



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse et Contrôle de Qualité des Denrées Alimentaires

Thème

L'effet de la température de stockage sur la qualité microbiologique et physico-chimique de petit-suisse

Présenté par : BELKHIRI Rebiha
HACHEMI Rania
MEHIRIS Khalissa

Devant le jury :

Président : Dr. AKBACH. A

Examineur: M. SADRATI. N

Encadrant : Dr. BOUBELLOTA. T

MCB Université de BBA

MAB Université de BBA

MCB Université de BBA

Année universitaire : 2015/2016

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير درجة حرارة التخزين على النوعية الميكروبيولوجية و الفيزيوكيميائية للجبين الطازج. أجريت التحاليل على 94 عينة التحاليل الميكروبيولوجية للجبين الطازج المحفوظ في درجة حرارة 4 د.م اعطت نتائج مرضية لكن العينات المخزنة في درجة حرارة الجو أظهرت شحنة كبيرة من ميكروبات التلف التي تعتبر نوعيتها الصحية غير مرضية نظرا للمعايير الجزائرية (الجريدة الرسمية 1998). هذا راجع الى عدم احترام شروط التبريد على مستوى المحلات. أيضا بسبب الشروط السيئة وعدم النظافة خلال التصنيع أو المرتبطة بنوعية الحليب المستعمل في تصنيعها. فيما يخص البحث عن الجراثيم اظهرت النتائج الغياب التام لهذه الجراثيم في جميع العينات بخصوص التحاليل الفيزيوكيميائية اظهرت النتائج المتحصل عليها ان الخصائص المدروسة متغيرة بقيمة معتبرة في العينات المخزنة في درجة حرارة الجو مقارنة مع المخزنة في درجة حرارة 4 د.م.

الكلمات المفتاحية: جبين طازج، درجة الحرارة، جراثيم، جودة ميكروبيولوجية، جودة فيزيوكيميائية.

Résumé

Cette étude a pour but d'étudier l'effet de température de stockage sur la qualité microbiologique et physico-chimique de fromage frais, type petit suisse. 94 échantillons ont été analysés. Les analyses microbiologiques des fromages frais stockés à 4 °C ont montrés des résultats satisfaisants, par contre les échantillons stockés à la température ambiante ont présentés une charge microbienne très élevée en germes d'altération par rapport aux normes algérienne (JORA, 1998), ce qui nous relève l'importance du-respect des conditions de réfrigération optimales de fromage frais lors de la conservation. Ces résultats alarment également sur de mauvaises conditions de manipulation et d'hygiène lors de la fabrication ou inhérente à la qualité du lait utilisé dans leur fabrication. Concernant la recherche des germes pathogènes les résultats ont révélé l'absence totale de ces germes dans tous les échantillons analysés. Sur le plan physico-chimique, Les résultats obtenus des échantillons ont montrés que les paramètres étudiés sont variés significativement à 37 °C comparativement à 4 °C.

Mots clés : Fromage frais, température, germes, qualité microbiologique, qualité physicochimique

Abstract

This work for the purpose of to study the storage temperature effect on the microbiological and physic-chemical quality of fresh cheese like "Petit Suisse". 94 samples were analyzed. Microbiological analysis of fresh cheese stored at 4 ° C have shown satisfactory results, against the samples stored at room temperature have shown a very high bioburden as weathering germs mentioned as its unsatisfactory quality contribution by the standards Algeria (JORA, 1998), which raises us from non-compliance with optimal refrigeration conditions of cheese in the shops. Also bad handling conditions and hygiene during production or inherent quality of the milk used in their manufacture. Regarding research pathogens, results showed the total absence of these organisms in all samples analyzed. On the physic-chemical level, the results obtained samples have shown that the parameters studied were significantly different at 37 ° C compared to 4 ° C

Key words: Fresh Cheese, temperature; germs, microbiological quality, physicochemical quality.

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier *Allah*, le tout puissant et le miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :
A Dr. Tahar BOUBELLOUT.A d'avoir dirigé ce travail avec une efficacité et rigueur scientifiques qui lui sont propres. Pour sa disponibilité et la patience qu'il a eue à notre égard.

A Dr. Abderrazak AKBACHE., pour sa grande contribution à l'avancement de ce travail et d'avoir accepté de juger ce travail. *Merci pour les conseils et les encouragements prodigués lors de la rédaction de ce manuscrit dont il est président.*

A M. Nouari Sadrati, d'avoir accepté de faire partie du jury, par ses conseils éclairés il ne fera qu'enrichir cette étude.

Aux professeurs. **Ali BENOUDAH** et **Mustapha GHOUL** pour leurs participation à l'élaboration de ce travail, leurs remarques n'ont fait qu'apporter un plus à ce travail.

Nous tenons à exprimer ma gratitude spéciale à **Dr. Azzedine BETTACHE**, Madame **Farida BELKHIRI** maitre assistante A, Monsieur **Mouloude AYAD** maitre de conférence B, **Dr Abd elwahabe DIAFATE** et **M. Abd elali LAAZAZEGA** et tous les enseignants de faculté SNV de l'université de mohemed El Bachir El Ibrahimi BBA.

Je tenous à exprimer toute notre reconnaissance à tous le personnel des laboratoires et spécialement à **REBAI Khalil**, **Nacer eddine MAKHOKHE**, **MIHOBE Fouade**, **Wahiba GAHFIF**, **DEHAMNA Wassima**, **MOUSSAOUI Hadna**, et **Salima SLIMANI**, **Sabrina DJEMOUI SETTI**. Sans oublier la chère Afaf.

Enfin, nous voudrions remercier toute personne a contribué de loin ou de proche à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Merci mon dieu de s'avoir donnée la foi sans laquelle je ne serais pas arrivé.

*A mes chers parents **Saïde** et **Mebarka** à qui je dois tous je dédie ce modeste travail en signe de respect et de gratitude, ceux qui m'ont prodigué tant d'affection consent pour les grands sacrifices.*

*A ma grande mère **Aïda**.*

A mes frères

*Mon chère frère **Nacer** avec sa petite famille (**Fouzia, Amina, Amine, Imane et Chayma**)*

*Mon chère frère **Laameri***

A mes sœurs

***Zina** avec sa petite famille (**Daoude, Islam, Asma et Younesse**).*

***Fatima** avec sa petite famille (**Samire, Hiba, Naaïme et Rodaina**).*

***Farida** avec sa petite famille (**Mouloude, Bouthaina et Abde Allah**).*

***Sonia** avec sa petite famille (**Abde Allah, Meriam et Rahma**).*

*A ma chère sœur **Zahra***

A mes oncles et mes tantes.

A mes amies et mes copines dans ce travail.

A tous ceux qui m'aiment et j'aime.

A toutes personnes ayant la passion du savoir et de la science.





Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mon cher père **SALIH** qui m'a beaucoup aidé avec son soutien tout
au long de mes études.*

*Ma chère mère **FATIHA** qui m'a entouré avec sa tendresse
et qui n'a cessé de prier pour moi.*

*Mes deux frères **SALIM** et **ISSAM**.*

« Je vous aime beaucoup, ma petite famille »

*A mon grand-père **IDRIS** et ma grand-mère **AICHA***

Que Dieu prolonger leurs âges

*Toute ma grande famille **HACHEMI** et **BENABOU***

Sans oublier

*mes chères amies **KHALISSA** et **REBIHA***

*A tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, mon oncle **ATHEMANE**,*

*Prof **GHOUL**, Dr **AKBACH**, Dr **SADRATI**...*

Merci à tous

RANIA





Dédicace

Je dédie ce travail

*À la source de la tendresse, ma mère **faiza** pour sa gentillesse sa douceur, pour son affection, son amour ses sacrifices et ses encouragements.*

*À mon très cher père **youcef**, pour sa confiance, ses encouragements et son soutien dans toute ma carrière d'étude dès le premier pas jusqu'à ce jour-là et qui m'appris que la patience est le Secret du succès.*

*À mon cher frère ; **Krimo** et sa femme **Fatima**.*

*À mes irremplaçables sœurs ; **Wafia** et son mari **Nabil**, **Katiba** et **Hocin**, **Sousou** et **Abd errezzak**
Et beaucoup plus L'adorable **Nawel**.*

*À mes chères petites **Aya**, **Lina**, **Abd el-raouf**, **Mouhamed** et **Ayoub**, **Abd el-ali**, **Rihabe**, **Abd el-moumane** et **Alaa**.*

*À ma chère grand-mère « **mama Zohra** » rabi ykhalih.*

*Mes chers oncles : **Tayeb** et **Yazid***

*À ma grand famille « **Mehiris** »*

*À ma très cher binôme **Rania** et **Rebiha**.*

À tous mes enseignants surtout

*Monseieurs : **Akbatche**, **Boubellouta** et **Sadrati***

*À mes amis ; **Sara**, **Ilhame**, **Hanan**, **Rahma**.**Meriem**, **Wahiba** et **Wassima**, **Hodna** ...*

À toutes qui ma connaît.

Khalissa.M



Liste des abréviations

Abs : Absence.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

Ca : Calcium.

Cm : centimètre.

Cn : caséine

CO₂ : Dioxydes de carbone.

Coli fécaux : Coliforme fécaux.

Coli totaux : Coliforme totaux.

E. Coli : *Escherichia Coli*.

Ensem : Ensemencement.

EPET : Eau Peptoné Exempte d'Indole.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FB : Fromage blanc.

FTAM : Flore aérobie mésophile totale.

g : gramme.

GAMT : germe aérobie mésophile totale.

h : heure.

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

Kcal : Kilocalorie.

Kg : kilogramme.

l : litre.

m³ : mètre cube.

m.p.a : milli pascalle.

Met : Méthionine.

Mg : Magnésium.

MG : matière grasse.

mg: milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

MS : matière sèche .

ms : milli siemens.

N° : Nombre.

Na : Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

NB : Note bien.

Nbre : Nombre.

OGA: Oxytetracycline Glucose Agar.

PCA: Plate Count Agar.

pH : potentiel d'hydrogène.

Phe : Phénylalanine.

PS : petit-suisse.

S : seconde.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

S1 : semaine un.

S2 : semaine deux.

S3 : semaine trois.

S4 : semaine quatre.

S5 : semaine cinq.

SC: Simple concentration.

SM : Suspension mère.

T : Température.

T/min : Tour par minute.

UFC/ml : Unité Formant de Colonie par milli litre.

V/P : volume sur le poids.

VRBG : violet cristal rouge neutre bile glucosée.

α : Alpha.

β : Béta.

γ : Gamma

κ : Kappa.

Liste des figures

Figure 01 : Modèle à structure ouverte de la micelle de caséine.....	06
Figure 02: La filière des produits laitiers.....	07
Figure 03 : Schéma de la fabrication des fromages blancs nature, salés ou sucrés, aromatisés, type campagne en faisselle, petits suisses.....	13
Figure 04: Schéma général des analyses réalisées sur le fromage frais.....	17
Figure 05: Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température (variété X).....	24
Figure 06: Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température (variété Y).....	24
Figure 07 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température (variété X).....	25
Figure 08 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température (variété Y).....	25
Figure 09 : Evolution de la FTAM en fonction du temps et de la température (Variété X)....	26
Figure 10 : Evolution de la FTAM en fonction du temps et de la température (variété Y)....	27
Figure 11: les variations du pH en fonction de temps et de la température.....	28
Figure 12 : Les variations de la densité en fonction du temps et de la température	29
Figure 13: les variations de la viscosité en fonction de temps et de la température.....	29
Figure 14: Les variations de la conductivité en fonction du temps et de la température.....	30
Figure 15 : les variations de l'acidité titrable en fonction du temps et de la température.....	31
Figure 16 : Les variations de la teneur en protéines en fonction de temps et de la température.....	32
Figure 17: Les variations de la teneur en matière grasse en fonction du temps et de la température.....	32

Figure 18: Les variations de la teneur en lactose en fonction du temps et de la température.....	33
Figure 19: les variations de la synérèse en fonction du temps et de la température.....	34
Figure 20: Les variations de la granulométrie en fonction du temps et de la température	35

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des protéines du lait.....	05
Tableau II : Composition moyenne d'une micelle de caséine.....	06
Tableau III: Composition nutritionnelle pour 100g de fromage blanc ou 100g de petit-suisse	09
Tableau IV: rôle des ferments lactiques en fromagerie.....	11
Tableau V: Origine de la contamination du fromage frais et les espèces correspondantes....	16

Sommaire

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Générale	1
------------------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : GENERALITES SUR LE LAIT

I.1 Définitions du lait.....	3
I.2. Composition physico-chimique du lait.....	3
I.2.1. Eau.....	3
I.2.2. Matière grasse.....	3
I.2.3. Matière azotée.....	4
I.2.4. Glucides.....	4
I.2.5. Matière minérale.....	4
I.2.6. Constituants mineurs.....	4
I.3. Protéines du lait.....	4
I.3.1. Les protéines du lactosérum.....	4
I.3.2. Les protéines des caséines.....	5
I.4. Technologie laitière.....	6
I.4.1. Définition des fromages.....	7
I.4.2. Différents types de fromage.....	8

Chapitre II: Fromages frais

II.1. Fromages frais.....	9
II.2. Composition du fromage frais.....	9
II.3. Classification du fromage frais.....	10
II.3.1. Petit-suisse.....	10
II.3.1.1. Matières utilisées dans la fabrication du « petit-suisse ».....	10
II.3.1.1.1. Matière première.....	10
II.3.1.1.2. Matières entrant dans la fabrication du « petit suisse ».....	11
II.4. Fabrication du fromage frais.....	12
II.4.1. Pasteurisation du lait.....	12
II.4.2. Caillage.....	12
II.4.3. Egouttage spontané(ou accéléré par centrifugation).....	12
II.5. Microflore du fromage frais.....	13
II.5.1. Flore bénéfique (flore lactique).....	14
II.5.2. Flore d'altération.....	14
II.5.2.1. Bactéries psychrotrophes (genre <i>Pseudomonas</i>).....	14
II.5.2.2. Coliformes.....	14
II.5.2.3. Levures et moisissures.....	15
II.5.3. Flore pathogène.....	15
II.5.3.1. <i>E.coli</i>	15
II.5.3.2. Salmonelles.....	15
II.5.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.5.3.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	15
II.6. Origine de la contamination du fromage frais.....	16

