (actifs aussi bien sur les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif) (Zucht *et coll.*, 1995 ; Recio et Visser, 1999 ; Malkoski *et coll.*, 2001 ; Mc Cann *et coll.*, 2006).

En plus des bactériocines, d'autres peptides pourraient jouer un rôle dans la conservation de certains fromages traditionnels : des fragments antimicrobiens de protéines lactiques ont été mis en évidence dans des fromages italiens tels que le Pecorino Romano, le Canestrato Pugliese, le Crescenza, et le Caprino del Piemonte (Rizzello *et al*, 2005) ou très récemment dans le Cheddar (Pritchard *et al*, 2010). Ces fragments de caséine seraient libérés par les différentes enzymes protéolytiques qui agissent sur ces protéines tout au long de l'itinéraire technologique d'élaboration d'un fromage et notamment au cours de l'affinage.

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques sont dérivées de la concurrence pour les nutriments et la production d'un ou plusieurs métabolites antimicrobiennes actifs tels que les acides organiques (principalement l'acide lactique et l'acide acétique), le peroxyde d'hydrogène et d'autres composants tels les bactériocines et les peptides antifongiques (*REIS et al., 2012*). Les bactériocines sont produites par la plupart des genres des bactéries lactiques y compris *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostocs*, *Streptococcus* et *Enterococcus* (*Grosu-tudor et al, 2014*).

L'étude de l'activité anti-*Listeria* de composés hydrosolubles du fromage italien Asiago d'allevato a mis en évidence la présence d'un potentiel antibactérien. Ce potentiel semble essentiellement lié à la présence de composés de poids moléculaire inférieur à 1 kDa, il est donc plus probable que l'activité antimicrobienne observée soit essentiellement due à des fragments peptidiques de petite taille des caséines qu'à des bactériocines (*NGUYEN- THI et al, 2013*).

Plusieurs études similaires ont mis en évidence la présence naturelle de peptides bioactifs dans des produits laitiers traditionnels comme les fromages (*Meisel et al, 1997* ; *Saito et al, 2000* ; *Rizzello et al, 2005* ; *Büetkofer et al, 2007*).

Silpha vij, (2014) et al ont pu sélectionner les bactéries lactiques qui présentait le plus fort pouvoir protéolytique vis-à-vis les caséines du lait ainsi de déterminer l'activité antimicrobienne des peptides issus de l'hydrolyse des caséines envers plusieurs bactéries pathogènes parmi eux *E. coli* et *S. aureus*. Ils ont pu montrer la forte activité protéolytique des lactobacilles sélectionnés ainsi que la forte activité antimicrobienne des peptides issus de l'hydrolyse envers les bactéries pathogènes testées.

Des études comparant la protéolyse d'un fromage Cheddar fait avec ou sans ferment lactique ont démontré l'importance de l'utilisation de ces microorganismes pour la libération de petits peptides et acides aminés au fil de l'affinage (*Farke et al, 1995* ; *Lynch et al, 1996*; *Lane et Fox, 1996*).

Les peptides bioactifs issus de l'hydrolyse des protéines du lait notamment les caséines peuvent remplacer les antibiotiques et les additifs dans la conservation des aliments vu leurs abondance, bon marché et ne présentent aucun danger pour la santé.

Conclusion

Cette étude a été menée dans le but de comparer deux types de camembert (industriel : Fermier et artisanal : Saint-amour) qui diffèrent dans leur processus de fabrication sur le plan physicochimique, microbiologique ainsi que l'évaluation des activités biologiques au cours de l'affinage par l'étude de l'activité anti oxydante et antimicrobienne.

Les résultats physicochimiques, ont montré que le pH est inversement proportionnel à l'acidité dornic et les teneurs en matière grasse, extrait sec totale, et les protéines évoluent d'une manière progressive tout au long de l'affinage.

La protéolyse a été évaluée par la méthode TNBS, a permis de mettre en valeur les différences entre les niveaux de protéolyse au cours de l'affinage avec des teneurs en groupements NH₂ libres plus importantes dans le fromage « Saint amour » comparé au fromage « Fermier ». Cette protéolyse peut libérer des peptides bioactifs dans le produit fini qui peut être d'une part à l'origine de l'augmentation des activités anti oxydantes qui ont été évaluées par le test de DPPH et le FRAP et de la diminution des coliformes.

Les résultats de l'activité anti-oxydante évalués par les deux méthodes (chélation des ions Fe²⁺ et l'utilisation d'un radical libre DPPH) ont montré l'existence d'un potentiel anti oxydant ce dernier augmente du premier jusqu'au dernier jour d'affinage avec des niveaux plus élevés dans le fromage artisanal par rapport au fromage industriel.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des deux camemberts artisanal et industriel vis-à-vis des germes cible *E.coli* ATCC 25922 et *S.aureus* ATCC 25923 a montré l'apparition de zones d'inhibition autour des disques imprégnés des surnageants, bruts neutralisés et des solutions de lyophilisats à 50mg/ml. Cette activité peut être attribuée soit aux bactériocines soit aux peptides bioactifs pouvant être à l'origine de la diminution des coliformes dénombrés dans le fromage artisanal observés entre le 6^{ème} et le 12^{ème} jour.

Le dénombrement des principales flores nous a permis de constater que Le fromage « Saint amour » renferme une microflore importante par rapport au fromage « Fermier », qui est essentiellement constituée de bactéries lactiques dont la charge prédomine largement les autres flores dénombrées, avec un taux de $2,11 \cdot 10^7$ UFC/g dans le fromage artisanal et $2 \cdot 10^5$ UFC/g dans le fromage industriel.

De part sa richesse en macro et micronutriments qui ont un effet bénéfique sur la santé le camembert possède aussi d'importantes activités biologiques qui sont : l'effet antioxydant et l'effet antibactérien comme ils ont été montrés dans cette étude, ces dernier sont plus important dans le fromage fermier comparer au fromage industriel. L'exploitation de ce genre de résultats permet de mieux valoriser le camembert fermier au lait cru en Algérie et d'encourager la production artisanal pour produire un produit de terroirs nationaux de qualité et bénéfique pour la santé, et c'est ce qui va contribuer à l'amélioration de l'économie rurale surtout dans les régions montagnardes.

Cette étude mérite d'être consolidée par des études plus poussées en utilisant des méthodes beaucoup plus précises et fiables comme CPG, HPLC, CGMS en passant par les techniques d'électrophorèse permettant un meilleur suivi de la protéolyse. La technique de Zymogramme permet de déterminera le poids moléculaire des peptides à activité antibactérienne qui par séquençage met en valeur l'origine des peptides (bactériocine ou peptides bioactifs).

Références bibliographiques

A

ABADIA-GARCIA L., CARDADOR A., 2013. del Campo S.T.M et al. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. *Int. Dairy J.* 33:191-7.

ABDELMALEK Y., GIBSON I., 1952. Studies on the bacteriologie of milk, *J, Dairy Res* 19-294.

ADLER-NISSEN J., 1979. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of agriculture and food chemistry.*

ADRIAN J., 1987. Valeur alimentaire du lait. *La maison rustique*, Paris 85-95.

AFIF A., FAID M. et NAJIMI M., 2008. Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Institute agronomique et vétérinaires Hassan II, Rabat, Maroc.* pp: 2-7.

AFNOR., 1980. Recueil des normes françaises. Laites et produits laitiers Méthodes d'analyses, 33-34.

AISSAOUI-ZITOUN O., CARPINO S., RAPISARDA T., BELVEDERE G., LICITRA G., ZIDOUNE M N., 2016. Use of smart nose and GC/MS/O análisis to define volatile fingerprint of a goatskin bag cheese "Bouhezza". *Emi. J. Food Agric.*, vol 28.

AISSAOUI ZITOUN O. ET ZIDOUNE M N., 2006. Le fromage traditionnel algérien *Bouhezza*. Séminaire d'Animation Régional Technologies douces et procédés de séparation. AUFGP3A-NSAT, Tunis, Tunisie, 118-124.

AKHTAR M., ASHFAQUE M., HUSSAIN I. et KASHIFA K., 2001. Bacteriological studies on raw milk supplied to Faisalabad city during summer months, *Pakistan Vet. J.* 21, 2. pp: 77-80.

ALAIS C., 1965. Sciences du lait- principes et techniques laitiers. 2ème edd. SE PAIC, Paris 129.

ALAIS C., 1984. Science du lait. Sepaic, Paris.

ALAIS C., 1984. Science du lait, principe des techniques laitière, Edition : la maison rustique. 500p.

ALAIS C., 1984. Sciences du lait : principes et techniques laitiers. 4ème édition.- Paris: Edition SEPAIC.-814 p.

Références bibliographiques

- ALAIS C. et LINDEN G., 1993.** Biochimie alimentaire. Masson ,2ème édition paris.
- ALAIS C. et LINDEN G., 1997.** Abrégé de biochimie alimentaire.4ème édition. Masson. 248 p.
- ALAIS C. et LINDEN G., 2004.** Biochimie alimentaire. 5èmeEdition Masson(Paris), 520p, 162-164.
- ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L., 2008.** Biochimie Alimentaire, DUNOD, 6^{ème} Ed., Paris.
- AL OTAIBI M. AND WILBEY A., 2004.** Effects of temperature and salt on maturation of white-salted cheese . International Journal of Dairy Technology 57; 57-63
- AMAMCHARLA J.K., METZGER L.E., 2014.** Modification of the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay to determine the susceptibility of raw milk to oxidation. Int. Dairy J. 34:177-9.
- AMELLAL R., 1995.** La filière du lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. *CIHEAM. Options Méditerranéennes Série B*, n14 Pp : 229-238.
- AMHOURI F., SAID B., HAMAMA A. et ZAHAR M., 1998.** Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la region d'Errachidia. Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc) 18 (1). pp : 31-35.
- AMIOT J., FOURNIER S., LEBEUF Y., PAQUIN P. et SIMPSON R., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In Science et technologie du lait. C.L. Vignola. Montréal: Presses internationales polytechnique. P.1-74.
- AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEON H., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait in VIGNOLA C.L, science et technologie du lait Transformation du lait, école polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29 (600 pages).
- ANDELOT P., 1983.** Le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique. Rev Lait franç. 416 : 15-16
- ANDREI S., PINTEA A., 2007.** Bunea A Influence of processing methods on milk antioxidant activity (in Romanian). Lucrari Stiintifice – Medicina Veterinara, Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara "Ion Ionescu de la Brad" Iasi 51:585-9.
- ANONYME 1., 2004.** Statistiques du Ministère d'Agriculture et de Développement Rural (MADR). Direction de production animale DATA non publié.

Références bibliographiques

ANONYME 2., 2016. Bureau National d'Etudes pour le Développement Rural (BNEDER) Ministère d'Agriculture et de Développement Rural (MADR). DATA non publié.

ANONYME 3., 2008. silait salon international du lait . Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger. <http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>.

ANONYME 4., 2009. MADR: Instruction N° 1282 du 09/11/2008 relative à la collecte de tous les laits et leur pasteurisation ; Direction des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

ANONYME 5., 2013. Office National Interprofessionnel du Lait (ONIL): www.onil.dz.

ANONYME 6., 2011. CIPC LAIT COMMISSION INTERPROFESSIONNELLE DES PRATIQUES CONTACTUELLES. Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n° 2011-02.

ARABA A., 2006. Conduite alimentaire de la vache laitière. Transfert de technologie en agriculture. Bulletin réalisé à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat. N°136.

ARDO Y.,PRIPP A.H.,LILLEVANG S.K., 2009. Impact of heat-treated lactobacillus helveticus on bioactive peptides in low-fat , semi-hard cheese .The austration journal of dairy technology ,58-62

ATHAMENA S., CHALGHEM I., KASSAH-LAOUAR A., LAROUI S., KHEBRI S., 2010. Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L. Lebanese Science Journal. Vol 11 (1):72p.

ATLAN D., AUBEL D. et GILBRT C., 2000. La biodiversité des bactéries lactiques et les conséquences sur leurs protéinases de surface. Sci. Aliments, 230 (1), pp 5-17.

AXELSSON L., 2004. Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc.* NewYork. 1-66.

B

BARAC M., PESIC M., ZILIC S., 2016. Protein profiles and total antioxidant capacity of water-soluble and water-insoluble fractions of white brined goat cheese at different stages of ripening. 2016. Int. J. Food Sci. Technol. 51:1140-9.

BASSA A., BONFOH B., DADIE K., DJE M., GRACE D., KOUAME-SINA SM. et MAKITA K., 2010. Analyse des risques microbiens du lait cru local a Abidjan (Cote d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales. E.I.S.M.V, Dakar. pp : 35-42.

BEKHOUCHE - GUENDOUIZ N., 2011. Evaluation de la Durabilité des Exploitations Bovines Laitières des Bassins de la Mitidja et d'Annaba. Thèse de Doctorat Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger (ENSA). Alger. Pp : 49, 58.

Références bibliographiques

BELHADIA M., SAADOUD M., YAKHLEF H., BOURBOUZE A., 2009. La production laitière bovine en Algérie : Capacité de production et typologie des exploitations des plaines du Moyen Cheliff. *Revue Nature et Technologie* 01 Juin 2009. Pp: 54- 62.

BELHADIA M., YAKHLEF H., BOURBOUZE A., DJERMOUM A., 2014. Production et mise sur le marché du lait en Algérie, entre formel et informel. Stratégies des éleveurs du périmètre irrigué du Haut- Cheliff. *NEW MEDIT N.* 1/2014, 41- 49.

BENCHARIF A., 2001. Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes. Série B. Etudes et Recherches* 32: 25-45.

BERTRAND F., 1988. le fromage grand oeuvre des microbes .revue générale de froid, 78,519-527.

BOOTH J. et DODD FH., 2000. Mastitis and milk production. Dans the health y of dairy cattle. Edition Andrews. London. pp: 213-255.

BONAITI C., LECLERCQ-PERLAT M N., LATRILLE E. AND CORRIEU G., 2004. Desacidification by *Debaryomyces hansenii* of smear soft cheeses ripened in controlled conditions: Influences of relative humidity and of temperature .*Journal of Dairy Science* 87 (11): 3976-3988.

BOUGANDOURA N., BENDIMERAD N., 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie.* (9): 15p.

BOURGEOIS C., LEVEAU J.Y., 1980. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro alimentaires. Tome III. Le contrôle microbiologique ed Lavoisier.

BOUVIER C., 1993. Le lait, la nature et les hommes. Explora, Presse Pocket, Paris.

BOURBOUZE A., CHOUCHEM A., EDDEBBAGH A., PLUVINAGE J. et YAKHLEF H., 1989. Analyse comparée de l'effet des politiques laitières sur les structures de production et de collecte dans les pays du Maghreb. In: *Le lait dans la région méditerranéenne.* Options Méditerranéennes, Série A, Séminaires méditerranéens, n°6, 247-258.

BOURDIER J., M LUQUET M.F., 1991.dictionnaire laitier. Techniques et documentation, Lavoisier, 2ème édition, Paris.

BOURGEOISM MC.M., 1981. Méthode rapide d'évaluation de la microflore aérobie mésophile totale dans : méthode rapides de contrôle de fabrication dans les IAA leur développement et leurs performances A.P.R.I.A., 28-75.

BOUREOIS C.M. et LARPENT J.P., 1996. Les bactéries lactiques et leurs propriétés antimicrobiennes. *Aliments fermentés BS EN ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using BairdParker agar medium.* BSI. 23 Oct 2003.

Références bibliographiques

BOUTON Y., GUYOT P., BEUVIER E., TAILLIEZ P., GRAPPIN R., 2002. Use of PCR-based methods and PFGE for typing and monitoring homofermentative lactobacilli during Comte cheese ripening. *International journal of Food Microbiology* 76, 27-38.

BOUZIANI A., 2009. La lettre ALGEX. Lettre bimensuelle n°18.ppp :1-2.
<http://www.algex.dz/content.php?artID=1384&op=51>.

BRULE G., 1987. Les minéraux. In Cepil (1987). Le lait matière première de l'industrie laitière. Cepil-INRA, Paris. 87-98.

BüETIKOFER U., GUEGUEN M., 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology *Int J Food microbial* 102: 1-20

BUNKOVA., L. ET BUNKA F., 2015. Microflora of Processed Cheese and the Factors Affecting It, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

C

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.

CALLIGARIS S., MANZOCCO L., ANESE M.,2004. Effect of heat-treatment on the antioxidant and pro-oxidant activity of milk. *Int. Dairy J.* 14:421-7.

CAROLE L.,VIGNOLA., 2002. Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc., Canada, 599p.

CARIDI A ., MICARI P., CAPARRA P.,CUFARIA., SARULLO V., 2003. Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes cheese pecorino del poro. *International Dairy Journal* 13, 191-200.

CAYOT P. Et LORIENT D., 1998. Structures et technofonctions des protéines du lait. *Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris.*281p.

Centre National de l'Information et des Statistiques (CNIS): www.douane.gov.dz.

CHANG O.K., K.H.SEOL., S.JEONG., M.H.OH., B.Y.PARK., C.PERRIN. AND J.S.HAMI., 2013. Casein hydrolysis by bifidobacterium longum KACC91563 and antioxidant activities of peptides derived therefrom .*Faculté des science et techniques Université de Lorraine ,B.P.239,54506 Vandoeuvre –lés-Nancy Cedex ,* p5544-5555.

CHARRON C., 1986. Les productions laitières Tec et Doc Lavoisier, paris.

CHEFTEL J C., CUQ J L. et LORIENT D., 1985. Protéines Alimentaires. Edition Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris.

CHEN J., LINDMARK-MANSSON H., GORTON L 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int. Dairy J.* 13:927-35.

Références bibliographiques

CHILLIARD Y. et LAMBET G., 1987. Action enzymatique. 2-1- La lipolyse. Dans le lait matière première de l'industrie laitière. Cepid. pp 241.

CHOISY C., DESMAZEAUD M., GRIPON J-C., LAMBERT G. AND LENOIR, J. 1997A. La biochimie de l'affinage. In Le fromage. Eck, A. et Gillis, J.-C. Lavoisier Tec & Doc. Paris. p.86-153.

CHOISY C., DESMAZEAUD M., GUEGUEN M., LENOIR J., SCHMIDT J-L. AND TOURNEUR C., 1997B. Les phénomènes microbiens. In Le fromage. Eck, A. et Gillis, J.-C. Lavoisier Tec & Doc. Paris. p.377-446.

CLARE D.A., CATIGNANI G.L. ET SWAISGOOD H.E., 2003. Biodefense properties of milk: the role of antimicrobial proteins and peptides. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1239-1255.

CLAUSEN M R., SKIBSTED L H., STAGSTED J., 2009. Characterization of major radical scavenger species in bovine milk through size exclusion chromatography and functional assays. *J. Agric. Food Chem.* 57:2912-9.

CODEX STAN 276-1973. Norme codex pour le camembert.

CODEX STAN 283-1978. Norme générale codex pour le fromage.

COUBRONNE C., 1980. Variation de quelques paramètres biochimiques du lait en relation avec l'alimentation des vaches laitières étude dans deux élevages, école vet alfor, Paris.

COURROYE M., 1987. L'indice d'affinage. Un nouveau moyen de suivre la protéolyse des fromages à pâte cuite par cryoscopie. Les IAA, mars, 169-173.

CROGUENNEC T., JEANTET R., BRULE G. 2008. Fondements physicochimiques et Technologie Laitière. Tech & Doc, Lavoisier, paris.

D

DAHOU ABDELKADER., ELAMINE BEKADA., AHMED MOHAMMED ALI., HOMRANI ABDELKADER., LATRECHE BILEL., AND AIT SAADA DJAMEL ; 2017. Effect of processing technology on the biodiversity of the Bacterial flora of an Industrial cheese camembert soft type. *Adv. Biores.*, Vol 8 (6) November 2017: 197-207.

DAVID V. et FORTE R., 1998. *Guide nationale des bonnes pratiques en production fromagère fermière.* 2e éd. Paris : Institut de l'élevage, 1998. Fiche I, 15-19.

DESMASURES N., OPPORTUNE W., GUEGUEN M., 1997b. *lactococcus spp., yeasts and pseudomonas spp. On teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. International Dairy Journal* 7, 634- 646.

Références bibliographiques

DEZMAZEAUD M J., 1982. Les bactéries lactiques; recherche et application industrielle en agro-alimentaire. Colloque APRIA du 12-13 septembre 1992, Caen, France.

DEZMAZEAUD M. ET COGAN T M., 1996. Role of cultures in cheese ripening. In: Cogan T.M.,Accolas J.P (Eds.), Dairy Starter Cultures. VCH Publishers, Inc., New York. pp. 207- 231.

DIENG M., 2001. Contribution a l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

DENES A., 2006.Etude comparée de l'effet de deux protéases sur la production d'hydrolysats dotés d'activités antioxydantes et antiradicalaire. Ecole pratique des hautes études.

DORTU C., THONART P.,2009. Les bactériocines des bactéries lactiques :caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires .Biotechnol .Agron.Soc.Environ,143-154.

E

ECK A., 1975. Le lait et l'industrie laitière. Imprimerie des presses universitaires de France Vendôme. 127 p.

ECK A., 1990. Le Fromage 3^{ème} Edition, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris.

ECK A. et GILLIS JC., 2006. Le fromage. 3^{ème} Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p.

EIGEL WN., BUTHER JE., ERNSTROM CA ., 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk : fifth revision.

EL-AGAMY E I., RUPPANNER R., ISMAIL A., CHAMPAGNE C P. ET ASSAF R., 1992.Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective protein. J. Dairy Res., 59, 169-175.

EI ATYQY M., 2008. Réactions d'altération chimique des aliments. Edition Sciences et techniques des aliments.

F

FAO., 1998. Le Lait Produits Laitiers Dans La Nutrition Humaine. Collection Fao : Alimentation Et Nutrition N° 28, ISBN 92-5-20534-6. Organisation Des Nation Unies Pour l'agriculture (FAO) et le Réseau D'information sur les Opérations Après Récolte (INPHO).

FAUCONNEAU U., 1989. Aspect technologique du lait de bovin, conservation, transformation. Option méditerranéennes, Série Séminaire n°6 :181-186.

FARDET A., ROCK E., RÉMÉSY C., 2008.Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo. J. Cereal Sci. 48:258-76.