Partie expérimentale

Chapitre III: Matériel et méthode

III.1. Introduction	17
III.2. Description des échantillons analysés	17
III.2.1. Echantillonnage	18
III.2.1.1. Prélèvements.....	18
III.2.1.2. Techniques de prélèvement.....	18
III.2.1.3. Appareillage et produits chimiques.....	18
III.3. Analyses microbiologiques	18
III.3.1. Préparation des milieux de culture.....	18
III.3.2. Préparation de la solution mère et des dilutions décimale.....	19
III.3.3. Recherches et dénombrement de la flore d'altération.....	19
III.3.3.1. Coliformes totaux.....	19
III.3.3.2. Coliformes fécaux.....	19
III.3.3.3. Levures et Moisissures.....	19
III.3.3.4. Flore aérobie mésophile totale (FTAM).....	20
III.3.4. Recherche et dénombrement de la flore pathogène.....	20
III.3.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
III.3.4.2. Streptocoques fécaux.....	20
III.3.4.3. Salmonelles.....	20
III.4. Analyses physico –chimiques	21
III.4.1. Détermination du pH.....	21
III.4.2. Détermination de La densité.....	21
III.4.3. Détermination de la viscosité.....	21
III.4.4. Détermination de La conductivité.....	21
III.4.5. Détermination de l'acidité.....	21
III.5. Analyses biochimiques	22
III.5.1. Dosage de la protéine.....	22
III.5.2. Dosage de la matière grasse.....	22
III.5.3. Dosage du lactose.....	22
III.5.4. Dosage de la synérèse.....	22
III.5.5. Dosage de la granulométrie.....	23
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1. Flore microbienne.....	24
IV.1.1. Coliformes totaux.....	24
IV.1.2. Levures et moisissures.....	25
IV.1.3. Flore totale mésophile aérobie (FTAM).....	26
IV.1.4. Salmonelles, <i>staphylococcus aureus</i> , coliformes fécaux et streptocoques fécaux.....	27
IV.2. Limites d'analyses microbiologiques	27
IV.3. Analyses physico –chimiques	28
IV.3.2. Détermination du pH.....	28
IV.3.2. Détermination de la densité.....	28
IV.3.3. Détermination de la viscosité.....	29
IV.3.4. Détermination de la conductivité.....	30
IV.3.5. Détermination de l'acidité Dornic.....	31
IV.4. Analyses biochimiques	32
IV.4.1. Dosage des protéines.....	32
IV.4.2. Dosage de la matière grasse.....	32

IV.3.3. Dosage de lactose.....	33
IV.3.4. Synérèse.....	34
IV.3.5. La granulométrie.....	34
Conclusion	36
Perspectives	37
Références bibliographiques	
Annexe	
ملخص	
Résumé	
Abstract	

Introduction

Introduction générale

Le lait et ses dérivés sont des aliments de haute valeur nutritionnelle très riche en protéines, lipides, glucides et surtout par un apport en oligo-éléments tel que le calcium. De ce fait il occupe une place importante dans la ration alimentaire humaine dans la plus part des pays ayant un niveau de vie bas, moyen ou élevé (Mehnoune et Ferhoul, 2015)

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né. Il est destiné à lui fournir les éléments énergétiques, structuraux et immunologiques dont il a besoin dans les premiers stades de la vie (Ouadghiri, 2009).

L'homme utilise le lait produit par certains mammifères domestiques comme un aliment. Dans le monde entier, les fermes laitières ont produit environ 730 millions de tonnes de lait en 2011 (Ofstedal, 2012).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par année. Une grande partie de cette quantité est destinée par transformation à la fabrication de différents types de ses dérivés, parmi lesquelles le fromage frais (Mehnoune et Ferhoul, 2015).

D'origine très ancienne, les fromages blancs frais, au sens large, sont des produits apparus dès le néolithique, fabriqués et consommés dans toutes les grandes régions d'élevage du monde. Fabriqué artisanalement ou industriellement, le fromage blanc est une pâte de consistance semi-fluide et crémeuse qui se consomme nature, salé ou sucré, et intervient dans de très nombreux mets (Vierling, 2003).

Les diverses technologies employées permettent de distinguer plusieurs types de fromage frais tel que le fromage frais type « petit suisse » qui est obtenu avec du lait de vache enrichi en crème. Il doit être de forme cylindrique avec un poids de 30g ou de 60g (Syndifrais, 2011).

Cependant, la production du petit-suisse, se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Le maintien de la chaîne de froid le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du petit-suisse aux consommateurs passant aux vendeurs, comportent au tant de source de contamination à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du petit-suisse (Mehnoune et Ferhoul, 2015).

Le risque d'altération possible de petit-suisse par différents micro-organismes utiles ou pathogènes nécessite un suivi microbiologique et physico-chimique rigoureux dès les unités

de fabrication jusqu'à la réception au niveau des centres commerciaux et même aussi durant le stockage chez ces derniers.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude .elle se donne comme objectif d'évaluer le degré de contamination microbiologique du petit-suisse considéré comme un produits destiné à l'alimentation des enfants.

Notre recherche concernera les germes témoins de défaut d'hygiène: flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, et streptocoques fécaux, levure et moisissure ainsi que les germes pathogènes : Salmonelles., *Staphylococcus aureus*.

L'objectif de notre travail est de déterminer la qualité hygiénique et sanitaire du petit-suisse en fonction de la température de stockage et consiste à :

- Faire un contrôle microbiologique des deux marques du petit-suisse (l'une est locale notée: X et l'autre est multinationale noté: Y), stockés à deux températures différentes [température recommandé 4 °C et température ambiante] ;
- Faire un contrôle physico-chimique de la variété X stocké à 4 °C et à 37 °C.

Chapitre I : Généralité sur le lait cru

Chapitre I : Généralités sur le lait cru

I.1. Définition

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né. Il est destiné à lui fournir les éléments énergétiques, structuraux et immunologiques dont il a besoin dans les premiers stades de la vie (Ouadghiri, 2009).

Traditionnellement, le lait de vache a été considéré comme un aliment de base dans de nombreux régimes alimentaires. C'est une boisson saine puisque sa consommation est associée à une alimentation de qualité. Il fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels: des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (Steijns, 2008).

I.2. Composition physico-chimique du lait

Le lait est un liquide blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races. Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (Ouadghiri, 2009).

Le lait est considéré comme une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse, comprenant de nombreux éléments, dont les uns sont à l'état dissous et les autres sous la forme colloïdale. Il renferme une grande quantité d'eau 87%, le lactose (4,8 %), les lipides (3,7%), la caséine (2,6%), l'azote non protéique (urée, créatinine), les protéines du petit lait (0.6%) et les sels minéraux (Doyle et *al.*, 2001).

I.2.1. Eau : L'eau est l'élément quantitativement le plus important (900 à 910 g/L). Elle représente la phase aqueuse dans laquelle sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998).

I.2.2. Matière grasse : La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe dans le lait écrémé (Boutonnier, 2008). La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g/L (Luquet, 1985). Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (Goursaud, 1985).

I.2.3. Matière azotée : Au moment de la traite, le lait de vache contient en moyenne 32 g/L de matière azotée. Cette dernière est constituée d'une fraction essentiellement protéique (95%), le reste étant composé d'urée, de créatine, de créatinine, d'ammoniaque, d'acides aminés libres, de vitamines et de nucléotides (Amiot et *al.*, 2002). Les protéines du lait se répartissent en deux grandes classes: les caséines (α_1 , α_2 , β et κ) (80%) et les protéines du sérum ou protéines solubles (20%) constituées essentiellement de β -lactoglobuline, d' α -lactalbumine, de protéoses-peptones et d'immunoglobulines (Amiot et *al.*, 2002).

I.2.4. Glucides : Le sucre principal du lait est le lactose; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50 g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985). Le lactose est fermentescible par de nombreux microorganismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (Morrissey, 1995).

I.2.5. Matière minérale : La matière minérale du lait (7 à 7,5 g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique (Luquet, 1985). Les minéraux sont présents dans le lait, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement bio-disponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (Mathieu, 1998).

I.2.6. Constituants mineurs : Le lait contient des éléments mineurs tel que le pigment (β carotène), des enzymes (lipase, phosphatase, protéase, lacto-peroxydase), des vitamines (A, D, B et K), et de gaz dissous (gaz carbonique, oxygène, azote) (Amiot et *al.*, 2002). Cette présence dans le lait de tous les éléments essentiels de l'alimentation humaine a fait dire, pendant longtemps, que le lait est un aliment complet. Grâce aux progrès de la chimie et de la nutrition, on s'est rendu compte de sa pauvreté en fer, en certains oligo-éléments des vitamines et en fibres (Konte, 1999).

I.3. Protéines du lait : On distingue 2 grands groupes de protéines : les protéines des caséines et les protéines du lactosérum (Tableau I).

I.3.1. Les protéines du lactosérum : Elles représentent 15 à 28 % des protéines du lait de vache et 17 % des matières azotées. Elles demeurent en solution dans le «sérum isoélectrique» obtenu à pH = 4,6 à 20 °C ou dans le sérum présure exsudé par le coagulum formé lors de l'emprésurage. (Pougheon, 2001).

Les protéines de lactosérum se diffèrent des caséines par leur composition, leur structure et diverses propriétés. Leur teneur élevée en lysine, tryptophane, cystéine et autres acides aminés soufrés leur confère une très bonne valeur nutritionnelle. Leur structure est plus compacte : ces protéines fixent peu les ions et résistent à l'action des protéases. Elles sont plus sensibles à la chaleur car dénaturées par chauffage (à 100 °C) et forment des flocons où elles deviennent alors, sauf les protéoses-peptones, insolubles (Pougheon, 2001).

Tableau I : Classification des protéines du lait. (Brunner, 1981).

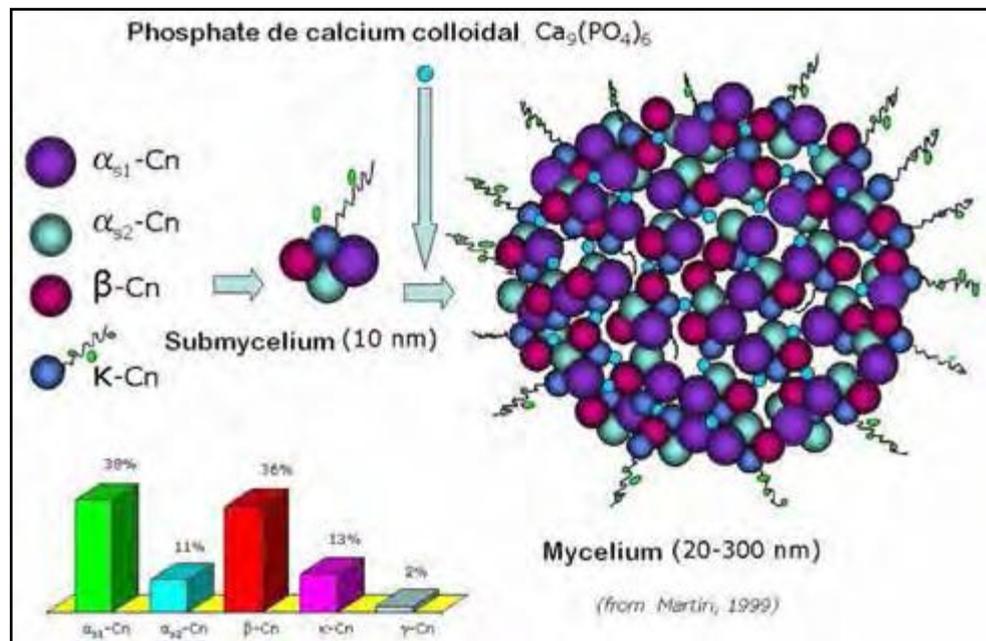
Noms	% des protéines	Nombre d'acides aminés
Caséines	75-85	
Caséine α 1	39-46	199
Caséine α 2	8-11	207
Caséine β	25-35	209
Caséine κ	8-15	169
Caséine γ	3-7	
Protéines du lactosérum	15-22	
β -Lactoglobuline	7-12	
α -Lactalbumine	2-5	162
Sérum-albumine	0,7-1,3	123
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1,9-3,3	582
Protéoses-peptones	2-4	

I.3.2. Les protéines des caséines : Les caséines constituent la fraction majeure des protéines du lait. Cette fraction est la plus déterminante en matière de technologie fromagère. Ces protéines se présentent dans le lait sous forme de micelles qui sont des complexes organiques et minéraux. Les micelles précipitent sous l'action de la présure ou lors d'une acidification à un pH d'environ 4.6 (Ilboudo et *al.*, 2012).

La micelle est une particule sphérique d'environ 180 nm constituée de submicelles de 8 à 20 nm, elle est très hydratée (2 à 4 g d'eau par g de protéine) et 7% environ de son extrait sec est composé de sels (phosphate, calcium, magnésium, citrate dans l'espace inter submicellaire) (tableau II) (Pougheon, 2001). Une micelle de caséine est formée par l'association des caséines α 1, α 2, caséine β , caséine κ et des minéraux, notamment le calcium et le phosphate. La micelle contient 20000 à 150000 molécules de caséines (Figure 01) (Ilboudo, 2012).

Tableau II : Composition moyenne d'une micelle de caséine (Alais, 1984).

Composés	Teneur en g / 100g	Composés	Teneur en g / 100g
Caséines	93,3	Constituants salins	6,7
α_{s1}	35,6	Phosphate	2,9
α_{s2}	9,9	Ca	2,9
β	33,6	Citrate	0,4
κ	11,9	Mg	0,1
γ	2,3	Autres minéraux	

**Figure 01** : Modèle à structure ouverte de la micelle de caséine (Holt et Horne, 1996).

I.4. Technologie laitière

Dans des buts technologiques et nutritionnels particuliers, l'industriel laitier peut modifier la composition biochimique du lait et des produits laitiers grâce à l'utilisation de technologies. Par les connaissances acquises en science et en technologies laitières au cours des dernières années, il est actuellement possible de fabriquer industriellement ou expérimentalement des laits modifiés au niveau de leur composition protéique, lipidique, minérale et glucidique. Ces modifications peuvent être quantitatives et / ou qualitatives (Gaucheron et Tanguy, 2009).

A partir du lait, l'homme est capable de produire toute la famille des produits laitiers. Il existe de nombreux procédés technologiques propres à chaque produit laitier : crème, beurre, fromage frais, fromage affiné... ces procédés demandent une grande maîtrise et une rigueur technologique (Figure n°02).

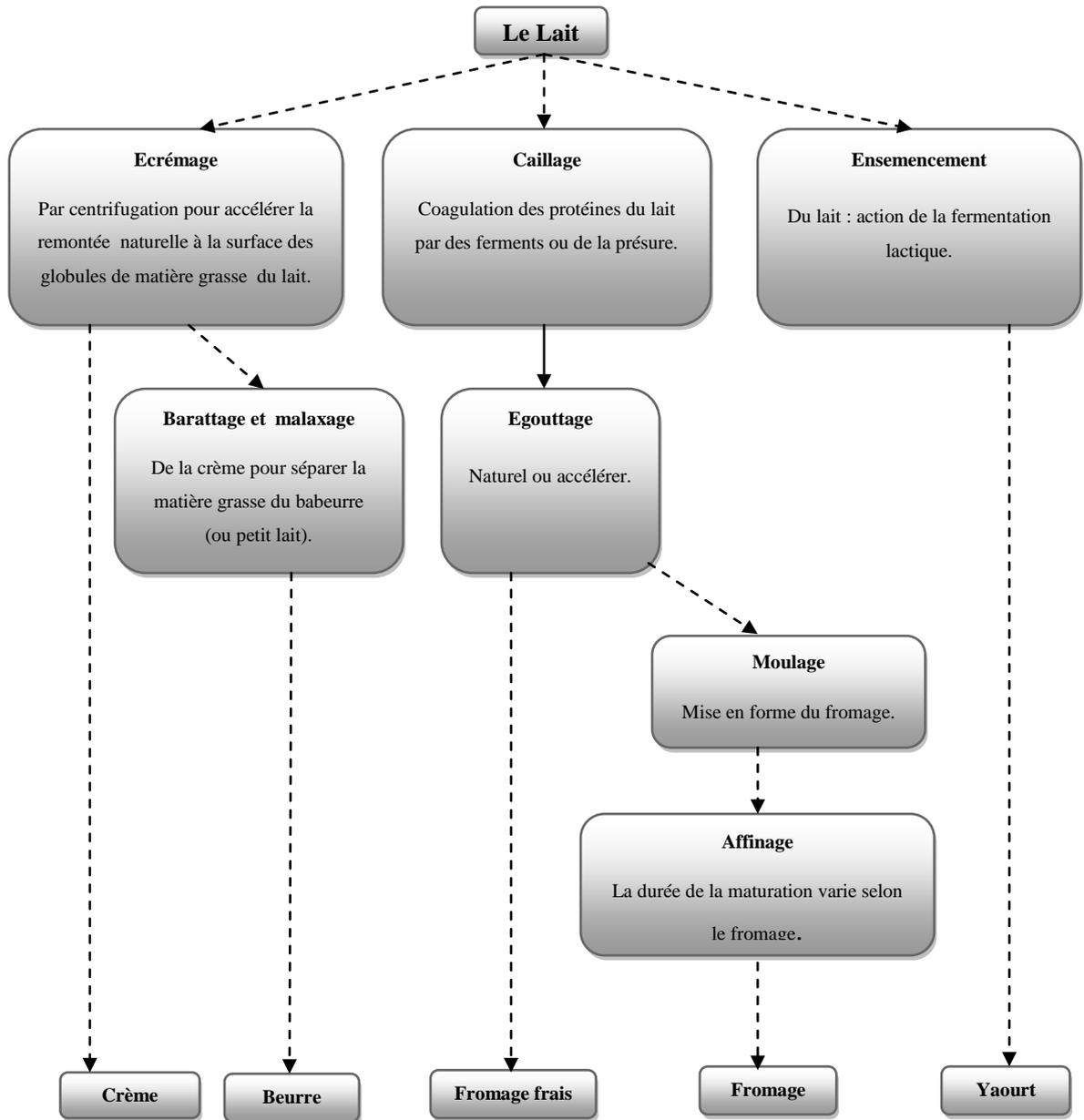


Figure 02: La filière des produits laitiers

I.4.1. Définition des fromages

Les fromages sont des formes de conservation ancestrales de la matière utile de lait (Protéines, matière grasse ainsi qu'une partie de calcium et le phosphore). Ils sont issus du lait de vache, chèvre ou brebis. Leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'Homme dans tout le globe (Belbeldi, 2013).

La dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes: lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse (MG), babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse. La teneur minimale en matière sèche (MS) du produit ainsi défini doit être de 23 g pour 100 g de fromage (Djafri et Djaout, 2015).

I.4.2. Différents types de fromage

Les fromages sont classés en grandes catégories selon différents critères tels que l'espèce animale, la teneur en eau et la technologie de fabrication. Selon ce dernier critère, les fromages sont classés en sept grandes catégories (Hamada et Debbakh, 2014, Djafri et Djaout, 2015):

- Fromage frais ou pâte fraîche;
- Les pâtes molles à croûte lavée ou à croûte fleurie;
- Les pâtes persillées;
- Les pâtes pressées cuites ou non cuites;
- Les pâtes dures;
- Les pâtes filées;
- Le fromage fondu.

Dans ce travail, nous sommes étudiés le fromage frais type petit-suisse qui est présenté dans le chapitre II.

Chapitre II : Fromage frais et petit-suisse

Chapitre II : Fromages frais et petit-suisse

II.1. Fromages frais

Le fromage frais est un fromage non affiné qui a subi une fermentation principalement lactique et de présure. Les fromages blancs fermentés et commercialisés avec le qualificatif «frais» ou sous la dénomination «fromage frais» doivent renfermer une flore (ferments) vivante au moment de la vente au consommateur. Sous leur action, le lait se sépare en deux phases : le caillé, solide, et le lactosérum, liquide (Syndifrais, 2011). D'autres étapes (égouttage, centrifugation, fouettage, ajout de crème ou moulage) permettent d'obtenir de la faisselle, du fromage blanc lissé ou du petit-suisse

II.2. Composition du fromage frais

La composition du fromage frais et sa valeur calorique sont présentées dans le tableau III.

Tableau III : Composition nutritionnelle pour 100 g de fromage blanc ou 100 g de petit-suisse à chaque % de la matière grasse (Syndifrais, 2011).

Type de fromage blanc (FB) ou de petit suisse (PS)	Apport calorique (Kcal/100g)	Protéines (g/100g)	Lipides (g/100g)	Glucides (g/100g)	Calcium (mg/100g)
FB lissé nature 0%	48	7,4	0,2	4,0	118
FB lissé nature 3,3 %	78	7,9	3,3	3,8	123
FB lissé nature 6,1%	105	9,2	6,1	3,3	107
FB lissé nature 7,7%	113	7,3	7,7	3,6	112
FB campagne nature 0%	43	5,0	0,1	4,9	127
FB campagne nature 6,7%	92	4,2	6,7	3,7	123
PS nature 5,1%	98	9,6	5,1	3,5	117
PS nature 9,4%	136	9,6	9,4	3,3	112
PS nature 18,5%	215	8,9	18,5	3,3	96
FB type suisse aux fruits 3,3%	107	6,4	3,3	13,0	100
FB type suisse aux fruits 6,4%	143	6,4	6,4	15,0	92

La teneur en matières grasses des fromages blancs est variable selon le type de fromage. Depuis 2007, elle est exprimée de façon obligatoire par rapport au poids du produit fini. Dans l'ancienne réglementation, la teneur en matière grasse était calculée par rapport à l'extrait sec du produit par exemples: un fromage blanc autre fois étiqueté 20% MG, contient en réalité 3,3% de lipides. Il est maintenant étiqueté 3,3% MG, ou un fromage blanc autrefois étiqueté

40% MG, contient en réalité 7,7% de lipides. Il est maintenant étiqueté 7,7% MG (Syndifrais, 2011).

II.3. Classification du fromage frais

L'égouttage lent se fait en sacs ou en filtres ou bien en cuves, mais les technologies modernes d'ultrafiltration ou de centrifugation du caillé maigre permettent d'obtenir un égouttage rapide. Les diverses technologies employées permettent de distinguer (Gret, 2002) :

- Fromages blancs moulés où le caillé garde son individualité à l'état de blocs ou de grains ;
- Fromages blancs frais à structure homogène : à l'extrait sec faible et à texture onctueuse comme les fromages battus ou lissés, à l'extrait sec plus élevé et texture à tartiner comme les petits suisses.

La teneur en matière sèche peut être abaissée jusqu'à 11-15 % pour les fromages frais, selon que leur teneur en matière grasse est au moins 20 g pour 100 g de fromage après une dessiccation complète (Luquet, 1985).

II.3.1. Petit-suisse

C'est un fromage défini précisément par le décret français N° 2007-628 relatif aux fromages ce que sont les fromages blancs. Il est obtenu avec du lait de vache enrichi en crème. Il doit être de forme cylindrique avec un poids de 30 ou de 60g (Syndifrais, 2011).

II.3.1.1. Matières utilisées dans la fabrication du « petit-suisse »

II.3.1.1.1 Matière première

❖ **Lait cru** : en général le lait matière première récolté chez le producteur y reste seulement quelques heures (de 12 à 48heures, voire 72 heures selon les régions et les périodes de l'année) avant d'être collecté et ensuite traité dans un établissement de transformation (lait, fromage ...). (Debry et Leseur, 2001) ;

❖ **Poudre de lait** : le lait en poudre est un produit pulvérulent obtenu par l'évaporation de l'eau du lait. C'est un lait dont toute l'eau a été éliminée pour ne laisser que la matière sèche sous forme de poudre. Cette déshydratation assure sa longue conservation dans les emballages fermés à l'abri de l'air et l'humidité. (Keilling et Dewilde, 1985).

II.3.1.1.2. Matières entrant dans la fabrication du « petit suisse »

❖ **Crème fraîche** : selon la norme codex alimentarius, la crème est « le produit laitier plus ou moins riche en matière grasse séparé du lait, qui se présente sous la forme d'une émulsion du type graisse dans lait écrémé » (Luquet et Coorieu, 2005). La crème fraîche est constituée simplement du lait concentré en matière grasse à environ 10 fois (lait entier : 35 g/kg ; crème 350 g/kg) (Anonyme, 1995).

❖ **Ferments lactiques** : les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryote, hétérotrophes et chimioorganotrophes (Leveau et bouix, 1986). Les bactéries lactiques à gram+, généralement immobiles, jamais sporulées, anaérobies facultatives (Leveau et Bouix, 1993). Par leur métabolisme et leur activité enzymatique variée, elles déterminent dans une large mesure l'arôme, la saveur et la texture de ces produits (Tableau IV).

Tableau IV : Rôle des ferments lactiques en fromagerie (Alian et *al.*, 2007)

Propriété des ferments lactiques	Effet sur les produits
	Abaissement du PH : Conservation des produites. Limitation du développement des bactéries nuisibles.
	Modification de la micelle de caséine : - Modification de la structure du caillé.
Transformer les sucres en acide lactique	- Classification des fromages suivant le niveau de déminéralisation (caillé présure, mixte, lactique). - Solubilisation des minéraux liés à la caséine. Sur texture des fromages: -Action Si la pâte minérale : texture souple homogène. -Si la pâte déminéralisée : texture friable, cassante, diminution de la concentration en lactose.
Transformer les sucres en CO₂	Libération du CO₂
	Formation de diacétyle (arome) : - Recherche en produit frais (yaourt, beurre pâte fraîche et pâte molle).
	Protéolyse pendant la maturation : - Activation de la croissance (peptides, acides aminés). - Modification de la texture, couleur, flaveur.
Transformer la caséine	-Epaississement du milieu : yaourt, pâtes fraîches.
Produire des polysaccharides	- Augmentation de la viscosité par libération de polysaccharides pendant la fermentation lactique.

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la conservation et l'innocuité des dérivés laitiers, elles agissent même sur la digestion en assurant une amélioration de l'équilibre microbiologique intestinal (Hassainya et *al.*, 2006).

Elles ne se développent pas en dessous de 8 à 10°C : la réfrigération bloque donc leur multiplication. Elles sont détruites par la pasteurisation (Anonyme, 2009). Le type des ferments lactiques utilisés est les ferments Mésophiles. Ces ferments se présentent sous forme liquide, congelée ou lyophilisée (Eck et Gillis, 1997).

❖ **Présure:** la présure d'origine animale constituée principalement de la chymosine et un peu de la pepsine est le coagulant le plus utilisé. Elle appartient à la famille des endopeptidases, c'est-à-dire des peptidases agissant à l'intérieure des chaînes polypeptidiques constituant les protéines. Elles procèdent une activité très spécifique, car elle n'hydrolyse que la caséine-k pendant les fabrications fromagères (Vignola et *al.*, 2002).

II.4. Fabrication du fromage frais

Les fromages frais sont des fromages non affinés. Leur fabrication comprend trois étapes essentielles, à savoir, la pasteurisation du lait, le caillage et l'égouttage spontané (Figure 03) (Syndifrais, 2011).

II.4.1. Pasteurisation du lait : La pasteurisation du lait pendant quelques minutes permette notamment de détruire les germes pathogènes.

II.4.2. Caillage : C'est la coagulation du lait tiède en présence de ferments lactiques et d'une enzyme de coagulation (exemple : présure).

II.4.3. Egouttage spontané (ou accéléré par centrifugation)

L'égouttage spontané (ou accéléré par centrifugation) permet de séparer le caillé du lactosérum (petit lait). On peut également concentrer le lait préalablement à la fermentation en éliminant partiellement la partie aqueuse (par ultra filtration par exemple). Les fromages frais sont en général peu égouttés. Le caillé est ensuite mis en pots (fromages frais de type "faisselle"). Il peut aussi être battu (fromages blancs lisses) et éventuellement additionné de crème ou d'autres ingrédients (sucre, fruits...), salé ou aromatisé. Tous les fromages frais sont immédiatement réfrigérés et stockés en chambre froide. Les modalités de stockage et de conservation (durée et température) sont bien encadrées (la température doit toujours se situer entre 0° et 6°C et la date limite de consommation est courte pour que le produit garde toute sa fraîcheur).