Références bibliographiques

FARDET A., ROCK E., 2018 In vitro and in vivo antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks and cheeses: a narrative review of evidence. *Nutrs Rev*, 31(1), 52-70.

FATET P., 2004. Les staphylocoques dans l'industrie laitière. *GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble*. pp : 34-35.

FEUILLAT M., LE GUENNEC S. et OLSSON A., 1976. Contribution à l'étude de la protéolyse des laits réfrigérés et incidence sur le rendement de fabrication de fromages à pâte molle. *Lait*, 55, 521-536.

FOX P.F., 1987. Food analysis "factors affecting the quality of dairy product " chemistry-University College, Departement of dairy and food, republic of Ireland.

FOX P.F., LAW J., MCSWEENEY P.L.H. and WALLACE J., 1993. Biochemistry of cheese ripening. Pp. 389-438. In *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, volume 1, General aspects, second edition. (Ed. P.F. FOX), Springer-Science+Business Media, B.V., 601p.

FOX P.F., SNIGH T.R. and SWENEY M.C., 1994. Proteolysis in cheese during ripening. In : *Biochemistry of milk products*. (ed. FOX P.F.) p. 1-31, The Royal Society of chemistry.

FRANCE. Décret N° 88-1206 du 30 décembre 1988. *Code de la consommation*.

FRANCE. Ministère de l'agriculture et de la pêche. Arrêté ministériel du 30 mars 1994 : critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché. *Journal officiel* du 21 avril 1994, 5883.

G

GAREL J.P. et COULON J.B., 1990. Effet de l'alimentation et de la race des vaches sur la fabrication de fromage d'auvergne de Saint Nectaire. *Production Animal*, 3 (2), 127-136.

GHOZLANE F., BELKHEIR B., YAKHLEF H 2010. Impact du Fonds National de Régulation et de Développement Agricole sur la durabilité du bovin laitier dans la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie). *New Medit*. 3. 22-27.

GOBETTI M., MOREAB M., BARUZZI F., CORBOC M.R., MATARANTEBA A., CONSINED T., DI CAGNOA R., GUINEEE. T ET FOX D., 2002. Microbiological, compositional, biochemical and textural characterisation of Caciocavallo Pugliese cheese during ripening. *International Dairy Journal* 12 (2002) 511-523.

GOT R., 1971. Les enzymes du lait. *Ann Nutr Alim*, 25 : A291-A311.

GOURSAUD J., BOUDIER IF., 1985. Composition et propriétés physicochimiques, lait et produits laitiers. Lavoisier, Paris – Tome 1.

Références bibliographiques

GOURSAUD J., 1985. Composition et propriétés physico-chimiques. Dans laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

GRAPPIN R., RANK T C and OLSON N F., 1985. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. Journal of Dairy Science, 68, 531-540.

GRIPON J C., MONNET V., LAMBERT G. et DESMAZEAUD M J., 1993. Microbiol enzymes in cheeses repning; food enaymology, fox ed ELSEVIER, vol.1.Pp. 131 à 168. 380p.
GUEGUEN L., 1979. Apports minéraux par le lait et les produits laitiers Cah natur. Diet ; 3 : 213 – 217.

GUERRA L., 2009. Contribution à la connaissance des systèmes d'élevage bovin. Ingéniorat d'état en agronomie. Université Sétif, Algérie.

GUILLOU H., PELISSIER J.P. et GRAPPIN R., 1986 .Méthodes de' dosage des protéines du lait de vache .Le Lait,66, 143-175.

GUIRAUD J., GALZY P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires collections génie alimentaire Ed l'usine.

GUIRAUD., 2003. Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In : Microbiologie alimentaire. Paris

GUIRAUD J.P.et ROSE J.P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire AFNOR, 300p.

GUPTA A., MANN B., KUMAR R., 2009. Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. Int. J. Dairy Technol. 62:339-47.

GUPTA A., MANN B., KUMAR R., 2010. Identification of antioxidant peptides in cheddar cheese made with adjunct culture Lactobacillus casei ssp. casei 300. Milchwissenschaft-Milk Sci. Int. 65:396-9.

H

HACINI R., 2007. La filière lait et risque alimentaire. 7 ème salon international de l'élevage et du machinisme agricole. Spécial MAGVET n°58 l'événement de l'élevage et de l'agriculture en Algérie, éditeur EXPORVET, 85p.

HAMAMA A., ARRABA A., BENJELLOUNS., HAMIMAZ R., ZAHAR M., 2001.Organisation de la filière laitière au Maroc. In : les filières et marchés du lait et dérivés en méditerranée. Option méditerranéennes, Série B, 32 : 4762.

HASSOUNA M. AND GUIZANI N., 1995. Evolution de la flore microbienne et des caractéristiques physico-chimiques au cours de la maturation du fromage tunisien de type Camembert fabriqué avec du lait pasteurisé. Microbiologie, hygiène alimentaire 7(18): 14-23.

Références bibliographiques

HAYOUNI EA., ABEDRABBA M., BOUIX M., HAMDI M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts .*Food Chemistry*, **10** :10-16

HERMIER J. ET LENOIR J. ET WEBER F., 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIL, Paris, 568 pages.

HODEN A. et COULON J.B. 1991. Maitrise de composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA production Animal*, **4**, 361-367.

HUBERT A.J., 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de Soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctoral des sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174.

HYLAN., 1984. Principals of dairy technology. University Mousse. Iraq.

I

IRCHAD IMRAN., ARA KANEKANIAN., ADRIAN PETERS., TARIQ MASUD.,2013. Antioxydant activity of bioactive peptides derived from bovine casein hydrolysate fractions .Association of food scientists & technologists (India)

IRLINGER F., LAYEC S., HELINCK S., DUGAT-BONY E., 2015. Cheese rind microbial communities : diversity, composition and origin .*FEMS Microbiol.Lett* .362, 1-11 .doi :10.1093 :femsle/fnu015.

J

JAKOB E. et HÄNNI J-P., 2004. Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebfeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.

JAKOB E., WINKLER H. ET HALDEMANN J., 2009. Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.

JOFFIN C. et JOFFIN J. N., 1999. Microbiologie alimentaire. Collection biologie et technique. 5ème édition, 174p.

JORA., 1998. (Journal officiel de la république algérienne). Arrêté interministériel du 27 mai 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce N°35.

JORA C.M., 1998. Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris, 32 p.

Références bibliographiques

K

KABIR AHMED., 2014. Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (Constats et perspectives). Thèse de Doctorat Option Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran 1- Algérie Pp: 52. 60

KACI M. et SASSI Y., 2007. Industrie laitière et des corps gras, Recueil des fiches sous sectorielles. EDPme. 44 P.

KACIMI-EI HASSANI S., 2013. La Dépendance Alimentaire en Algérie : Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution ? *Mediterranean Journal of Social Sciences MCSER Publishing, Rome-Italy*. Vol 4 No 11 October 2013. 152- 158.

KALI S., BENIDIR M., AIT KCI K., BELKHEIR B. AND BENYOUCEF M.T., 2011. Situation de la filière lait en Algérie : Approche analytique d'amont en aval Live stock Research for Rural Development 23 (8) 2011 <http://www.lrrd.org/lrrd23/8/Kali23179.html>.

KAWAI Y., TADOKORO K., KONOMORI R., ITOH K., SAITO T., KITAZAWAH., et ITOH T., 1999. A novel method for the detection of protease and the development of extracellular protease in early growth stage of *lactobacillus delbrueki ssp bulgaricus*. *J. Dairy sci.* 82: 481-485.

KAZEEM M I., AKANJI M A., HAFIZUR RAHMAN M., CHOUDHARY M I., 2012. Antiglycation, antioxidant and toxicological potential of polyphenol extracts of alligator pepper, ginger and nutmeg from Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 727-732.

KHUCHROO C N., RAHILLY J. And FOX P F., 1983. Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzene sulphonic acid. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 1, 129.

KITCHEN B J., TAYLOR G C., White I C., 1970. Milkenzyme. Their distribution and activity. *Dairy Rec.*

KLOMPONG V., BENJAKUL S., KANTACHOTE D. et SHAHIDI F., 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317–1327.

KULLISAR T., SONGISEPP E., MIKELSAAR M., ZILMER K., VHIHALEMM T., ZILMER M., 2003. Antioxidative LAB fermented goat's milk decrease oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *Brit. J. Nutr.* 90(2) :45-449

KUNENE N.F., GEORNARAS I., VON HOLY A. et HASTINGS J.W., 2000. Characterization and Determination of Origin of Lactic Acid Bacteria From a Sorghum-Based Fermented Weaning Food by Analysis of Soluble Protein and Amplified Fragment Length Polymorphism Fingerprinting. *Appl environ microbial*, 66 (3), 1084-1092.

Références bibliographiques

KUZZDAL SAVOINE S., MOCQUOT G., 1960. Observations sur les qualités organoleptiques du lait. *Ann technol. Agric* 1,5-52.

KUZZDAL S., 1987. La matière grasse – le lait matière première de l'industrie laitière. INRA.

L

LAAMECHE F., 2011. La chamelle laitière : pour une nouvelle stratégie durable de la filière lait dans les régions sahariennes, cas de la région de Ghardaïa. *Iséminaire sur le lait et ses dérivés, entre réalité de production et réalité de transformation Guelma-Algérie*, les 4 et 5 Oct. 2011. Pp: 13.

LAHSAOUI S., 2009. Etude du Procédé de Fabrication du Fromage Traditionnel Klila. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie. Fahloul, D. Université de Batna. Algérie.

LAUBIEN S., GERMAN A., 1961. Précis de microbiologie. Masson et Cie, Paris.

LANKVELD JMG., 1995. Protein standardized milk products, composition and properties-IDF Brussels 70-85.

LAPOINTE-VIGNOLA C.L., 2002. Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses inter Polytechnique. Québec. 608p.

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.

LECLERQ H., 1969. Microbiologie, Doin, Paris.

LECLERCQ-PERLAT M N., BUONO F., LAMBERT D., SPINLER H E. AND CORRIEU G., 2004. Controlled Production of Camembert-Type Cheeses: Part I. Microbiological and physico-chemical evolutions. *Journal of Dairy Research* 71(3): 346-354.

Lefrileux Y., Picque D., Mirade P.S., Gauzere Y., Leclercq-Perlat M.N.,Guillemin H.,

SAINT-EVE A., AUBERGER J.M., 2016.Expérimentations sur l'affinage de fromages lactiques fermiers au lait de chèvre.Action 2 du projet "qualité des fromages fermiers lactiques locaux et maîtrise de l'affinage:Rapport de fin d'étude collection résultats de l'institut d'élevage .En cours de publication.

LEKSIR C. ET CHEMMAM M., 2015. Contribution à la caractérisation du *klila*, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. *Livestock Research for Rural Development*. 27 (5).

LEMIEUX L. AND SIMARD R D., 1994. Bitter flavour in Dairy Products. *Lait*, 72, 335-382.

Lenoir. LA .,1963a.Le Lait, INRA Editions, 43 (425_426), pp.262-270.

Références bibliographiques

LENOIR J., 1963b. Note sur la dégradation des protides au cours de la maturation du camembert. Extrait de la revue le lait mars-avril, 1963, pp. 1-11 (*) C. R. Acad. Agr., 1962, 48, n° 03, 160.