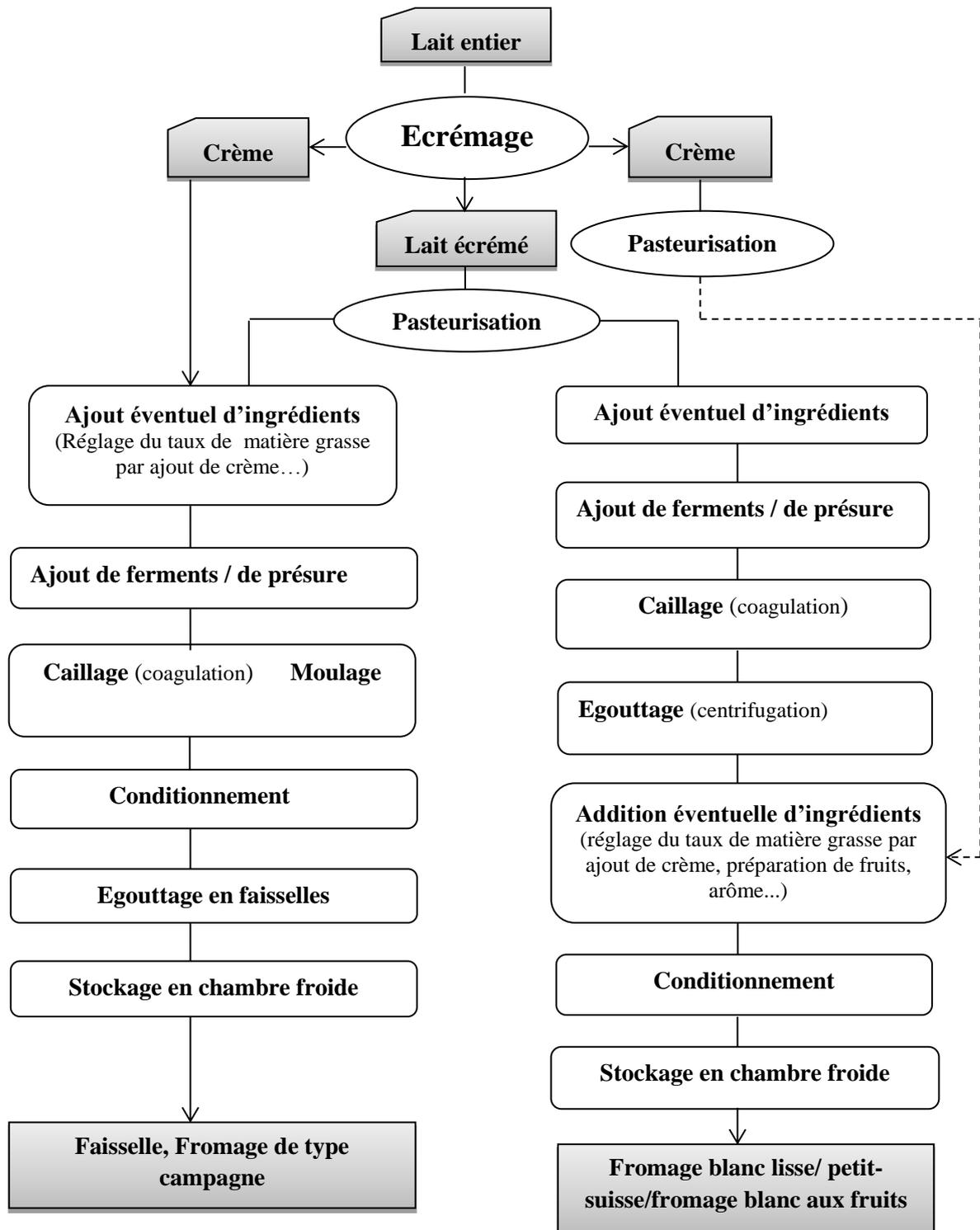


Figure 03 : Schéma de la fabrication des fromages blancs nature, salés ou sucrés, aromatisés, type campagne en faisselle, petits suisses (Syndifrais, 2011).

II.5. Microflore du fromage frais

Il est très difficile de mentionner toutes les espèces intervenant dans la fabrication des fromages car elles sont très nombreuses, en particulier dans le cas des produits au lait cru et dans les productions fermières, de plus il y a des variations régionales et saisonnières entre les différentes productions fromagères (Guiraud, 2003). La microflore des fromages frais est

composée d'un grand nombre de micro-organismes (2 à 3.10^9 UFC/g), de différentes origines (lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, levains) et appartient à des groupes et des espèces très divers, ainsi que celle issue du manipulateur et des animaux (Mahaut et *al.*, 2000).

II.5.1. Flore bénéfique (flore lactique)

Ce sont des bactéries responsables de l'acidification du lait, maturation de la crème et la coagulation de la caséine du lait (caillage) (Roissard et Luquet, 1994). Cette flore intervient au côté des levains éventuellement rajoutés dans la fermentation des fromages fabriqués à partir de lait cru (Guiraud, 2003). Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles caractérisés par la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (Badis et *al.*, 2005).

Les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes :

- Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose ;
- Hétérofermentaire : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique plus d'autres composés : éthanol, CO₂ ...etc. (Priyanka et Pakash, 2009).

II.5.2. Flore d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le produit, provoquant des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et/ou libération en leur seins de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, odeur, d'aspect et de texture (Hermier et *al.*, 1992).

II.5.2.1. Bactéries psychrotrophes (genre Pseudomonas)

Ce sont des bactéries à Gram négatif, aérobies strictes, bacilles ou coccobacilles, à oxydase positive, capables de se développer à 7 °C. On les trouve souvent sur la peau des mamelles de vache et dans les laits cru réfrigérés. Ce genre peut développer dans le fromage une viscosité, un mauvais aspect et goût et une mauvaise couleur (Guiraud, 2003).

II.5.2.2. Coliformes

Appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae, capables de fermenter le lactose. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, à oxydase négative, se développant à une température de 35°C - 37°C , ces coliformes peuvent être

responsables de gonflement précoces dans le fromage, ce dernier étant dû à la formation d'hydrogène très peu soluble dans le fromage (Tormo, 2010).

II.5.2.3. Levures et moisissures

Elles sont rencontrées dans le fromage (peu dans le lait), elles sont responsables de changement d'aspect du produit, d'altérations organoleptiques et de modifications chimiques (Larpen, 1997).

II.5.3. Flore pathogène

Les fromages frais peuvent contenir des entérobactéries pathogènes (E.coli, salmonelles...) (Guiraud, 2003)

II.5.3.1. *E. coli*

Ce sont des bacilles à Gram négatif, fermentant le glucose, leur présence fournit une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par les bactéries pathogènes d'origine digestive (Federighi, 2005) et certaines souches sont pathogènes (Chahd, 2007).

II.5.3.2. Salmonelles

Appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Bien que leur présence dans les produits est rarissime, il convient de les rechercher sur un grand nombre de produits et plus particulièrement ceux consommés par les sujets à haut risque, car les salmonelles peuvent provoquer des toxi-infections très graves (Guiraud, 2003).

II.5.3.3. *Staphylococcus aureus*

Cocci à Gram positif, non sporulés à coagulase positive, aérobies ou anaérobies, mésophiles (Laurent et al., 1998). Les mammites sont la principale source de contamination du lait cru (Saubusse, 2007).

II.5.3.4. *Listeria monocytogenes*

Ce sont des petits bacilles à Gram positif, non sporulés, mobiles, ou immobiles, aérobies ou anaérobies facultatifs, à catalase positive, oxydase négative, capable de se multiplier entre 0-10°C (Federighi, 2005). Sa présence a été observée fréquemment dans le lait et les produits laitiers et dans les fromages en particulier (Berche, 1999).

II.6. Origine de la contamination du fromage frais

Les fromages frais se contaminent par des apports microbiens d'origines diverses, ces dernières sont présentées dans le tableau V.

Tableau V: Origine de la contamination du fromage frais et les espèces correspondantes (Guiraud, 2003).

Origine de contamination	Exemples d'espèces
<i>Fèces et tégument de l'animal</i>	Lait contaminé par: coliformes, entérocoques, Clostridium, entérobactéries pathogènes (Salmonella, Shigella, Yersinia).
<i>Sol</i>	Streptomyces, Listeria, bactéries sporulées, spores fongiques
<i>Litières et aliments</i>	Flore banale: lactobacilles, <i>Clostridium butyriques</i>
<i>Eau et air</i>	Pseudomonas, bactéries sporulées
<i>Équipement de traite et de stockage du lait</i>	Microcoques, levures, flore lactique, lactobacilles, Streptococcus, entérocoques
<i>Manipulateur (peau 10^2-10^4 $\mu\text{-o/cm}^2$ pour la peau, cheveux, plis, abcès)</i>	Staphylocoque dans le cas de la traite manuelle, coliformes

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Introduction

Les analyses ont été effectuées au niveau des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers (université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arréridj). Les analyses microbiologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie du 21 mars au 02 mai 2016 et les analyses physico chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de biochimie, du 21 mars au 16 mai 2016. Les différentes analyses sont résumées dans la figure 04.

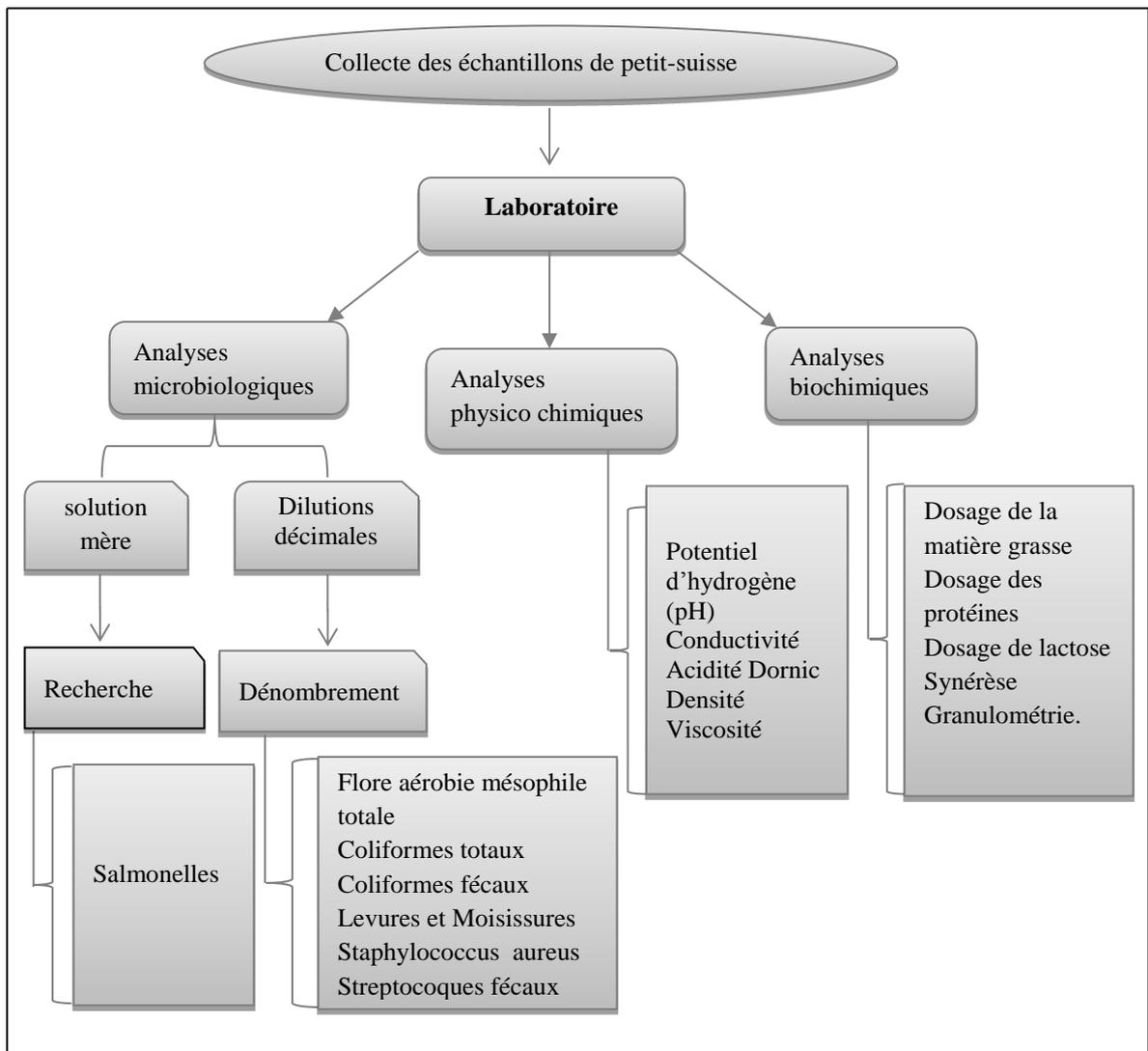


Figure 04: Schéma général des analyses réalisées sur le fromage frais

III.2. Description des échantillons analysés

Dans ces analyses deux variétés de fromage frais (petit-suisse) ont été utilisées, l'une d'une marque locale notée X et l'autre d'une marque multinationale notée Y. Faute de temps et de moyens aux laboratoires, les analyses physico-chimiques et biochimiques n'ont été

réalisées que pour la variété (X). La moitié des échantillons sont stockées dans l'étuve à 37 °C et le reste est conservé dans le réfrigérateur entre 4 et 6 °C.

III.2.1. Echantillonnage

Afin de réduire la distance de transport, les échantillons ont été achetés d'un commerce proche de l'université et situé au niveau de commune El Anassir.

III. 2.1.1. Prélèvements

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques portent sur un nombre total de 94 échantillons (24 échantillons pour les analyses microbiologiques et 70 échantillons pour les analyses physico-chimiques et biochimiques). Les prises d'essais sont réalisées le matin juste après la réception des pots du petit suisse achetés.

III. 2.1.2. Techniques de prélèvement

Les prélèvements pour les analyses microbiologiques, doivent s'effectuer aseptiquement à partir l'homogénéisation du pot de petit-suisse par une spatule stérile, dans un bécher stérile couvré avec un papier aluminium. Le bécher et la spatule sont couvertes par le papier aluminium et stérilisés dans le four pasteur pendant 20 min à 80 °C. Par contre le prélèvement pour les analyses physico-chimiques et biochimiques nécessite seulement une homogénéisation du pot par une spatule propre.

III. 2.1.3 Appareillages et produits chimiques

Tous les appareils et réactifs utilisés dans cette étude sont mentionnés en détail dans les annexes 01.

III.3. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques recommandées pour les fromages frais; lait cru et lait en poudre sont présentées dans l'annexe 02.

III.3.1. Préparation des milieux de culture

En fonction des besoins et de germes à rechercher, les milieux de culture sont préparés suivant le mode opératoire indiqué sur l'étiquette de la boîte de chaque milieu de culture. Pour préparer un milieu, on pèse la quantité voulue qu'on mélange avec de l'eau distillée dans les

proportions indiquées sur le protocole de préparation de chaque milieu de culture. Ce mélange est chauffé et bien homogénéisé dans une erlenmeyer, le tout fait par un agitateur magnétique. La stérilisation du produit se fait à l'autoclave (121 °C pendant 15 min) et le milieu ainsi préparé est conservé dans un réfrigérateur à 4 °C (Annexe 03). La composition de chaque milieu de culture est présentée dans l'annexe 04

III.3.2. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Au laboratoire, l'échantillon subit un traitement permettant d'obtenir les dilutions décimales selon la norme AFNOR (NF V08-010, Mars 1996). Dans un flacon stérile sont introduits 25 g petit-suisse auxquels sont ajoutés 225 ml d'eau physiologique stérile. Le contenu du flacon est homogénéisé et laissé au repos pendant 30 minutes à température ambiante, pour assurer la revivification des micro-organismes. La solution ainsi obtenue constitue la suspension mère (SM) à 10^{-1} . En prélevant 1 ml de la SM qu'on ajoute à 9 ml d'eau physiologique contenus dans un tube, on réalise la dilution 10^{-2} . Ainsi de suite on réalise des dilutions (10^{-3} ... 10^{-8}). Le mode opératoire plus détaillé est donné en annexe 05.

III.3.3. Recherches et dénombrement de la flore d'altération

III.3.3.1. Coliformes totaux

Il s'effectue sur le milieu VRBG (Annexe n°06) selon la norme AFNOR (NF V08-060,1996) 1 ml de la solution mère et ses dilutions décimal (10^{-1} ... 10^{-8}) est ensemencé en masse dans la gélose, puis incubé à 37 °C pendant 48h (Bachtarzi, 2012).

III.3.3.2. Coliformes fécaux

Un aliquote (1ml) de la solution mère et ses dilutions décimal selon le type d'échantillon (10^{-1} ... 10^{-8}) est ensemencé en masse dans de la gélose VRBG, puis incubé à 44 °C pendant 48h (Annexe n° 06) (Bachtarzi, 2012).

III.3.3.3. Levures et moisissures

Un ml de la solution mère et ses dilutions décimal (10^{-1} ... 10^{-8}) est ensemencé en masse dans la gélose OGA, ou bien 0,1 ml de la dilution choisie (10^{-1} ... 10^{-8}) et ensemencé en surface dans la même gélose puis incubé à 28 °C pendant 5 jours. Les colonies des levures et moisissures sont dénombrées séparément, selon la norme AFNOR (XP V 059,1996) (Voir l'annexe n°07).

III.3.3.4. Flore aérobie mésophile totale (FTAM)

Il est réalisé dans la gélose PCA, après ensemencement en masse de 1 ml de la solution mère et ses dilutions décimales (10^{-1} ... 10^{-8}) et incubation à 28 ou à 30 °C pendant 72 h (Guiraud, 2003). (Voir l'annexe n° 08).

III.3.4. Recherche et dénombrement de la flore pathogène

III.3.4.1. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)

Le dénombrement des *S. aureus* s'effectue sur le milieu sélectif Baird Parker (annexe n°09) selon la norme AFNOR (NF V08-057-1 et -2,1996). Il est réalisé après ensemencement en surface de 0,1 ml de la solution mère et ses dilutions décimales (10^{-1} ... 10^{-8}) et incubation à 37 °C pendant 24h.

III.3.4.2. Streptocoques fécaux

Test présomptif: Le dénombrement des streptocoques fécaux s'effectue sur milieu sélectif Rothe à raison de deux tubes par dilution. A partir 1 ml des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-5}) et incubé à 37 °C pendant 24 à 48 h.

Test confirmatif: Chaque tube de Rothe positif fera donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une micropipette (1 ml) sur un tube contenant le milieu Eva Litsky. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24h (Voir l'annexe n°10) (Bachtarzi, 2012).

III.3.4.3. Salmonelles

Préparation de la solution mère: Une portion de 25 g de petit-suisse est constituée en prélevant après homogénéisation du pot du petit-suisse puis mise en suspension dans 250 ml de solution de citrate de Na (dilution 10^{-1}) (Guiraud, 2003).

Enrichissement et isolement: L'enrichissement nécessite deux étapes, un pré-enrichissement dans lequel 0,1 ml de la solution mère sont ensemencés dans 5 ml d'eau Peptoné Exempte d'Indole (EPEI) et incubés à 37 °C pendant 24h. A partir de milieux troubles, un enrichissement est effectué en inoculant 0,1 ml du milieu de pré-enrichissement dans 5 ml d'EPEI. Après incubation à 37 °C pendant 24h, un isolement est effectué par ensemencement de 0,1 ml du milieu d'enrichissement en surface d'une gélose Hektoène. Cette dernière est incubée à 37°C pendant 24h (Larpen, 1997 modifiée) (Voir l'annexe n°11).

III.4. Analyses physico -chimiques

III.4.1. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) (NF V 04-316)

Le terme pH sert à désigner le degré ou l'intensité d'acidité, la valeur du pH logarithme de l'inverse de la concentration en ions H^+ dans une solution. Il est mesuré par un pH-mètre (Vignola, 2002) (voire l'annexe n°12).

III.4.2. Détermination de la densité

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'un corps à celle du même volume d'eau (ou d'air pour les gaz), et elle nous renseigne sur le taux de matière solide et sur viscosité de la solution. Elle est mesurée par un densitomètre (Mathieu, 1998) (voire l'annexe n°13).

III.4.3. Détermination de la viscosité

La viscosité : c'est la propriété d'un fluide qui tend à empêcher son écoulement c.-à-d. les fluides de grande viscosité résistent à l'écoulement mais les fluides de faible viscosité s'écoulent facilement. Quand la quantité de la matière gras ou de la protéine augmente, la viscosité va augmenter. Elle est mesurée à l'aide d'un viscosimètre (RION visco-tester VT-03F ser. N°8481887), son unité est mpa.s (voire l'annexe n°14).

III.4.4. Détermination de la conductivité

La conductivité électrique est la propriété d'un corps ou d'une substance à transmettre le courant électrique. Elle se mesure en millisiemens par centimètre (mS/cm).

Cette propriété est majoritairement due aux ions (essentiellement chlorures, phosphates, citrates, carbonates et bicarbonates de potassium, sodium, calcium et magnésium) (voire l'annexe n°15) (Jacquinet, 2009).

III.4.5. Détermination de l'acidité Dornic

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 mol/l. La présence de phénolphthaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle). Cette acidité est exprimée en

degré DORNIC (°D) où: 1°D représente 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait (Mathieu, 1998) (Voir l'annexe n°16).

III.5. Analyses biochimiques

III.5.1. Détermination de la teneur en protéine

Dans la littérature, un grand nombre de méthodes est utilisé pour le dosage quantitatif des protéines du lait (protéines totales, caséines, protéines du lactosérum) telle que méthode de Kjeldahl. La méthode utilisée pour le dosage quantitative des protéines du fromage frais (petit-suisse) c'est la mesure du poids des protéines précipité par centrifugation avant le séchage totale de lactosérum, le mode opératoire est plus détaillé dans l'annexe n°17 (AOAC., 1985).

III.5.2. Détermination de la teneur en matière grasse

Tout récemment, M. PIEN, dans .la Revue Le Lait, a passé en revue les différentes méthodes de dosage de la matière grasse (MG) dans les fromages, toutefois dans le but, comme il l'indique, de choisir une méthode industrielle rapide (Florentin, 1939).

La méthode utilisée pour le dosage quantitative de (MG) dans le fromage frais (petit-suisse) c'est une méthode rapide qu'elle s'agit de mesurer le poids de (MG) issu de la centrifugation avant le séchage totale de lactosérum, le mode opératoire est plus détaillé dans l'annexe n°18.

III.5.3. Détermination de la teneur en lactose

La teneur en lactose est déterminée par spectrophotométrie. À 1 ml de petit-suisse on ajoute 1 ml d'eau phénolée et 5 ml d'acide sulfurique. L'ensemble est homogénéisé mécaniquement sur vortex (Cadillac) puis porté cinq minutes à ébullition. L'absorbance est lue à 490 nm contre un témoin préparé avec de l'eau distillée. Un courbe étalon est réalisé à partir d'une solution mère contenant 1 g/l de lactose (AFNOR, 1993) (voire l'annexe n°19).

III.5.4. Détermination de la synérèse

La synérèse est une étape importante de la fabrication fromagère. Le lait passe tout d'abord d'un état liquide à un état de gel appelé coagulum puis la synérèse démarre et

transforme le coagulum en caillé. Le réseau protéique constituant le gel se contracte et expulse une fraction liquide, le lactosérum. La quantité de lactosérum rejeté et sa dynamique (vitesse de la synérèse) ont une influence sur le développement microbien lors de l'affinage. La synérèse peut affecter fortement la qualité finale du fromage (Guillemin et *al.*, 2009).

La détermination de la synérèse de fromage frais a été mesurée directement par une éprouvette graduée de 10 ml (voire l'annexe n°20)

III.5.5. Détermination de la granulométrie

La mesure de la taille des grains améliorerait le processus de fabrication fromagère. Guillemin et *al.*, (2006), s'appuyant sur le brevet de Perret et *al.*, (2002), ont développé un système de mesure en temps réel de cette taille basé sur une mesure optique et une mesure de contrainte. Cette dernière permet de tenir compte de l'agitation. Ce système simple et facile à mettre en œuvre s'est révélé insuffisant pour une application industrielle malgré l'utilisation de traitements avancés du signal optique: une seule mesure en un point ne donne pas la précision voulue (Guillemin et *al.*, 2009).. La détermination de différentes taille des grains de fromage frais (petit-suisse) été mesuré par l'introduction d'un volume de petit-suisse dilué sur un morceau de bois dont le compte de ces gains se fait à l'œil nu (voire l'annexe n°21).

Chapitre IV : Résultats et discussions

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Flore microbienne

IV.1.1. Coliformes totaux

Pour la variété X, les coliformes totaux présentent une charge de l'ordre $9,1.10^2$ UFC/g dans le produit stocké à température ambiante, ils sont absents dans le produit stocké à 4 °C. (Figure n° 05).

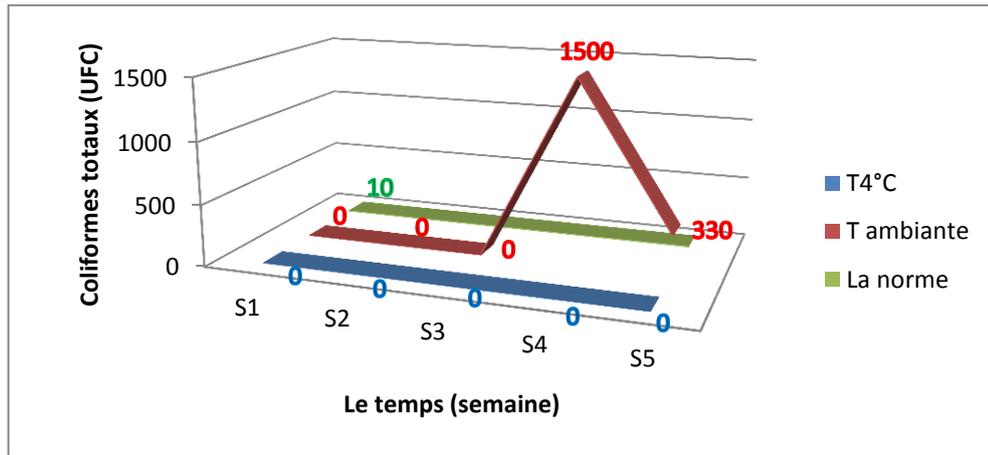


Figure 05: Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température (variété X).

La charge moyenne des coliformes totaux dans la variété Y est de l'ordre de $1,4.10^3$ UFC/g à 4°C, et en ce qui concerne les échantillons stockés à température ambiante sa valeur moyenne est $1,5.10^5$ UFC/g. (Figure n°06) Ces valeurs ne sont pas conformes aux normes du journal officiel ; elles dépassent largement le nombre de germes autorisé (10 UFC) (JORA, 1998).

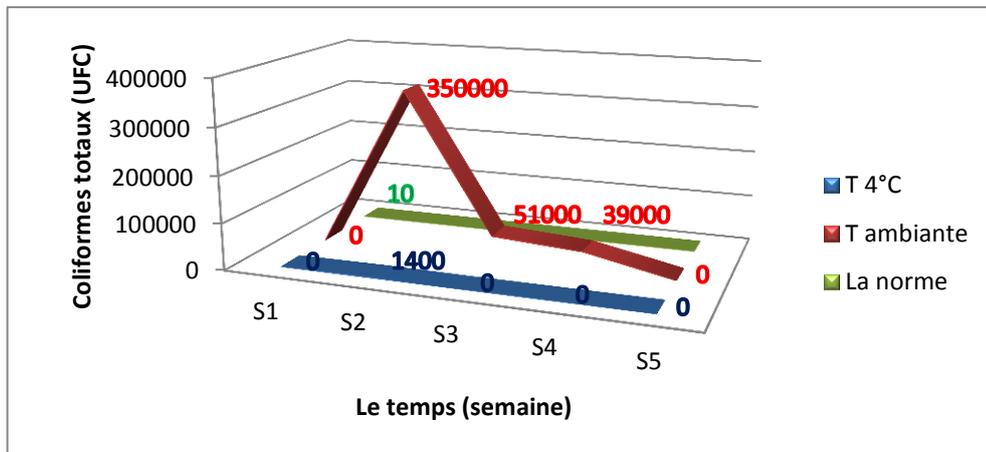


Figure 06: Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température (variété Y).

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication (Larpen, 1997), mais aussi une grande probabilité grâce aux manipulateurs durant la fabrication du petit suisse.

IV.1.2. Levures et moisissures

La charge moyenne en levures et moisissures est de l'ordre de $5,4 \cdot 10^8$ UFC/g à 4°C et de $3 \cdot 10^9$ UFC/g à température ambiante pour la variété X. (Figure n° 07).

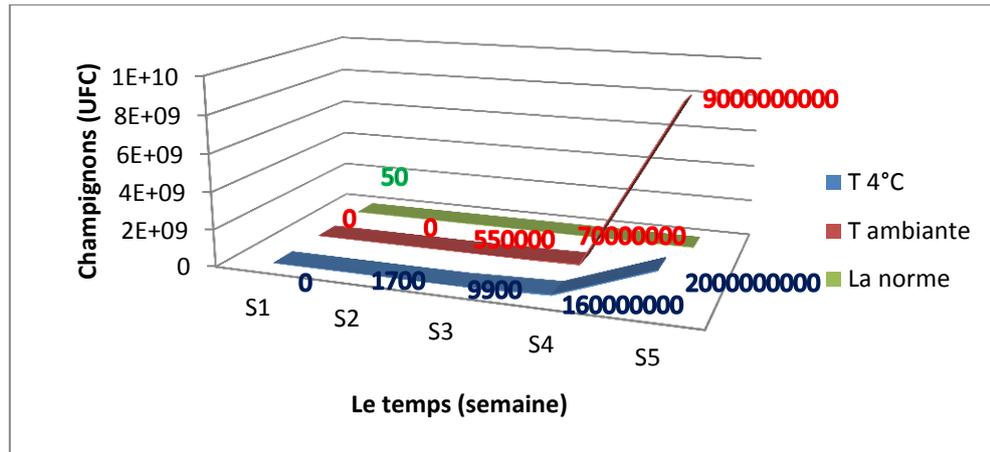


Figure 07 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température (variété X).

Pour la variété Y, elle est de $9 \cdot 10^5$ UFC/g à 4°C et de $1,1 \cdot 10^9$ UFC/g à Température ambiante. Ces valeurs sont largement supérieures à celles préconisées par les normes algériennes (50 UFC). (JORA, 1998). (Figure n° 08).