LENOIR J., 1985 : les caséines du lait. RLF, 440 : 17-23.

LENOIR J. LAMBERT G. et SCHMIODT J L., 1983. L'élaboration d'un fromage : l'exemple du Camembert. Pour la Science, 69, 30-42.

LENOIR J. et VEISSEYRE R. et CHOISY C., 1974. Le lait réfrigéré, matière première de fromagerie moderne. Revue Laitière Française, 322, 453-465.

LEONIL J., MAUBOIS J.L., 2002. « Milk-derived bioactive peptides and proteins : future perspectives », Sciences des Aliments, Vol. 22,383-392.

LENOVICH L M., 1987. Survival and death of microorganisms as influenced by water activity. In: Rockland LB et Beuchat LR. (Eds.), Water activity : Theory and applications to food. Marcel Dekkar, INC. New York, pp. 119-133.

LICITRA G., 2010. World-wide traditional cheeses: Banned for business. DairySci. Technol. 90, 357-374.

LINDEN G., 1987. Les enzymes – lait matière première de l'industrie laitière – INRA – Paris.

LOSSOUARN J., 2000. Le concept de filière : son utilité du point de vue de la recherche-développement dans le champ des productions animales et des produits animaux. EAAP Publication n° 63, Wageningen Pers, 136-141.

LOPES-LUTZ D., ALVIANO DS., ALVIANOI CS., KOLODZIEJCZYK PP., 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. PubMed ;

LOPEZ-EXPOSITO I., GOMEZ-RUIZ J. A., AMIGO L. ET RECIO I., (2006) Identification of antibacterial peptides from ovine α s₂-casein. International Dairy Journal, 16, 1072-1080.

LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. AND RANDALL R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent, Journal of Biological Chemistry, 193, 265-275.

M

MAHAMED I A E., 2015. Etude des qualités: hygiénique, physicochimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans

Références bibliographiques

différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie. Benlahcen K. Université d'Oran. Algérie.111p.

MAHAUT M., JEANTET R. et BRULE G., 2000. Initiation à la technologie fromagère. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris.194p.

MALLET A., GUEGUEN M., DESMASURES N., 2010. Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative de laits crus normands destinés a la transformation fromagère. 8^{ème} Congrès National de la SFM, 2-4 juin 2010, Marseille.

MALKOSKI M., DASHPER S G., O'BRIEN-SIMPSON N M., TALBO G H., MARCIS M., CROSS K J. ET REYNOLDS E C., 2001. Kappacin, a novel antibacterial peptide from bovine milk. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45: 2309-2315.

MANSOUR et ALAIS C., 1971. Le mécanisme de salage des fromages en saumure, revue laitière française n° 290. Pp 641 à 645.

MARCEL M., 2007. Larousse agricole Edition Larousse. Paris. France. 115-405.

MARTIN B. ET COULON J.B., 1995. Facteurs de production du lait et caractéristique des fromages. I. Influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de troupeaux. Lait, 75, 61-80.

MATHIEU J., 1998. Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris, 220p.

MC CANN K B., SHIELL B J., MICHALSKI W P., LEE A., WAN J., ROGINSKI H. ET COVENTRY M J., 2006. Isolation and characterisation of a novel antibacterial peptide from bovine α s1-casein. International Dairy Journal, 16, 316-323.

MC MAHON D J., Brown RJ., 1984. Composition structure and integrity of casein micelles: a review.

MC SWEENEY P.L.H. et SOUSA J.M., 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compound in cheese during ripening: Review milk n° 80.Pp. 293 à 324.

Mc SWEENEY P.L. H. , 2004; Biochemistry of cheese ripening. Vol 57, No 2/3 , Int. J. of Dairy Technol , 127-144.

METAOUI F.,2009. Journal El-Watan. technologiques de la protéolyse dans le lait. Lait, 66, 1—8.

MEISEL H., GEOPFERT A., GUNTHER S.1997.ACE-inhibitory activities in milk products, Milchwissenschaft; vol.52.,p.307-311

Références bibliographiques

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, 19-27.

MIRANDA G. et GRIPON J C., 1986. Origine, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. *Lait*, 66, 1—8.

MICHEL V., HAUWUY A., CHAMBA J.F., 2001. Raw cowmilk microflora : diversity and influence of conditions of production. *Lait* 81, 575-592.

MOKDAD F., 2000. Importation des produits laitiers : L'Algérie, éternelle vache à traire. *Agroligne* n°3, 5.

MONTEUIL J., 1971. La maternisation des laits. Etat actuel de la question. *Ann. Nutr Alim*, 25, A1 – A73.

MONTEL M A., DELBES PAUSA C., VUITTON D A., DESMASURES N., BERTHIER F., 2014. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Inter. J. of food microbiol.* 177, 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.

N

NEELAKANTEN J., SHAHANI K.M., ARNOLD R.G., 1971. Lipases and flavor development in some italian cheese varieties. *Food Production Development*, 5,52-58.

NEJIB GUIZANI A., STEFAN KASAPIS A., ZAHER H., AL-ATTABI A. & MOHAMED AL-RUZEIKI, 2007. a Department of Food Science & Nutrition , College of Agriculture , Sultan Qaboos University , P.O. Box 34, Al-Khod 123, Sultanate of Oman.

NOUAD M A., 2007. 5^{ème} journée de recherche sur les productions animales. Séminaire sur : la filière animale pole de compétitivité dans l'économie Algérienne, Tizi-Ouzou, (Mars, 2007), 54p.

O

OUADGHIRI M., 2009 .Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. université mohammed v – agdal faculté des sciences rabat. 26-28.

OUAKLI. et YAKHLEF H., 2003. Performances et modalités de production laitière dans la Mitidja. *Annales de la recherche agronomique INRAA ; N°6*, 32p.

Références bibliographiques

OUNINE K., RHOUTAÏSSE A. et EL HALOU N E., 2004. Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. Al awamia, 109-110. Pp : 187-204.

Oyaizu M., (1986) Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307-315.

P

PADILLA M. et GHERSI G., 2001. Le marché international du lait et des produits laitiers. Options méditerranéennes, CIHEAM-IAM Montpellier, France, sér. B, n. 32, 15 p.

PEEREBOOM J.W.C., 1969. Modern views on the physical structure of the globules in milk and cream. Fette , Seifen Antstrichmittel, 71 (4), 414-322.

PELLEGRINI A., DETTLING C., THOMAS U. ET HUNZIKER P., (2001) Isolation and characterization of four bactericidal domains in the β -lactoglobulin. Biochimica et Biophysica Acta, 1526 : 131-140.

PIARD J.C., ET DESMAZEAND M., 1991.Inhibiting factors produced by lactic and bacteria part L.oxygen metabolites and catabolism end-products .Lait.71 :525-541

PIEN J., 1975. physicochimie du lait. Tech lait, 841 : 13-149 844 : 21-23.

PLOMMET M., 1987. la traite et les infections de la mamelle a un nutre alim. 20, 4357.

POLYCHRONIADOU A., 1988. A simple procedure using trinitrobenzene sulphonic acid for monitoring proteolysis in cheese. Journal of Dairy Research 55, 585-596.

POWER O., JAKEMAN P., FITZGERALD R.J., 2013. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. Amino Acids 44:797-820

R

RAMET J.P. ET WEBER F., 1980. Ccontribution à l'étude de l'influence des facteurs de milieu sur la coagulation enzymatique du lait reconstitué.Revue : le lait,n°591-592, pp. 1-13

RAMET J P., 1985. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

RAMET., J P., 1985. La fromagerie, les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection. Production et santé Animales. FAO, Rome, Italie.187p.

RAMET J P., 1997. L'égouttage du coagulum. Dans Le fromage (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.). 3ème édition, Ed. Tec et Doc. Lavoisier. p. 43.

Références bibliographiques

RANDAZZO C L., CAGGIA C. and NEVIANI C.L.E., 2009. Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78: 1– 9.

RATTRAY W., GALLMAN P., JELEN P., 1997. Nutritional, Sensory and physico-chemical characterization of protein standardized UHT milk, lait.

RAYNAUD S., MORGE S.,PETRIER 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 .En cours de publication.

Recio I. et Visser S., 1999. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine α s₂-casein. *Biochimica, Biophysica Acta*, 1428, 314-326.

RECIO I. ET LOPEZ- EXPOSITO I., 2006. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16, 1294-1305.

REMEUF F., LENOIR J. ET DUBY C., 1989. Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimique des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, 69,499-518.

REMEUF F., COSSIN V., DERVIN C., TOMASSON R., 1991. Relation entre les paramètres physico-chimiques des laits et son aptitude fromagère. *Lait* 71, 397-421.

REVILLA I., GONZALEZ-MARTIN M.I., VIVAR- QUINTANA A.M., 2016. Antioxidant capacity of different cheeses: Affecting factors and prediction by near infrared spectroscopy *J. Dairy Sci.* 99:5074-82.1111

RIAHI M.H., 2006. Modélisation des phénomènes microbiologiques, biochimiques et physicochimiques intervenant lors de l’affinage d’un fromage de type pate molle croute lave; these de doctorat Institut National Agronomique. Ecole Doctorale ABIES. Paris-Grignon.

Rizzello C. G., Losito I., Gobbetti M., Carbonara T., De Bari M. D., Zambronin P. G., 2005. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties, *Journal of Dairy Science*, vol. 88, 2005, p. 2348-2360.

ROZIER J., CARLIER V. et BOLNOT F., 1985. Bases microbiologiques de l’hygiène des aliments. Ecole Nationale Vétérinaire de Maison Alfort, 128p.

S

SAIGA AI., TANABE S.,NISHIMURA T., 2003 antioxydant activity of peptides obtained by protease traitement .*J.Agric.food chem.*.51,3661-3667.

Références bibliographiques

- SAITO T., NAKAMURA T., KITAZAWA H., KAWAI Y., ITOH T., 2000.** Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally In Gouda cheese”, Journal of Dairy Science, vol.83.,p.1434-1440.
- SALAMI M., YOUSEFI R., EHSANI M.R., RAZOVI S.H., CHOBERT J.M., HAERTLE T., SABOURY A.A., ATRI M.S., NIASARI-NASLAJI A., AHMADE F., MOOSAVI-MOVAHEDIA.A., 2010.** Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel α -lactalbumin : possible significance for use in infant formula. International Dairy Journal. 19, 518-523.
- ŞANLIDERE ALOĞLU H., 2013.** The effect of various heat treatments on the antioxidant capacity of milk before and after simulated gastrointestinal digestion. Int. J. Dairy Technol. 66:170-4.
- SAOUDI Z., 2012.** Caractérisation Microbiologique et de la Protéolyse Du Fromage Traditionnel Algérien « Bouhezza » de Ferme. Mémoire De Magistère. Université Mentouri Constantine. Algérie.
- SCHMIDT D.G., 1980.** Association of caseins and casein micelle structure. In developments in dairy chemistry- 1- Proteins (coord.FOX P.F.) A.S. Publishers, pp. 61-86, 410p.
- SEYDI M., 2004.** Caractéristiques du lait cru. EISMV, laboratoire HIDAOA, 12p.
- SHILPA VIJ., PRIANKA CHANDRA., AND PRASHANT RAMRAO BACHANTI., 2014.** Antimicrobial activity of casein fermentate of probiotic lactobacillus spp. Dairy microbiology division, national dairy research institute, Karnal, India .p202-208
- Singleton P., 2002.** Bactériologie, Dunod, Paris ,pp :381-394.
- SOUKEHAL A., 2013.** Dossier filière lait : Comment atteindre l’autosuffisance en 10 ans ! Revue Perspectives N9- 3eme trimestre 2013. Pp : 23- 29. [http:// www. Pixal communication.com/perspectives/revue/n9. pdf](http://www.Pixalcommunication.com/perspectives/revue/n9.pdf).
- SOUKI H., 2009.** Les stratégies industrielles et la construction de la filière lait en Algérie : Portée et limites. *Revue Campus*N: 15/2009. Pp : 3- 15.
- St-Gelais D., Tirard-Collet P., 2002.** Chapitre 6 :Fromage ; Vignola C, editor. Montréal :Presses internationales polytechnique.600p.
- T**
- TEMMAR N., 2007.** Journal El-Watan
- TESTONE S., QUEVEDO F., 1977.** Contrôle microbiologique du fromage FROMAGE A PATE MOLLE: « LE CUARTIROLO ».
- THEOLIER J., HAMMAMI R., LABELLE P., FLISS I. ET JEAN J., 2013.** Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate. Journal of functional foods, 5, 706-714.