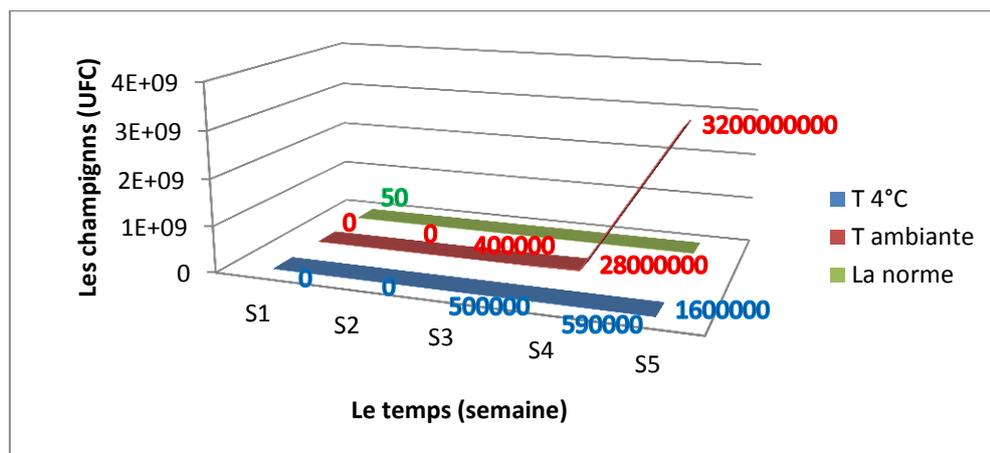


Figure 08 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température (variété Y).

Les levures et moisissures ont un pH optimal de croissance situé entre 4,5 et 6,5 (Bourgeois et Larpent, 1989), elles peuvent donc parfaitement se développer dans le fromage frais et y provoquer des altérations, comme l'odeur d'éthanol et le gonflement par suite de la fermentation.

En effet, selon Bourgeois et Larpent (1989), de nombreuses moisissures ne sont pas inhibées par l'acidité et disposent, avec le saccharose et le lactose résiduels, d'une source abondante d'énergie. Ceci justifie la charge élevée des levures et moisissures. La flore fongique est le résultat des mauvaises conditions d'hygiène lors des manipulations lors du processus technologiques de fabrication et autres conditions environnementales.

IV.1.3. Flore totale mésophile aérobie (FTAM)

Les résultats de dénombrement de la FTAM présente indiquent une charge moyenne de l'ordre de $2,9 \cdot 10^4$ UFC/g et $5,4 \cdot 10^5$ UFC/g à 4°C et à température ambiante, respectivement. Ceci indique que le produit stocké à 4°C est conforme à la norme soit (10^5 UFC) (JORA, 1998), par contre le seconde produit dépasse légèrement la norme autorisée (Figure n° 09).

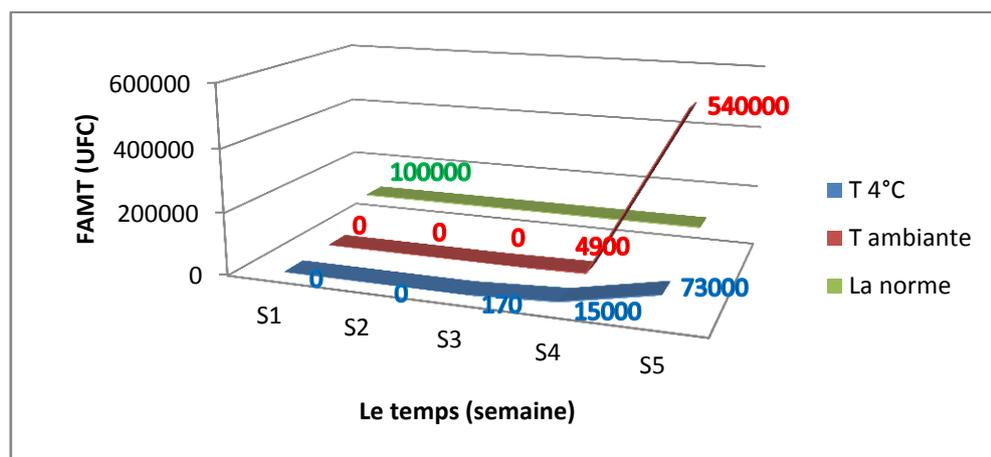


Figure 09 : Evolution de la FTAM en fonction du temps et de la température (Variété X).

La charge moyenne de la variété Y est de l'ordre de $7 \cdot 10^5$ UFC/g à 4°C et de $8 \cdot 10^5$ UFC/g à température ambiante. Ces valeurs sont largement supérieures aux normes algériennes. (Figure n° 10).

Ces résultats indiquent une évolution de la charge microbienne est observée chez les deux variétés de fromage frais. Cette augmentation est plus prononcée à température ambiante.

Cette prolifération est la conséquence probable de mauvaises pratiques d'hygiène au cours de la fabrication des fromages industriels (Guiraud, 2003).

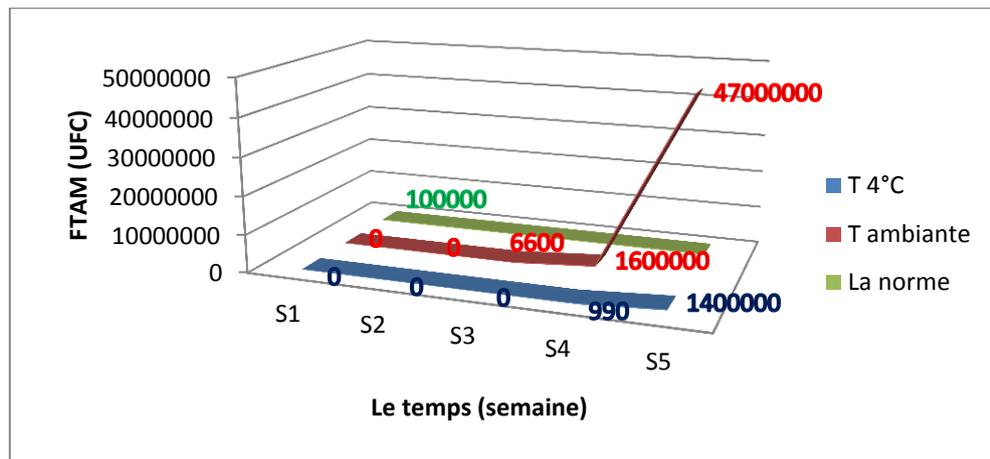


Figure 10 : Evolution de la FTAM en fonction du temps et de la température (variété Y).

Cette flore aérobie mésophile est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits pendant le stockage, ainsi que de la propreté des installations et des manipulations. (Guiraud, 1998).

IV.1.4. Salmonelles, *staphylococcus aureus*, coliformes fécaux et streptocoques fécaux

La recherche des salmonelles et des *staphylococcus aureus* et le dénombrement des coliformes fécaux et streptocoques fécaux montrent une absence totale de ces germes dans les deux variétés de petit suisse stockés à différentes températures (4 °C et la température ambiante).

Les résultats négatifs que nous avons obtenus alors sont conformes aux normes du journal officiel algérien (JORA N° 35 du 27 mai 1998).

L'absence des germes pathogènes dans les échantillons est probablement la conséquence de l'utilisation de matières premières de qualité microbiologique satisfaisante et du respect des règles de l'hygiène durant les opérations de préparation de petits suisse. Cependant, cette absence peut être renforcée par l'inhibition induite par les bactéries lactiques (Alias, 1984), par la production des substances inhibitrice (peroxyde d'hydrogène et/ou bactériocines) contre ces germes.

IV.2. Limites d'analyses microbiologiques

Les analyses bactériologiques ont été réalisées dans des conditions difficiles qui peuvent être à l'origine de légères différences dans les résultats microbiologiques. Ces résultats sont à prendre comme des ordres de grandeur plutôt que comme des résultats précis.

IV.3. Analyses physico-chimiques

IV.3.1. Détermination du pH

La cinétique de la variation du pH est mesurée, les résultats sont indiqués dans la figure n°11.

Les valeurs du pH diminuent d'une manière générale, pour la température de stockage de 4°C les valeurs de quatre semaines obtenues sont 5,03 ; 5 ; 4,97 ; 4,9 respectivement, avec une moyenne 4,98. Pour la température de stockage de 37°C, les valeurs varient durant quatre semaines respectivement 5,03 ; 4,80 ; 4,77 ; 4,72 de moyenne 4,83.

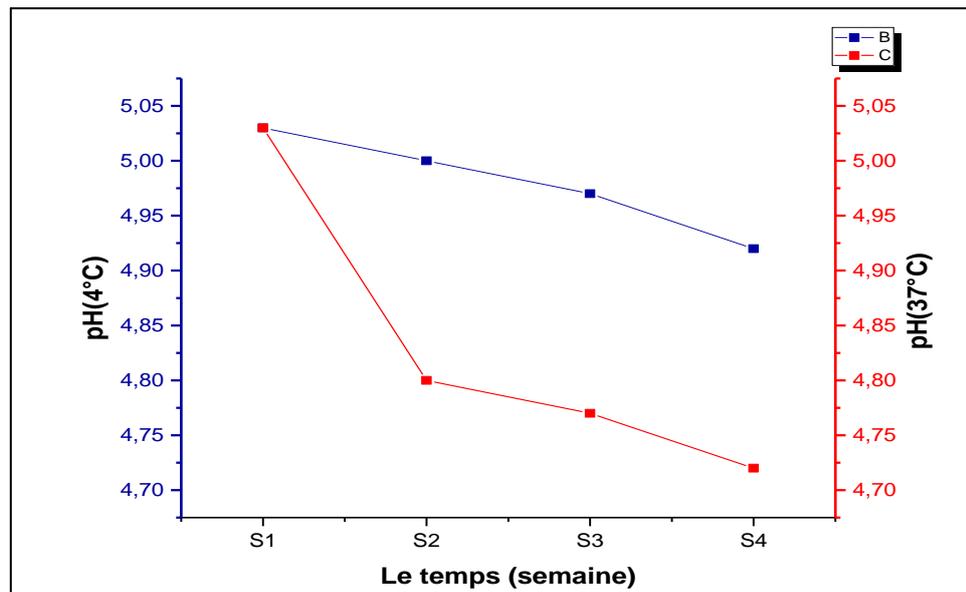


Figure 11: les variations du pH en fonction de temps et de la température.

Ces valeurs se rapprochent de celles rapportées par certains auteurs tels que David et Forte (1998), pH entre (4,60 – 5,0). Les résultats obtenus indiquent qu'une température de stockage de 37°C abaisse largement la valeur de pH comparativement à 4°C (4,98 pour 4°C vis-à-vis à 4,83 pour 37°C).

L'abaissement du pH obtenu est dû en grande partie à la synthèse de l'acide lactique par les bactéries lactique.

IV.3.2. Détermination de la densité

Les résultats de la cinétique de la variation de la densité sont indiqués dans la figure n°12.

Les valeurs de la densité diminuent d'une manière générale, pour la température de stockage de 4 °C, les valeurs obtenues sont comprises entre 1040 et 1039 g/cm³ avec une

moyenne de $1039,5 \text{ g/cm}^3$. Pour la température de stockage de $37 \text{ }^\circ\text{C}$, les valeurs de la densité varient entre 1040 et 1015 g/cm^3 avec une moyenne de $1027,5 \text{ g/cm}^3$.

Les résultats obtenus indiquent que la température de stockage de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ abaisse significativement la valeur initiale de la densité, comparativement à la température de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ($1039,5 \text{ g/cm}^3$ pour $4 \text{ }^\circ\text{C}$ vis-à-vis à $1027,5 \text{ g/cm}^3$ pour $37 \text{ }^\circ\text{C}$).

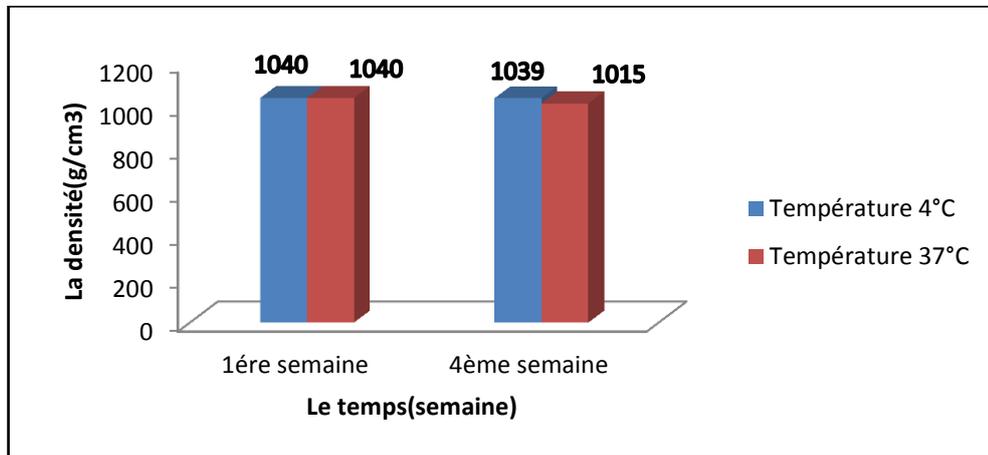


Figure 12 : Les variations de la densité en fonction du temps et de la température.

La diminution de la densité obtenue est probablement due à la dégradation des protéines et lipides induite par les bactéries lactiques.

IV.3.3. Détermination de la viscosité

Les résultats de la cinétique de variation de la viscosité sont indiqués dans la figure n°13.

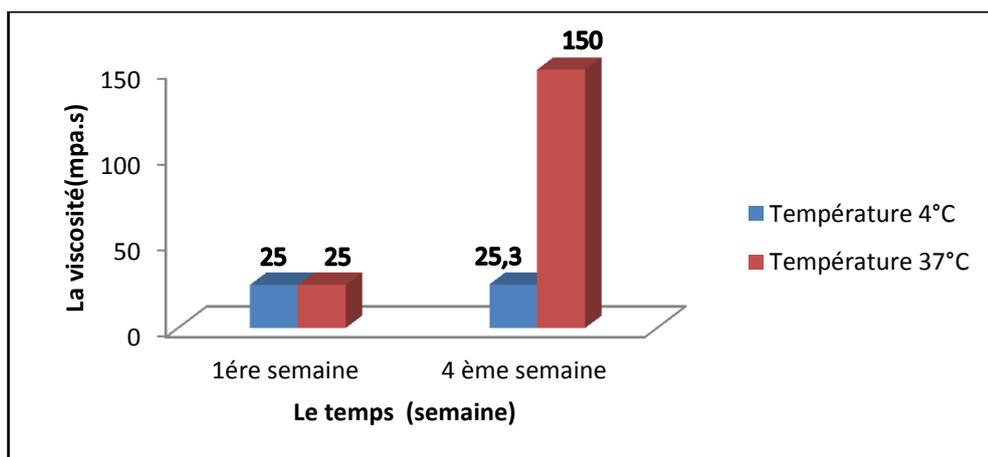


Figure 13: les variations de la viscosité en fonction de temps et de la température.

Les valeurs de la viscosité augmentent d'une manière générale, pour la température de stockage de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ les valeurs obtenues sont comprises entre 25 et $25,3 \text{ mPa.s}$ avec une

moyenne de 25,15 mPa.s. Pour la température de stockage de 37 °C, les valeurs de la viscosité varient entre 25 et 150 mPa.s avec une moyenne de 87,5 mPa.s.

Les résultats obtenus indiquent que la température de stockage de 37 °C augmente largement la valeur de la viscosité comparativement de 4 °C (25,15 mPa.s pour 4 °C vis-à-vis à 87,5 mPa.s pour 37°C).

L'augmentation de la viscosité est probablement due à la présence des substances solubles telles que le lactose, l'acide lactique, les sels ou les composés azotés. Mais aussi se traduit par la production des exo-polysaccharides qui vont accroître la viscosité du produit (cas des fromages frais), (Corrieu et Luquet, 2008).

IV.3.4. Détermination de la conductivité

Les résultats de la cinétique de la variation de la conductivité sont indiqués dans la figure n°14.

Les valeurs de la conductivité augmentent d'une manière générale, pour la température de stockage (4°C), les valeurs obtenues sont comprises entre 6,23 et 6,24 avec une moyenne de 6,23. Pour la température de stockage de 37°C, les valeurs de la conductivité varie entre 6,23 et 8,38 avec une moyenne de 7,30.

Les résultats obtenus indiquent qu'une température de stockage de 37°C augmente significativement la valeur de la conductivité comparativement à la température de 4°C (6,24 ms/cm pour 4°C vis-à-vis à 8,38 ms/cm pour la température de 37°C).

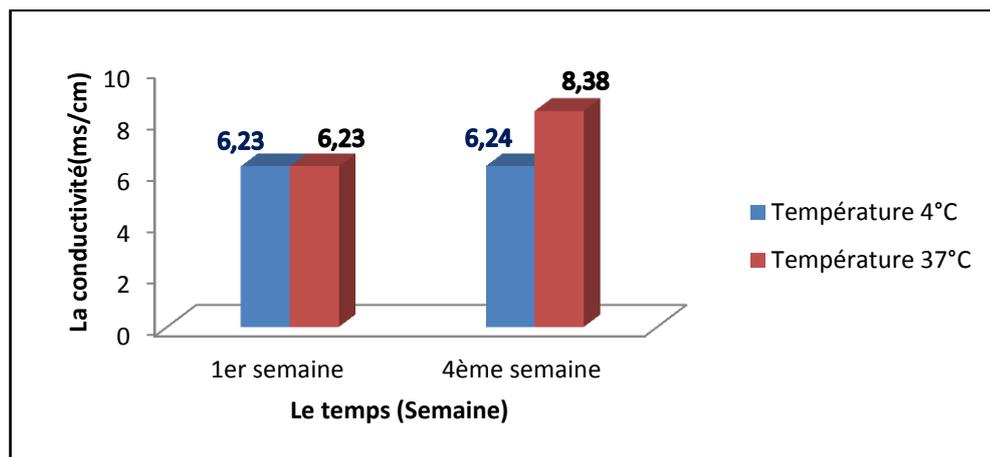


Figure 14: Les variations de la conductivité en fonction du temps et de la température.

L'augmentation de la conductivité obtenue est probablement due à la dégradation partielle de la matrice laitière et ainsi le changement de l'équilibre ionique du milieu (petit-suisse) suite aux différentes interactions moléculaires qui résultent de cette dégradation. Certains sels minéraux (monovalents, polyvalents) peuvent donc interagir avec les différents

composants ou nutriments (acides aminés, acides gras, lactose...), mais aussi la diminution du pH entraîne une augmentation du calcium ionique ...etc. (Fernandez M et Sans, 1985).

D'après ces résultats on constate que la température 37 °C a un effet significatif sur la conductivité de l'échantillon en augmentant la thermodynamique de l'eau, la dégradation des nutriments par les micro-organismes présents qui sont plus actifs.

IV.3.5. Détermination de l'acidité Dornic

La cinétique de la variation de l'acidité titrable est illustrée dans la figure n°15.

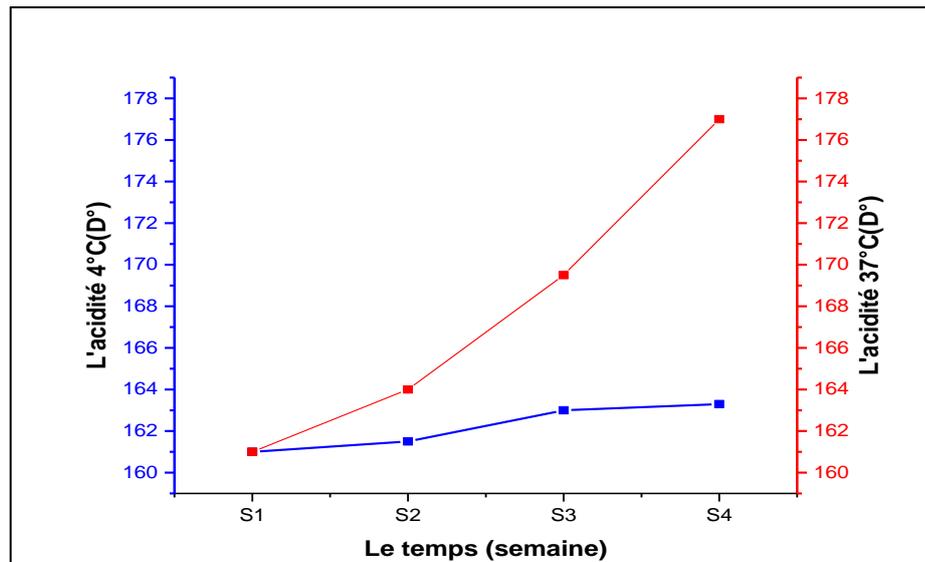


Figure 15 : les variations de l'acidité titrable en fonction du temps et de la température.

Les valeurs de l'acidité titrable augmente d'une manière générale, les échantillons stockés à 4 °C représente des valeurs obtenues pendant quatre semaines 161 ; 161,5 ; 163 ; 163, 3°D respectivement, avec une moyenne de 162,2°D. Pour le stockage à 37°C, les valeurs obtenus durant quatre semaines sont 161 ; 164 ; 169,5 ; 177°D) respectivement, avec une moyenne 167,8°D.

Ces résultats obtenus indiquent que la température de stockage de 37°C augmente significativement la valeur de l'acidité titrable comparativement à 4°C (162,2°D pour 4°C vis-à-vis à 177°D pour 37°C). L'augmentation de l'acidité titrable obtenue est due également à la fermentation lactique par les bactéries lactiques, conduisant à la libération d'acide lactique en dégradant le lactose.

IV.4. Analyses biochimiques

IV.4.1. Dosage des protéines

La cinétique de la variation de la teneur en protéines indiquée dans la figure n°16.

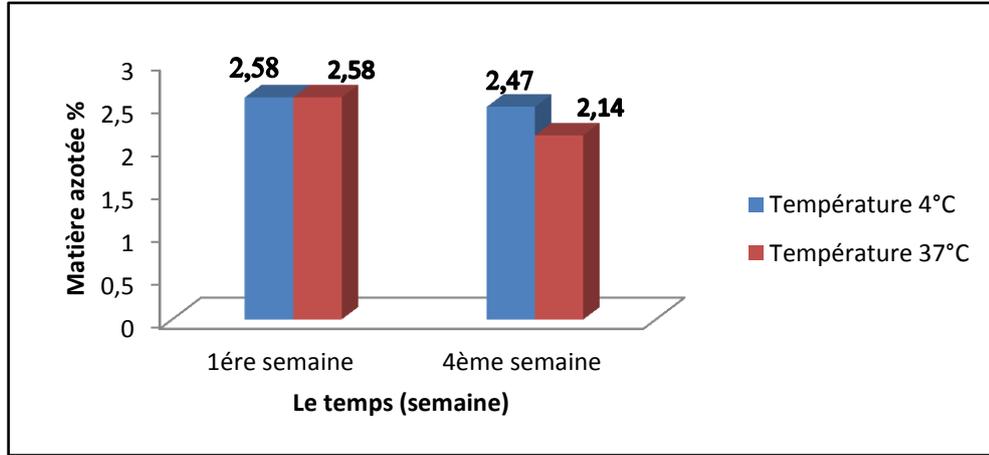


Figure 16 : Les variations de la teneur en protéines en fonction de temps et de la température.

Les valeurs de la teneur en protéines diminuent d'une manière générale, ces valeurs obtenues à 4°C sont comprises entre 2,58 ; 2,47 avec une moyenne de 2,52. Pour le stockage à 37°C, les valeurs obtenues sont comprises entre 2,58 ; 2,14 avec une moyenne 2,36, Ces valeurs obtenues sont proches à celle établie par Eck et Gillis, 1997 de moyenne 2,55.

La diminution de la teneur en protéines peut s'expliquer par l'activité protéolytique des bactéries lactiques qui sont actives à 37°C.

IV.4.2. Dosage de la matière grasse

La cinétique de la variation de la teneur en matière grasse est indiquée dans la figure n°17.

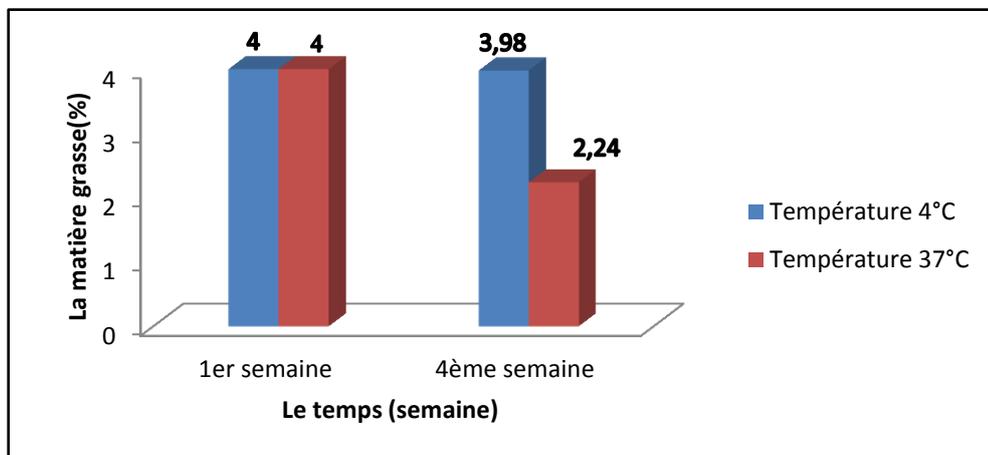


Figure 17: Les variations de la teneur en matière grasse en fonction du temps et de la température.

Le pourcentage de la matière grasse diminue d'une manière générale, pour le stockage à 4°C, les valeurs obtenues sont comprises entre 4 et 3,98% avec une moyenne de 3,99%, cette valeur est plus proche à l'intervalle des normes établit par la laiterie Soummam située au niveau de la zone industrielle (Taharacht, Akbou) de Bejaia (MG = 4 à 5%). Pour la température de stockage de 37°C, les valeurs varient entre 4 et 2,24% de moyenne 3,12%, qui est au-dessous de la norme.

Les résultats obtenus indiquent que la température de stockage de 37°C diminue significativement le pourcentage de la matière grasse comparativement à 4°C (3,99% pour 4°C vis-à-vis à 3,12% pour 37°C). La diminution de la teneur en matière grasse est probablement due à la présence des bactéries lactiques qui sont actives à une température relativement élevée (37°C) et ayant une activité lyoplitique (Debry, 2001).

IV.4.3. Dosage de lactose

La cinétique de la variation de la teneur en lactose est indiquée dans la figure n°18.

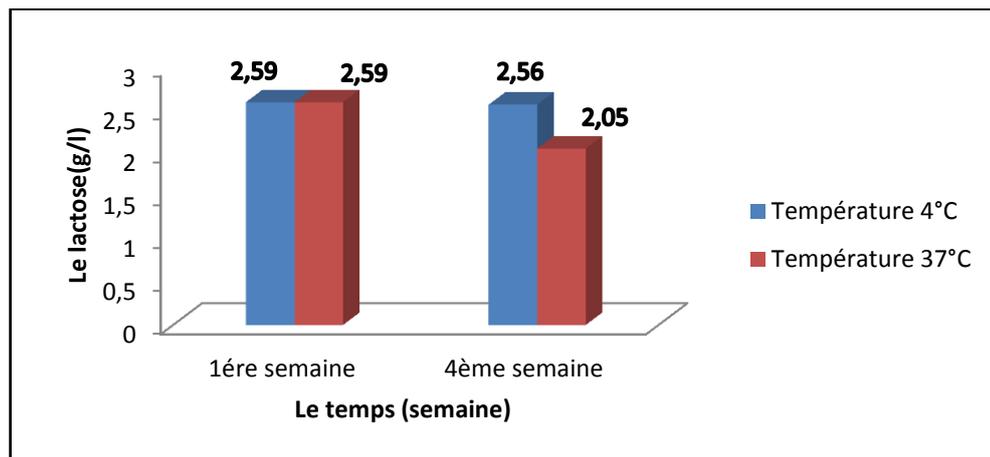


Figure 18: Les variations de la teneur en lactose en fonction du temps et de la température.

Les valeurs de la teneur en lactose diminuent d'une manière générale, pour la température de stockage de 4°C les valeurs obtenues sont comprises entre 2,59 et 2,48 g/l avec une moyenne de 2,53 g/l. Pour la température de stockage de 37°C, les valeurs varient entre 2,59 et 2,15 g/l avec une moyenne 2,37 g/l.

Les résultats obtenus indiquent que la température 37°C abaisse significativement la valeur de la teneur en lactose comparativement à 4°C (2,53 g/l pour 4°C vis-à-vis à 2,37 g/l). La diminution de la teneur en lactose obtenue est probablement due à l'activité des bactéries lactiques qui produisent l'acide lactique par la fermentation du lactose.

IV.4.4. Synérèse

La cinétique de la variation de la synérèse est mentionnée dans la figure n°19.

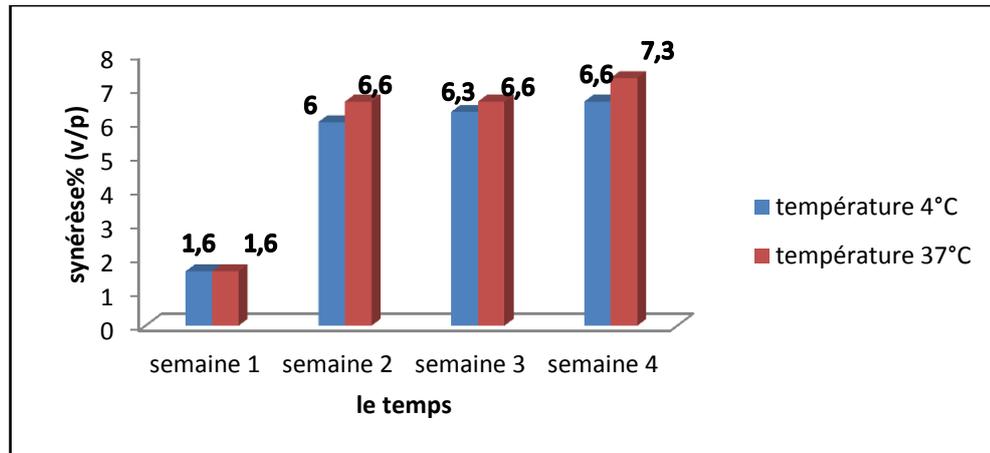


Figure 19: les variations de la synérèse en fonction du temps et de la température

Les valeurs de la synérèse augmentent d'une manière générale, pour la température de stockage de 4°C, les valeurs obtenues sont respectivement 1,66 ; 6 ; 6,33 ; 6,66 % (v/p) pendant quatre semaines, avec une moyenne de 5,16%. Pour la température de stockage de 37°C, les pourcentages varient entre 1,66 ; 6,66 ; 6,66 ; 7,33% (v/p) de moyenne 5,57%.