Références bibliographiques

THOMPSON J., TURNER O. et THOMAS T.D., 1978. Les phénomènes microbiologiques et enzymatiques de la biochimie de l'affinage; in: "Le fromage". Techniques et Documentation, Lavoisier, 3eme Edition, Paris.

TORMO, H., ALI HAIMOUD., LEKHAL, D., LAITHER, C., 2006. Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre: principaux réservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage. 13^{ème} Rencontre Recherche Ruminants. Institut de l'Élevage-INRA , 305-308.

TORMO H., 2010. Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 238 pages.

U

Upadhyay VK., McSweeney P.L.H, Magboul A.A.A., Fox PF., 2004 . Proteolysis in cheese during ripening In : Fox PF, McSweeney PL, Cogan TM, Guinee TP, editors, Cheese :Chemistry , Physics and Microbiology : Academic Press.pp.391-433.

V

VASSAL L., MONNET V., LE BARS D., COLETTE ROUX ET GRIPON J.C., 1986. Relation entre le pH, la composition chimique et la texture des fromages de type camembert. Le lait, 66 (4), 341-351.

VEISSEYRE R., 1979. Technologie du Lait. 3^{ème} Edition, Maison Rustique, Paris.

VERTES C., HODEN A., GALLARD Y., 1989. Effet du niveau d'alimentation sur la composition chimique et qualité fromagère du lait de vaches Holstein et Normandes : Résultats préliminaires. *INRA Productions animales*, 2 (2), 89-96.

VIERLING E., 2008. Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} Ed., Biosciences et techniques. Paris. 15-16.

VIGNOLA CAROLE L., 2002. Science et technologie du lait transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal 2002.

W

WALSTRA P., 1999. On the stability of casein micelles. *J. dairy Sci.*

WALTHER B., 2006. Peptides Bioactifs Dans les laits et les Produits Laitiers. Station de recherche AGROSCOPE Liebefeld-Posieux ALP, Berne peptide.

WALTHER B., SCHMID A., SIEBER R. ET WEHRMULLER K., 2008. Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88, 389–405.

WASILJIVIC T., SHAH N.P. and JELEN P., 2005. Growth characteristics of lactobacillus bulgaricus ATCC 11842 as affected by different neutralizers. *Aust. J. Dairy thechnol.* 60: 3-9.

Références bibliographiques

WHITNEY R., BRUNNER J., EBNER K., 1976. Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fowth revision .J. dairy sci.

Wu H C., Chen H M., & Shiau C Y., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International, 36(9–10), 949–957.

Y

YAKHLEF H., MADANI T., GHOZLANE F. and BIR B., 2010.Rôle du matériel, animal et de l'environnement dans l'orientation des systèmes d'élevages bovin en Algérie: In: la filière lait en Algérie. Communication aux 8eme Journées des Science Agri, les 18 et 19 avril. Ecole National Supérieure Vétérinaire d'Alger. Algérie.

Z

ZUCHT H D.,RAIDA L.,ADERMANN K.,MAGERT H.J. AND FORSSMAN W.G., 1995. Casocidin-I :A casein alpha S2 derived peptide exhibits antibacterial activity .FEBS Letters , 372:185-188

ZULUETA A., MAURIZI A., FRIGOLA A., 2009. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. Int. Dairy J. 19:380-5.

Annexes

✚ Annexe 01 : Matériels et produits pour les analyses physico-chimiques

▪ Appareillage

- Agitateur magnétique chauffant (R LABINCO model L-81));
- Agitateur vibrant type vortex (Heidolph TOP-MIX 94323),
- Balance (DENVER max=610g, d=0.01g) ;
- Centrifugeuse (SIGMA 4-16K) ;
- Centrifugeuse Nova Safety ;
- Dessiccateur à infrarouge (Sartorius MA35);
- pH-mètre (METROHM 620) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (medline) ;
- Bain-marie (MEMMERT) ;
- Bain-marie universel wb-436D,
- Lactodensimètre avec thermomètre intégré 2200F6021/20-qp ;
- Lactoscan SAP50 ;
- Incubateur à test rapide
- Réfrigérateur.

▪ petit matériel

- Verreries (bêchers, fioles jaugées, entonnoirs, erlenmeyers, pipettes graduées, burette de précision, éprouvette) ;
- Embouts ;
- Micropipette ;
- Cuves de spectromètre;
- Barreau magnétique ;
- Papier filtre ;
- Tubes à essai en verre ;
- Portoirs ;
- Spatule ;
- Coupelles d'aluminium ;
- Butyromètre de Gerber.

▪ produits et réactifs

- carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 2%) ;
- Hydroxyde de sodium (NaOH 0,1M) ;
- Sulfate de cuivre (CuSO_4) ;
- Tartrate double de sodium et potassium (Na et K 1%) ;

Annexes

- Bovine Serum Albumine (BSA) ;
- Folin ciocalteu ;
- Phénolphtaléine ;
- Acide sulfurique H_2SO_4 ;
- Alcool isoamylique ($C_5H_{12}O$) ;
- Acide ascorbique ;
- 2,2-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH $C_{18}H_{12}N_5O_6$),
- Phosphate de sodium dibasique (Na_2HPO_4) ;
- Phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) ;
- Chlorure de fer ($FeCl_3$ à 0.1%) ;
- Ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%;
- Acide trichloracétique (TCA à 10%) ;
- Glycine ;
- Acide 2-4-6-Trinitrobenzène sulfurique (TNBS).

Annexe 02 : analyses physicochimiques du lait effectuées par le lactosan SAP50

Les paramètres suivant ont été déterminer par le lactosacan à savoir : densité, le taux de matière grasse , ESD , taux de protéines et le pH .



Figure 1: analyseur du lait (Lactoscan) SAP

Mode opératoire

- Dans un flacon on verse une quantité du lait que l'on veut analyser ;
- Après 30 secondes un papier avec tous les paramètres du lait apparait.

Annexes

Annexe 03 : détermination de la valeur du pH pour le fromage



Figure 2: pH-mètre (METROHM 620)

Mode opératoire

La mesure est effectuée par l'immersion du bout de l'électrode dans la pâte du fromage à analyser. La valeur du pH s'affiche immédiatement sur l'écran.

Après chaque usage, l'électrode doit être nettoyée avec de l'eau distillée et séchée par un papier buvard.

Annexe 04 : détermination de l'extrait sec total



Figure 3: dessiccateur infrarouge Sartorius MA35

Annexes

Mode opératoire

➤ Lait et fromage

- Allumer le dessiccateur ;
- Mettre sur la balance de dessiccateur une coupelle et tarer ;
- Peser 5g du fromage et 3g du lait ;
- Etaler la prise d'essai au maximum pour accélérer la dessiccation ;
- Fermer l'appareil et laisser le temps de dessiccation ;
- La valeur s'affiche sur l'écran de l'appareil exprimé en pourcentage.

🚩 Annexe 05 : détermination de l'acidité titrable par la méthode citée par SAOUDI (2012)

Mode opératoire

➤ Lait

- La solution de NaOH à 0.11N a été placée dans la burette ajustée à zéro ;
- 10 ml de l'échantillon ont été introduits dans le bécher et 3 gouttes de phénolphtaléine ont été ajoutées pour la mesure de l'acidité du lait ;
- Ensuite il a été procédé au titrage avec NaOH ajouté goutte à goutte, le tout a été agité doucement dans le bécher à chaque goutte versé jusqu'au premier virage où une coloration rose persistante plus de 30s a été apparue.
- Le volume de NaOH nécessaire au virage a été noté (chute de burette).

Le volume de l'acidité en ° dornic est calculé selon la formule suivante :

$$A^{\circ}D = 10 \times V \text{ (ml)}$$

➤ Fromage

- Peser une masse de 10g de fromage dans un récipient d'homogénéisation ;
- Ajouter 40ml d'eau distillée
- à 60°C et mélanger à faible vitesse ;
- Rincer le récipient d'homogénéisation avec 60ml d'eau distillée et ajouter les au mélange ;
- Le mélange va être centrifugé à 4700g/20min ;
- Après la centrifugation placer le surnageant dans une fiole jaugée;
- Prélever un volume de 50ml pour le titrer par une solution de NaOH (1N) jusqu'au virage au rose, en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré.

Annexes

- Acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable (\% en acide lactique)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \times 90.05}{50}$$

N (mol/l) = Normalité de la solution NaOH.

90.05 (g/mol) = masse molaire de l'acide lactique.

Annexe 06 : méthode de dosage de la matière grasse dans le fromage selon la méthode de GERBER

Pour le dosage de la matière grasse des fromages on a utilisé la méthode de GERBER(1974).

- Placer le bécher troué (se trouve collé dans le bouchon du butyromètre) sur une balance puis tarer ;
- Peser une prise d'essai de 3g ;
- Placer le bécher dans le butyromètre spécifique pour le fromage ;
- Verser à l'aide d'une pipette 15ml d'acide sulfurique (densité de 1,52) jusqu'à l'immersion total de la prise d'essai ;
- Fermer l'ouverture de remplissage,
- Mettre le butyromètre échelle vers le haut au bain marie à 70-80°C et agiter à plusieurs reprises jusqu'à dissolution complète du fromage ;
- Retirer du bain marie et ajouter par l'ouverture de l'échelle 1ml d'alcool iso amylique puis compléter par l'acide sulfurique jusqu'à la marque de 15% de l'échelle ;
- Agiter et replacer au bain marie à 65°C pendant 5minutes,
- Centrifuger pendant 5 minutes ;
- Replacer au bain marie 65°C pendant 5 minutes et régler la colonne des lipides au point zéro et lire le taux des lipides à l'extrémité inférieure du ménisque.



Figure 4 : butyromètre à fromage GERBER



Figure 5: centrifugeuse Nova Safety et bain marie wb-436D

✚ Annexe 07 : Dosage des protéines (méthode de LOWRY *et al*, 1951)

Mode opératoire

1- Préparation des solutions

Solution A : 1g de Na_2CO_3 anhydre et 0.2g de NaOH dans 50ml.

Solution B : 0.25g de CuSO_4 dans 50ml.

1g de tartrate de Na et K dans 50ml.

Solution C : 50ml de la solution A + 1ml de la solution B.

[BSA] = 0,1mg/ml

2- Gamme étalon (solution témoin)

concentration μg/ml	0	30	50	80	100
Solution mère de BSA (μg)	0	300	500	800	1000
Eau distillée (μl)	1000	700	500	200	0

3- Réaction et mesure de l'absorption

A 0.5 ml de la solution d'échantillon contenant entre 25 et 100 μ g de protéines :

- Ajouter 2.5 ml de la solution C et mélanger ;
- Laisse 5 à 10min à température ambiante ;
- Ajouter 0,25ml de réactif de folin-Cioacalteu,
- Homogénéiser rapidement et mettre les tubes 30min à l'obscurité ;
- Après 30min, homogénéiser les solutions rapidement et lire la DO à 750nm au spectrophotomètre U.V visible contre un blanc.

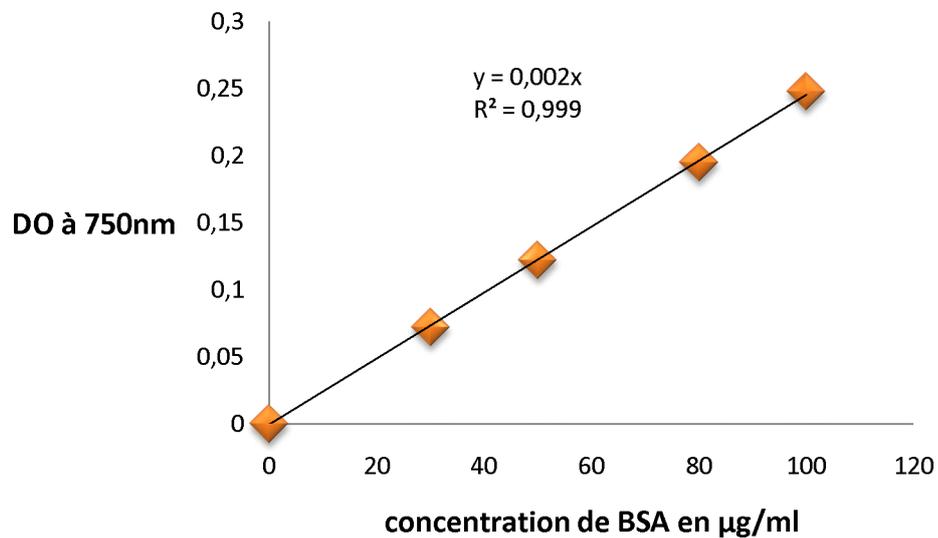


Figure 6: Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY *et al* (1951).

Annexes

Annexe 08 : Dosage des groupements acides aminés primaires libres dans le fromage par la méthode au TNBS de POLYCHRONIADOU (1988)

Réactifs chimiques

- Acide 2.4.6 trinitrobenzène-sulfonique (TNBS) de concentration 0,1% (M/V) ;
- Tampon borate (0,1M - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ dans 0,1M- NaOH , pH 9,5) ;
- Solution d'arrêt : NaH_2PO_4 (0,1 M) contenant Na_2SO_3 (1,5 mM);
- Glycine à 0,5mM.

Mode opératoire

- à 0,5 ml de la solution, ajouter 1 ml du tampon borate ;
- Ajouter 0,5ml du réactif 2.4.6.trinitrobenzène-sulfonique (TNBS) (0,1 % M/m) et agiter ;
- Incubation à 37 °C pendant 60 minutes, puis ajouter 2 ml de NaH_2PO_4 (0,1M) afin d'arrêter la réaction ;
- Lire la DO à 420 nm.
- Les témoins blancs sont préparés avec 0,5 ml d'eau distillée.

Gamme étalon

Concentrations mmol/l	0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Do à 420nm	0	0,021	0,078	0,309	0,395	0,467	0,490

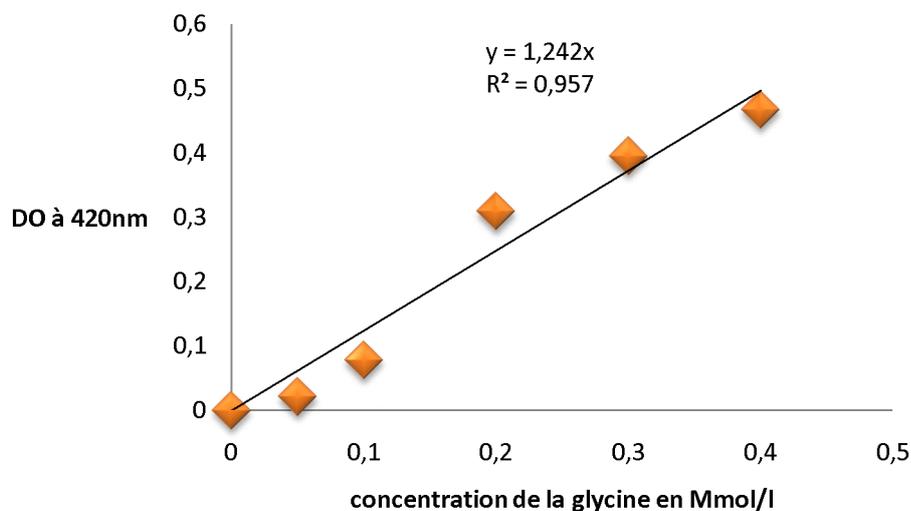


Figure 7: Courbe étalon pour le dosage des groupements a aminés libres par l'emploi de l'acide 2.4.6 trinitrobenzène sulfonique (T.N.B.S).

Annexes

Annexe 09 : Recherche de l'activité antioxydante

▪ Préparation des solutions fromagères

- Peser 20g de fromage auquel on ajoute 30ml d'eau distillée ;
- Homogénéiser bien ;
- Les solutions sont mises dans des godets ;
- acidifier les solutions fromagères en ajoutant du NaOH à 1N ;
- Les solutions sont centrifugées à 4000g pendant 15minutes et à 4°C,
- Après la centrifugation la matière grasse est éliminée,
- Filtrer les solutions fromagères en utilisant le papier filtre afin de pouvoir récupérer le surnageant (protéines sériques) utilisé dans la recherche de l'activité anti-oxydante.
- 1ml de la solution fromagère avant centrifugation et 1ml du surnageant 1^{er} et dernier jour sont utilisés.

▪ Test de piègeage du radical libre DPPH

- Préparation des différentes concentrations de (0 à 250µg/ml) de vitamine C ;
- 50ul de l'échantillon sont ajoutés à 1,95ml de la solution éthanolique DPPH ;
- 50ul de l'eau distillée sont ajoutés aussi à 1,95ml de la solution éthanolique DPPH (blanc) ;
- Incubation 30min à l'obscurité à Température ambiante ;
- Lecture à 515nm.

Solution mère [Vit C]= 250ug/ml

Gamme étalon

Concentrations µg/ml	50	100	150	200	250
Do	1,360	1,224	0,911	0,567	0,232
% d'inhibition	17,62	25,86	44,82	65,65	85,94

Annexes

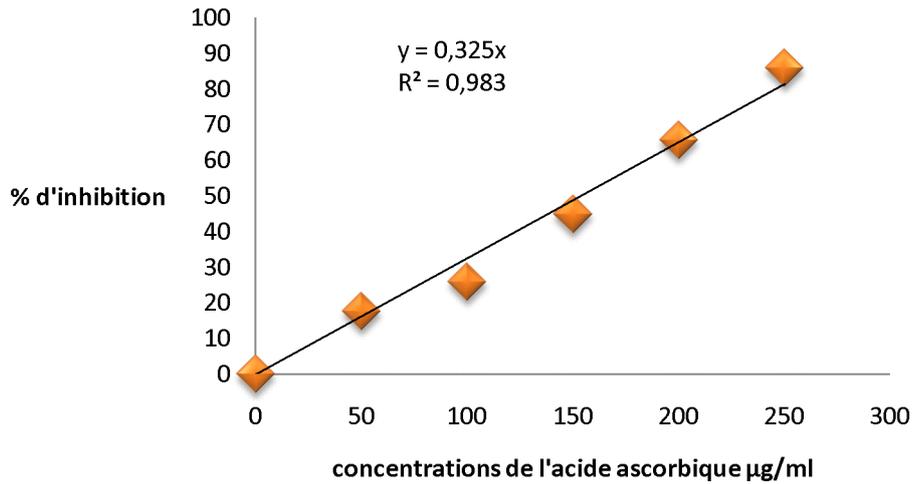


Figure 8 : courbe étalon du pourcentage d'inhibition du radical DDPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.

▪ Test de réduction de fer FRAP

Préparation des solutions

- Solution tampon phosphate :
0,5g de Phosphate monopotassique (Na_2HPO_4) dans 50ml d'eau distillée ;
0,29675g de phosphate di-sodique (KH_2PO_4) dans 25ml d'eau distillée ;
Tampon phosphate (0,2M, pH=6,6): 26,6ml de Na_2HPO_4 + 23,4ml de KH_2PO_4 ;
- 0,025 g de Chlorure de fer (FeCl_3) dans 25ml d'eau distillée ;
- 0,5g de TCA (10%) dans 50ml d'eau distillée ;
- 0,5g de ferrocyanures de potassium dans 50ml d'eau distillée.

Mode opératoire

- Préparation des différentes concentrations de l'échantillon de [0,01 à 0,1mg/ml] ;
- 1ml de l'échantillon de chaque concentration est ajouté à 1ml de la solution tampon phosphate et à 1ml de K_3Fe à 1% ;
- Incubation au bain marie à 50°C pendant 20minutes ;
- Ajout de 1ml de TCA (10%) ;
- Centrifugation des tubes à 5000g pendant 20 minutes ;
- Récupérer 1ml du surnageant + 1ml de l'eau distillée et 200ul de FeCl_3 à 0,1m ;
- Incubation 10minutes à l'obscurité ;
- Lecture à 700nm.

Annexes

- Blanc pareil que l'échantillon mais avec l'eau distillée.

Gamme étalon

Solution mère [Vitamine C] à 0,1mg/ml

Concentrations mg/ml	0	0,01	0,025	0,05	0,075	0,1
Do (nm)	0	0,104	0,391	0,769	1,188	1,436

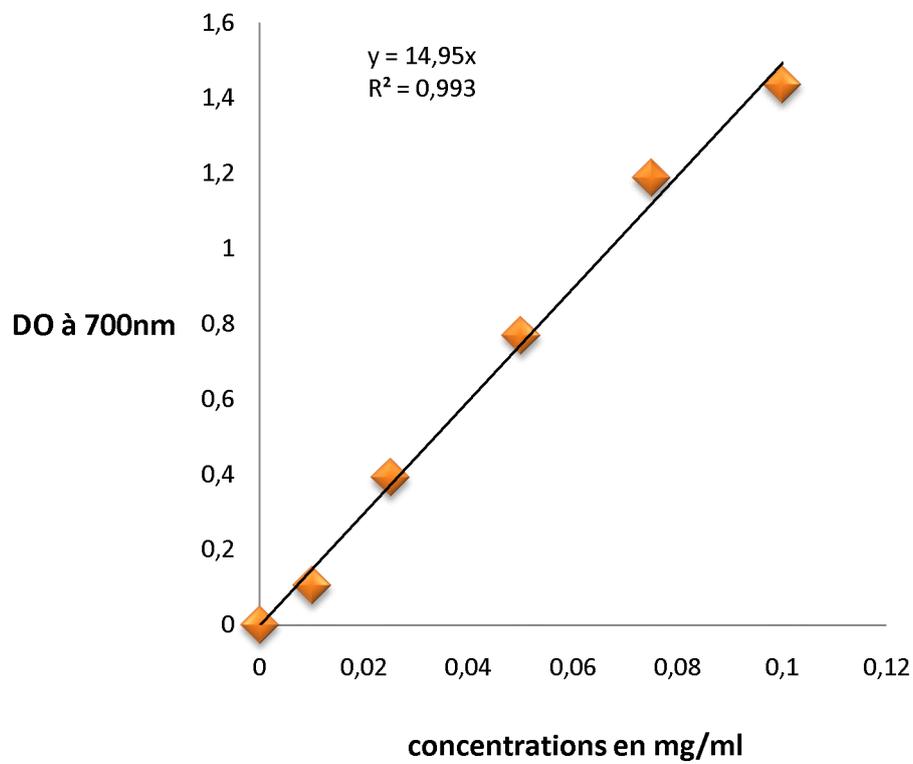


Figure 9: courbe étalon du Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique par la méthode de FRAP.

Annexes

Annexe 10 : Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques

▪ Appareillage

- Bain marie (MEMMERT) ;
- Balance de précision (DENVER INSTRUMENT)
- Bec bunsen ;
- Etuve d'incubation 37°C, 44°C (MEMMERT) ;
- Autoclave ;

▪ Autre matériel

- Verrerie (boite de pétri, tubes à essai, flacon de 250ml, pipettes) ;
- Anse pasteur ;
- Portoirs ;
- Ecouvillons ;
- Micropipette ;
- Spatule.

▪ Bouillons et milieux de culture

- Diluant : eau physiologique ;
- Antibiotique : AMIKACIN 30 ;
- Souches utilisées : *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *B.cereus* ATCC 14575,
- Extraits utilisés : surnageant brut et neutralisé, lyophilisats du surnageant (12ème jour industriel et 12ème jour artisanale),
- Disques stérile.

Nous avons utilisé les bouillons et les milieux de culture cités ci-après

- Bouillon Golitti cantoni,
- Gélose BAIRD PARKER ;
- Milieu PCA ;
- Milieu OGA ;
- Milieu MRS ;
- Milieu VRBL ;
- Mueller Hinton ;
- Brain Heart Infusion Bouillon ;
- Milieu MRS ;
- Milieu M17.

Annexes

Annexe 11 : recherche des antibiotiques dans le lait

Mode opératoire

- 0.2ml de lait sont mis dans un flacon récepteur ;
- Celui-ci est incubé à 47,5°C



Figure 10: incubateur à test rapide

- Une bandelette est plongée dans le tube et incubée à 47,5°C (2 minutes pour les β -lactames et 3minutes pour les tétracyclines).



Figure 11: test Béta star combo pour la détection des β -lactames et des tétracyclines

(www.chr-hansen.com)

Annexes

Pour l'analyse du lait deux étapes d'incubation sont réalisées :

- Pendant la première étape d'incubation, si les antibiotiques β -lactames et tétracyclines sont présents, ils se lient aux récepteurs.
- Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) présentant 3 bandes :
- Une bande retient les récepteurs qui n'ont pas de β -lactames ;
- Une bande de référence au milieu ;
- Une bande retient les récepteurs qui n'ont pas de tétracyclines.

L'apparition d'une coloration rouge intense traduit les antibiotiques.

La lecture se fait selon la coloration des bandes :

- Couleur rose : absence des antibiotiques ;
- Absence de coloration : présence des antibiotiques correspondant à la bande.

Annexe 12 : composition et préparation de l'eau physiologique (Institut Pasteur, 2003)

Composition	Quantité en g/l
Chlorure de sodium	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée; autoclave 15 min à 121 °C; pH= 7	

Annexe 13 : préparation de suspension mère et technique de dilutions selon (Lenoir 1965) modifier selon les besoins et les moyens

▪ Lait

- La suspension mère est le lait lui même ;
- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la suspension mère, dans un tube à vis stérile contenant préalablement 9ml d'eau physiologique, cette dilution est alors la 10^{-1} .
- Introduire par la suite 1ml de la dilution 10^{-1} dans un tube à vis stérile contenant 9ml du même diluant, cette dilution est la 10^{-2} ,

Annexes

- Ensuite introduire 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube stérile contenant également 9ml de l'eau physiologique pour avoir la dilution 10^{-3} .

- **Fromage :**

- Après avoir éliminé la croûte on mélange l'échantillon du fromage dans un mortier stérilisé puis on prélève 10g et on le mélange avec 90ml d'eau physiologique stérile, homogénéiser bien, cette suspension constitue la dilution 10^{-1} ;
- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la suspension mère dans un tube à vis stérile contenant 9ml d'eau physiologique, cette dilution est la 10^{-2} , et ce jusqu'à la dilution 10^{-7} .

✚ **Annexe 14 : Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)**

Composition et préparation du milieu PCA

Composition	Quantité g/l
Tryptone	6,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
Agar	15,00

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes, pH = $7 \pm 0,2$ à 25°C

- **Mode opératoire :**

- On prépare le milieu de culture (PCA) en le mettant dans un bain-marie, ensuite le milieu est refroidi à 45°C devant le bec bunsen et sur une paillasse bien stérile.
- On ajoute 1 ml de la dilution choisie dans une boîte de pétri vide et stérile et on remplit le 1/3 de la boîte avec le milieu gélosé que l'on mélange ensuite soigneusement en faisant des huit (8) pour réaliser un ensemencement homogène.
- Après solidification, on incube les boîtes de pétri à 30°C pendant 72 heures.

Annexes

- Les colonies examinées après lecture sont de formes variables et de différentes couleurs et tailles.

- **Pour la lecture**

Procéder au comptage des colonies pour chaque boîte contenant entre 30 et 300 colonies au maximum.

Calculer le nombre de bactéries par gramme en utilisant la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{(n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

N : Nombre d'UFC par gramme du produit initial ;

Σ Colonies : sommes des colonies des boîtes interprétables ;

n 1 : nombre de boîtes considérés à la première dilution retenue;

n 2 : nombre de boîtes considérés à la seconde dilution retenue;

d1 : facteur de la première dilution retenue.

✚ Annexe 15 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux : Composition et préparation du milieu VRBL (AFNOR, 1974)

Composition	Quantité
Peptone	7g
Extrait de levures	3g
Lactose	10g
Chlorure de sodium	5g
Mélange sel biliaire	1,5g
Cristal violet	0,002g
Rouge neutre	0,03g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000ml

pH= 7,4
Porter 1 litre d'eau à ébullition pendant 10 minutes et la ramener à la température ambiante ; ajouter lentement 37,5 g du mélange et attendre 5 minutes. Faire chauffer lentement en agitant jusqu'à ébullition. Ajuster le pH si nécessaire. Refroidir à 45°C pour l'ensemencement. ne pas autoclaver. Ce milieu doit être utilisé rapidement après sa préparation.

Annexes

▪ **Mode opératoire**

➤ **Coliformes totaux**

- Faire fendre la gélose VRBL à 100°C et la maintenir à 45-46°C ;
- Préparer une série de deux boîtes pour chaque dilution, ensemercer les boîtes avec 1ml de chaque dilution décimale ;
- Couler les boîtesensemencées avec la gélose VRBL environ 15ml, bien homogénéisé en effectuant des mouvements circulaires et laisser refroidir,
- Une fois la gélose refroidie, ajouter une deuxième couche de gélose VRBL pour assurer l'anaérobiose ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Coliformes fécaux**

- C'est le même mode opératoire que les coliformes totaux sauf que l'incubation se fait à 44°C pendant 24heures ;

❖ **Lecture** : les colonies à considérer sont violettes à rose-rouges, d'un diamètre voisin de 0,5 à 1mm, et entourées d'un halo rougeâtre de précipité de sels biliaires quand ceux-ci sont modifiés.

Les colonies lactose- sont incolores.

Annexes

Annexe 16 : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Composition du milieu GC

Composition	Quantité g/l
Tryptone	10
Extrait de viande de bœuf	5
Extrait de levure	5
Chlorure de lithium	5
Mannitol	20
Chlorure de sodium	5
Glycocolle	1,2
Pyruvate de sodium	3

pH = 6,9 ± 0,2

Mettre 54,2 g de poudre dans un litre d'eau distillée et chauffer doucement jusqu'à dissolution. Répartir 19 ml par tube et stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Refroidir rapidement et ajouter stérilement 0,3 ml de solution de tellurite de potassium à 3,5 %.

Composition et préparation du milieu BAIRD PARKER

Composition	Quantité g/l
Peptone	10
Extrait de viande de boeuf	4
Extrait de levure	2
Pyruvate de sodium	10
Glycocolle	12
Chlorure de Lithium	5
Agar-agar	20
Eau distillée	1000ml

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage)

Emulsion de jaune d'œuf (stérile) 50ml

Tellurite de potassium (stérile) 0,1g

pH du milieu 7,2

63 g par litre. Le milieu de base est autoclavé. Le tellurite de potassium et jaune d'œuf sont ajoutés ensuite à raison de 1 ml pour 20 ml de milieu de base. De la sulfaméthazine peut être ajoutée pour inhiber les *Proteus*.

Annexes

▪ Mode opératoire

Se fait en deux étapes :

➤ L'enrichissement

- Introduire 1ml du lait ou bien de la suspension mère dans le cas du camembert dans 15ml de GC, après homogénéisation par une simple agitation, l'incubation se fait à 37°C pendant 24heures.
- Les tubes ayant une modification de couleur virant au noir sont considérés comme positifs.

➤ L'isolement

Concerne juste les tubes positifs et on procède comme suit :

- En premier lieu couler la gélose BAIRD PARKER préalablement fondu sur boites de pétrie, laisser solidifier,
- Une fois la gélose est solide,ensemencer en surface 0,1ml de la solution du tube positif ;
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48heures ;

Lecture

- *S. aureus* donne des colonies noires, brillantes, convexes, de 1,5 mm de diamètre, entourées d'un halo clair (protéolyse) de 2 à 5 mm de diamètre. Des zones opaques peuvent apparaître plus tardivement dans le halo clair ; elles sont dues à l'activité lipolytique et lécithinolytique du germe.
- Le tellurite inhibe la croissance des germes qui ne peuvent le réduire en tellure noir, la sulfaméthazine inhibe les *Proteus* et la glycine et le pyruvate sont des nutriments favorisant la croissance. Le chlorure deithium inhibe les germes Gram -.

Annexes

✚ Annexe 17 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Composition du milieu OGA

Composition	Quantité
Extrait de levures	5g
Glucose	16g
Gélose	20g
Eau distillée	1000ml

pH = 6,8. Autoclaver 10 minutes à 121°C.

Après régénération ajouter au milieu, ramené à 50°C, 100 ml d'une solution stérile d'oxytétracycline à 1 mg / ml ou 100 ml d'une solution stérile fraîchement préparée de gentamycine à 0,5%.

➤ Mode opératoire

- Faire fondre la gélose OGA et la maintenir à 45-46°C ;
- Prendre 1ml de la suspension mère et 1ml de chaque dilution décimale et ensemercer les boites de pétri préparées ;
- Couler la gélose fondue sur les boites de pétri et bien homogénéiser ;
- Après solidification de la gélose, l'incubation se fait pendant 5 jours à température ambiante environ 25°C.
- Pour la lecture on s'intéresse aux boites ayant de 30 à 300 colonies, les résultats obtenue multiplier par l'inverse de la dilution.

Annexes

✚ Annexe 18 : dénombrement de la flore lactique

- Lactobacilles lactiques (*Lactobacillus bulgaricus*)

Composition du milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Composition	Quantités
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	0.05 g
Agar	12g
Tween80	1 ml
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage : 121°C /15min. pH=6.5±0.2 à 37°C

▪ Mode opératoire

L'ensemencement se fait en masse et en double couche.

- Faire fondre la gélose MRS à 100°C et la maintenir à 45-46°C ;
- Porter 1ml de chaque dilution dans les boîtes de pétrie ;
- Couler la gélose MRS environ 15ml et bien homogénéiser en effectuant des mouvements de huit ;
- Après solidification du milieu on ajoute une deuxième couche de gélose afin de créer l'anaérobiose ;
- L'incubation se fait à l'étuve à 37°C pendant 72h pour les mésophiles.

Annexes

- **Streptococcus lactiques**

Composition du milieu M17

Composition	quantités
Extrait de levure	2, 5g
Extrait de viande	5g
Peptone de caséine	2, 5g
Peptone de viande	2, 5g
Peptone de soja	5g
Acide ascorbique	0, 5g
B -glycérophosphate de sodium	19g
Agar	12, 75g
Sulfate de magnésium	0.25g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7.1±0.2 à 37 °C

- **Mode opératoire**

L'ensemencement se fait en masse et en double couche.

- Faire fendre la gélose M17 à 100°C et la maintenir à 45-46°C ;
- Porter 1ml de chaque dilution dans les boites de pétrie ;
- Couler la gélose M17 environ 15ml et bien homogénéiser en effectuant des mouvements de huit ;
- Après solidification du milieu on ajoute une deuxième couche de gélose afin de créer l'anaérobiose ;
- L'incubation se fait à l'étuve à 37°C pendant 72h pour les mésophiles.
 - ✓ La lecture consiste à compter les bactéries lactiques qui poussent en profondeur en formant de petites colonies blanches et lenticulaires.

Annexes

✚ Annexe 19 : composition du milieu MH et BHIB

Composition du milieu MH (MUELLER HINTON)

Composition	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300ml
Peptone de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,7g
Agar	17g

pH=7,4
38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 121,1°C

Composition du milieu BHIB (bouillon cœur cerveau)

Composition	Quantité (g)
Protéose-péptone	10
Infusion de cerveau de veau	12,5
Infusion de cœur de bœuf	5
Glucose	2
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate de sodium	2,5

pH=7,4
37g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 37g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser à l'autoclave durant 15 minutes à 121,1°C.

Annexes

Annexe 20 : résultats des analyses statistiques

pH

Tableau 1 : résultats des mesures du pH du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	4,8	5,6	6,2	5,53 ± 0,70
J6	4,6	4,5	5	4,7± 0,26
J12	4,6	5,4	5,6	5,2 ± 0,52
P- value	0,000028			

Tableau 2 : résultats des mesures du pH du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	5,2	5,3	5,3	5,2 ± 0,05
J6	4,6	4,4	4,2	4,4 ± 0,2
J12	4,6	4,5	4,9	4,6 ± 0,2
P-value	0,002091			

Tableau 3 : analyse comparative du pH au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,054		
J6 ouacif	0,019		
J12 ouacif	0,017		

Annexes

✚ Acidité

Tableau 4 : résultats des mesures de l'acidité du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	9,78	10,54	11,34	10,55 ± 0,78
J6	10,6	10,5	11,2	10,76± 0,37
J12	8,80	9,55	10,23	9,52± 0,71
P-value	0,011			

Tableau 5 : résultats des mesures de l'acidité du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	6	6,4	6,6	6,3± 0,3
J6	12,45	13,62	13,9	13,32± 0,76
J12	10,5	11,82	11,70	11,34± 0,72
p- value	0,000028			

Tableau 6: analyse comparative de l'acidité au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,000951		
J6 ouacif	0,006673		
J12 ouacif	0,037175		

Annexes

EST

Tableau 7: résultats des analyses de l'EST du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	47,78	48,60	49	48,46 ± 0,62
J6	49,86	50,21	50,72	50,26 ± 0,43
J12	54,13	54,63	54,74	54,5 ± 0,32
p-value	0,000012			

Tableau 8: résultats des analyses de l'EST du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	41,62	43,12	45,19	43,64 ± 2,32
J6	43,82	47,85	48,69	46,78 ± 2,60
J12	45,82	47,72	49,84	47,79±2,01
P-value	0,009			

Tableau 9 : analyse comparative de l'EST au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,009300		
J6 ouacif	0,008		
J12 ouacif	0,004675		

Annexes

ESD

Tableau 10: résultats des analyses de l'ESD du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	25,78	25,6	25	25,46±0,40
J6	26,86	28,21	26,72	27,26±0,82
J12	30,13	29,63	28,74	29,5 ± 0,70
P-value	0,000950			

Tableau 11 : résultats des analyses de l'ESD du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	19,82	19,72	21,84	20,46 ± 1,19
J6	19,82	23,85	22,69	20,78± 1,01
J12	18,62	21,12	25,19	21,64 ± 3,31
P-value	0,006			

Tableau 12: analyse comparative de l'ESD au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,002375		
J6 ouacif	0,016243		
J12 ouacif	0,015941		

Annexes

MG

Tableau 13: résultats du dosage de La MG du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	22	23	24	23±1
J6	23	22	24	23±1
J12	24	25	26	25±1
P-value	0,007			

Tableau 14 : résultats du dosage de la MG du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	23	22	21	22±1
J6	24	26	28	26±2
J12	26	28	28	27±1,15
P-value	0,009			

Tableau 15: analyse comparative de la MG au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,02		
J6 ouacif	0,008		
J12 ouacif	0,05		

Annexes

✚ Protéine

Tableau 16: résultats du dosage des protéines du fromage industriel aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	12,53	12,10	11,80	12,14± 0,36
J6	13,20	13,54	13,72	13,48±0,26
J12	14,20	14,72	14,80	14,57±0,32
P-value	0,000278			

Tableau 17: résultats du dosage des protéines du fromage artisanal aux différents stades d'affinage

Echantillon Jours	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
J1	10,53	12,31	11,60	11,48±0,89
J6	11,36	12,49	13	12,28±0,83
J12	12,70	13	13,60	13,1±0,45
P-value	0,01			

Tableau 18: analyse comparative des protéines au même stade d'affinage

Jours	J1 fermier	J6 fermier	J12 fermier
J1 ouacif	0,03		
J6 ouacif	0,007		
J12 ouacif	0,010508		

Annexes

✚ TNBS

Tableau 19 : résultats du dosage des acides aminés libres dans la solution fromagère au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
	E1	E1	E3	Moyenne		E1	E2	E3	Moyenne
J1	$2,3 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-4} \pm 0,17$	J1	3×10^{-3}	3×10^{-4}	$3,1 \times 10^{-4}$	$3,1 \cdot 10^{-4} \pm 0,05$
J12	$4,3 \times 10^{-4}$	$4,3 \times 10^{-4}$	$4,6 \times 10^{-4}$	$4,4 \times 10^{-4} \pm 0,17$	J12	$5,7 \times 10^{-4}$	$5,8 \times 10^{-4}$	$5,9 \times 10^{-4}$	$5,8 \times 10^{-4} \pm 0,1$
P-value	0,01				P-value	0,01			

Tableau 20 : résultats du dosage des acides aminés libres dans les protéines sériques au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
	E1	E1	E3	Moyenne		E1	E2	E3	Moyenne
J1	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-3} \pm 0,1$	J1	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$2,6 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-3} \pm 0,17$
J12	$3,8 \cdot 10^{-3}$	$3,9 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^{-3}$	$3,6 \cdot 10^{-3} \pm 0,4$	J12	$4,7 \cdot 10^{-3}$	$4,6 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$4,6 \cdot 10^{-3} \pm 0,1$
P-value	0,0008				P-value	0,01			

Tableau 21 : analyse comparative de taux d'AAL dans la solution fromagère et protéines sérique au même stade d'affinage

Solution Fromagère			Protéine sérique		
Jour	J1	J12	Jour	J1	J12
J1	0,003		J1	0,0006	
J12		0,0002	J12		0,01

Annexes

✚ DPPH

Tableau 22 : résultats de l'activité anti radicalaire de la solution fromagère au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
Jour \ E	E1	E1	E3	Moyenne	Jour \ E	E1	E2	E3	Moyenne
J1	18,7	18,6	19,7	19±0,6	J1	32,7	34,6	36	34,43±1,65
J12	50	54	55	53±2,64	J12	75,3	75,78	76,2	75,76±0,45
P-value	0,01				P-value	0,01			

Tableau 23 : résultats de l'activité anti radicalaire des protéines sériques au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
Jour \ E	E1	E1	E3	Moyenne	Jour \ E	E1	E2	E3	Moyenne
J1	5,47	5,46	5,22	5,38±0,14	J1	22	24	26	24±2
J12	23,02	23,07	23	23,03±0,03	J12	39	40	41	40±1
P-value	0,01				P-value	0,0002			

Tableau 24 : analyse comparative de taux d'AAL dans la solution fromagère et protéines sérique au même stade d'affinage

Solution Fromagère			Protéine sérique		
Jour	J1	J12	Jour	J1	J12
J1	0,01		J1	0,01	
J12		0,01	J12		0,01

Annexes

FRAP

Tableau 25 : résultats du dosage du pouvoir réducteur dans la solution fromagère au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
Jour \ E	E1	E1	E3	Moyenne	Jour \ E	E1	E2	E3	Moyenne
J1	0,23	0,24	0,19	0,22±0,02	J1	0,22	0,24	0,17	0,21±0,03
J12	0,23	0,23	0,26	0,24±0,01	J12	0,26	0,30	0,25	0,27±0,02
P-value	0,03				P-value	0,008			

Tableau 26 : résultats du dosage du pouvoir réducteur dans les protéines sériques au premier et dernier jour d'affinage.

Fromage industriel « Fermier »					Fromage artisanal « Saint-amour »				
Jour \ E	E1	E1	E3	Moyenne	Jour \ E	E1	E2	E3	Moyenne
J1	0,085	0,087	0,08	0,084±0,003	J1	0,1	0,12	0,11	0,11± 0,01
J12	0,16	0,17	0,09	0,14±0,04	J12	0,17	0,16	0,18	0,17±0,01
P-value	0,01				P-value	0,001			

Tableau 27: analyse comparative de taux d'AAL dans la solution fromagère et protéines sérique au même stade d'affinage

Solution Fromagère			Protéine sérique		
Jour	J1	J12	Jour	J1	J12
J1	0,01		J1	0,01	
J12		0,01	J12		0,04