Les résultats obtenus indiquent qu'une température de stockage de 37°C augmente la valeur de la synérèse comparativement à 4°C (5,57% pour 4°C vis à vis à 5,57% pour 37°C).

L'augmentation du pourcentage de lactosérum est due à la fermentation de lactose en libérant de l'acide lactique qui va abaisser le pH du milieu ce qui conduit à l'agglutination des protéines à pH = 4,6 et la formation d'un gel plus ou moins granuleux dispersé dans le lactosérum.

IV.4.5. Granulométrie

La cinétique de la variation de la granulométrie est mesurée, les résultats sont représentés dans la figure n°20.

Les valeurs de la granulométrie augmentent d'une manière générale, pour la température de stockage de 4°C, les valeurs obtenues des petites, moyennes, et grandes granules soit 11, 42, 268 respectivement avec une moyenne 107. Pour 37°C les valeurs des petites, moyennes, grandes granules sont 30, 96, 351 respectivement, avec une moyenne 159. Les résultats obtenus indiquent qu'une température de stockage de 37°C augmentent significativement les valeurs de la granulométrie comparativement à 4°C (107 pour 4°C vis-à-vis à 159 pour 37°C).

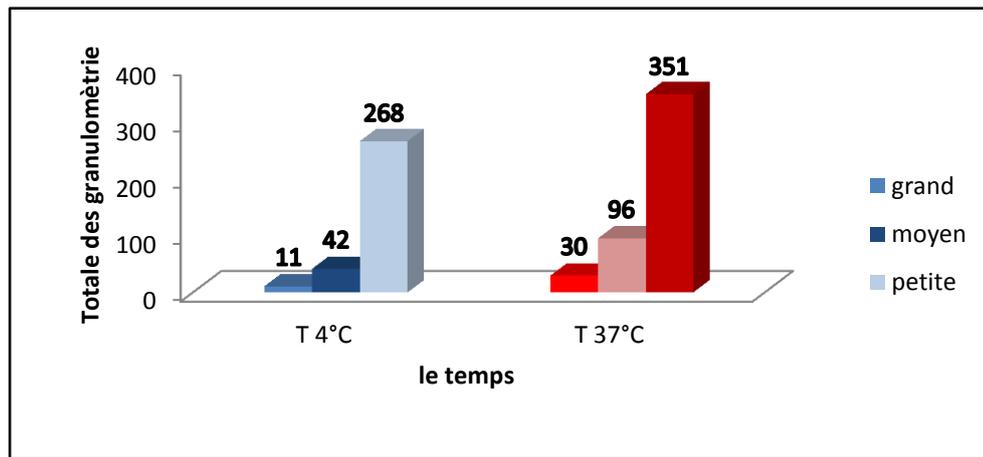


Figure 20: Les variations de la granulométrie en fonction du temps et de la température

Cette augmentation est due probablement à la déstabilisation des systèmes colloïdaux grâce à la présence des bactéries lactiques, c'est-à-dire durant la transformation des sucres (lactose) en acide lactique plusieurs effets entraînent sur le produit : abaissement de pH; modification de la structure de caillée; solubilisation des minéraux liés à la caséine ; modification de micelle du caillée.

Conclusion

Conclusion

Cette étude avait pour but d'évaluer la qualité microbiologique et physicochimique de petit suisse en fonction de la température de stockage pour deux marques commerciales ; l'une est produite par une société nationale et l'autre par une société multinationale.

L'analyse microbiologique a porté sur 6 groupes microbiens : parmi les groupes indicateurs d'hygiène (flore aérobie mésophile totale, coliformes, levures et moisissures et streptocoques fécaux) et certains groupes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*, salmonelles). Les niveaux de contamination ont été interprétés sur la base des critères microbiologiques définis par le journal officiel n° 35 du 1998. Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, et des coliformes totaux, et les levures et les moisissures montre une forte charge pour les échantillons stockés à température ambiante. Comparativement aux échantillons stockés à 4 °C qui présentent une qualité satisfaisante durant toute la période de stockage. Concernant la recherche des germes pathogènes (coliformes fécaux, streptocoques fécaux, *Staphylococcus aureus* et les salmonelles), les résultats ont révélé l'absence totale de ces germe dans tous les échantillons quelle que soit la température de stockage.

Les analyses physico-chimiques ont montrés une augmentation significative de quelques paramètres (l'acidité, la viscosité; la conductivité, le volume de lactosérum, la granulométrie) comparativement à 4 °C. Par contre ces analyses ont présentés une diminution du pH, de la densité; de la teneur en lactose, en protéines et en matière grasse, ce qui dépend essentiellement à la présence des bactéries lactiques.

D'après ces résultats nous avons constaté que le froid agit essentiellement en retardant l'apparition des phénomènes d'altération et en ralentissant la multiplication microbienne, notamment pour les microorganismes pathogènes. Toute hausse de température provoque et accélère la croissance microbienne et réduit la durée de vie du produit « un produit sain peut devenir un produit à risque », mais aussi l'aspect et le goût peuvent se dégrader donc le non maintien du petit suisse à la température recommandée et la rupture de la chaîne de froid chez les centres commerciaux, influe sur la qualité microbiologique et physicochimique du produit. Pour la sécurité sanitaire des consommateurs essentiellement les enfants il faut respecter la conservation de ce produit à la température conseillée, qui doit être restée aussi constante que possible, jusqu'à la consommation.

Perspectives

- Faire des campagnes de sensibilisation de la part de la direction de commerce ;
- Contrôler les produits alimentaires de façon permanente ;
- Offrir des moyens de transport adéquats (camions frigorifiques) pour assurer une bonne conservation des produits ;
- Ne pas couper l'électricité au niveau des commerces pour garder le bon fonctionnement des réfrigérateurs ;
- Appliquer la loi contre les commerçants qui ne respectent pas les conditions de conservation.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

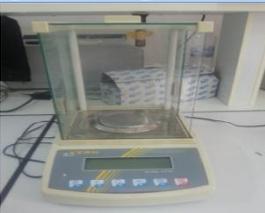
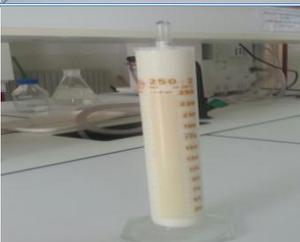
1. -AFNOR., (1985). Contrôle de la qualité des produits laitiers Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} édition: 107-121-125-167-251, pp 321.
2. -Alais C. (1984). Sciences du lait: Principes et techniques laitiers, Paris, p 814.
3. -Alais, C. (1984). Science du lait. Sépaic, Paris.
4. -Alian Branger, Marie-Madeleine Richer et Sébastien Roustel., (2007) : Micrbiochrome et alimentation. Educagri édition. 343p.
5. -Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., Turgeon H. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, in Science et technologie du lait, pp.1-74. Vignola C.L., Ed., Presses Internationales Polytechnique, Québec.
6. -Anonyme., (2009) : Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1^{ere}édition. France Agricole, institut de l'élevage : 554p.
7. -AOAC. Method 989.05. Official Methods of Analysis (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA. (1985).
8. Bachtarzi N., (2012), qualité microbiologique du lait cru destine A la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien, pp37-38.
9. -Badis A., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Sciences & Techniques, 23:30-37pp.
10. Belbeldi A. (2013), Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza: Contenu lipidique et vitamines, pp 04.
11. Bouabdallah A. Bouafia S., (2014), Elaboration d'un nouveau yaourt brassé à base de dattes : qualités physicochimique, microbiologique et sensorielle, université de BBA pp 21-
12. -Bourgeois C.M., Larpent J.P.(1989). Microbiologie alimentaire les fermentations alimentaires, Paris p 334.
13. -Boutonnier, JL. (2008). Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.
14. -Brunner, J. (1981). Cow milk proteins: twenty five years of progress. J dairy Sci, 64: 1038-1054. Belgique et en Algérie. Thèse de Doctorat Faculté de médecine vétérinaire. Université de liège Belgique.17p.
15. -Chahed A. (2007). Prévalence et caractérisation de souches d'Escherichia coli O157 Productrices des higatoxines isolées de denrées alimentaire d'origine animale en Daniel Florentin. Le dosage de la matière grasse dans les fromages. Le Lait, 1939, 19 (181), pp.25-29. <hal-00927783>.
16. -De Roissart H. et Luquet F.M. (1994). Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, 1:1-286pp.
17. -Debry G., (2001) ; lait, nutrition et santé. Ed : Technique et documentation, Lavoisier. Paris : 566p.
18. -Djafri N. et Djaout F. (2015), Evaluation de la qualité microbiologique et physicochimique de fromages frais de fabrication industrielle ou artisanale, pp02
19. -Doyle, M.P. Beuchat, L.R. and Montville, T.J. (2001). Food Microbiology fundamentals and Frontiers. 2nd Ed. Michael P. Doyle, Larry R. Beuchat, Thomas J. Montville, eds. Washington, DC: ASM Press.

20. -Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* (1956) 28: p 350.
21. -Eck A et Gillis J-C., (1997) : le fromage de la science à l'assurance –qualité. 3^{ème} Edition, Tec et Doc Lavoisier. Paris. 891p.
22. -Federighi M. (2005). *Bactériologie Alimentaire compendium d'hygiène des aliments*. 2^{ème} Edition, Economica. 292p.
23. -Forte, D. (1998). *Natural Law and Contemporary Public Policy*. Georgetown University Press.
24. -Gaucheron, F., & Tanguy, G. (2009). Modifications de la qualité biochimique des laits et des produits laitiers par la technologie. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, 131-134.
25. -Ghaoues S. (2011), Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien, pp 01
26. -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.
27. -Gret., (2002) : Transformation les produits laitiers frais à la ferme. 1^{ère} Ed 2002, Educagri éditions. 232p.
28. -Guiraud J.P. (1998) : Microbiologie des principaux produits alimentaires ; in : «Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire » Dunod, Paris.
29. -Guiraud J.P. (2003). *Microbiologie Alimentaire*. Edition. Dunod. Paris.
30. -Hamada I. Debbakh H., (2014), Synthèse bibliographique sur la microflore du fromage, pp 04.
31. -Hassainya J, Padilla M et Tozanli S., (2006) : Lait et produits laitiers en Méditerranée, des filières en pleine restructuration. Edition Karthala : 384p.
32. -Hermier J, Lenoir F et Weber F., (1992) : les groupes microbiens d'intérêt laitier, Ed : CEPIL, Paris : 559p.
33. -Ilboudo, A.J., Savadogo, A., Seydi, M.G., Traore, A.S. (2012). Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(6): 6075-6087.
34. Jacquinet S. A., (2009), Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait, Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE 3 – 4109, pp 27.
35. -Konte, M. (1999). Le lait et les produits laitiers développement de systèmes de production intensive en Afrique de l'ouest.
36. -Larpen JP. (1997). *Mémento technique de microbiologie*. 3^{ème} Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris.910p.
37. -Laurent S. (1998). *Manuel de bactériologie alimentaire*. Polytechnica Paris.
38. -Leveau J-Y et Bouix M., (1993) : *Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 612p.
39. -Luquet F et Corrieu G., (2005) : *Bactéries lactiques et probiotiques*, Ed : Tec et Doc, Lavoisier, paris. 307p.
40. -Luquet F. M. (1985). *Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre*. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

41. -Mahaut M., Jeant et R., et Brule G. (2000). Initiation à la recherche fromagère. Edition: Tec et Doc. Lavoisier. Paris.
42. -Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
43. -Mehnoune S. Ferhoul K., (2015), Contrôle de la propreté hygienique de lait de vache cru avec application de la preparation du fromage frais « petit suisse », pp18.
44. -Morrissay PA. (1995). Lactose: chemical and physicochemical properties. dans: Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.
45. -Ofstedal O., (2012), The evolution of milk secretion and its ancient origins, Animal, vol. 6, no 3, p. 355–368
46. -Ouahghiri, M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat. N° d'ordre : 2475. Rabat.
47. -Pougheon, S.I.A.S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Ecole national vétérinaires de Toulouse.
48. -Priyanka S. et Prakash A. (2009). Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Again st Listeria monocytogenes Isolated from Milk Products at Agra Region. Internet Journal of Food Safety, 11:81-87pp.
49. Saubausse M. (2007). Effet de barrière des populations microbiennes des laits crus Vis–vis DE listeria monocytogènèses dans un fromage à pâte pressée non cuite. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur D'université spécialité Nutrition et science des aliments. Université Blaise Pascal Toulouse. 301p.
50. -Steijns, J. N. (2008). Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? Int. Dairy J. 18: 425–435.
51. -Syndifrais, (2011). Tout savoir sur le fromage blanc. P 01-20. Paris.
52. -Tormo (2010). Diversité des flores microbiennes des laits crus de chevre et facteurs de variabilite. Thèse de Doctorat pathologie, Toxicologie, Génétique, et Nutrition. Faculté sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques, et bio-ingénieries (SEVAB). Université de Toulouse. Poligny. 17p.
53. Vierling E., (2003), Aliments et boissons. : Filières et produits, Doin Editions, 2e éd.
54. -Vignola C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

Annexes

Les Appareilles et les verreries		Photo original	Les Appareilles et les verreries		Photo original
Les verreries	Les béciers		Les verreries	Les éprouvettes	
	Les tubes à culture			Les entonnoirs	
	Les erlenmeyers			Les pipettes Pasture	
	Les burettes graduées			Les flacons	
Les appareils	Agitateur vortex		Les appareils	Agitateur magnétique	
	pH mètre			conductimètre	

Les appareils	thermomètre		Les appareils	viscosimètre	
	Réfrigérant			Bain marie	
Les appareils	Spectrophotométrie		Les appareils	Etuve universel	
	Chauffe ballon			Plaque chauffante	
	Balance de précision			Centrifugeuse	
Les appareils	distillateur		Les appareils	La Haute microbologique	
	Autoclave			Le densitomètre	

Les appareils	La haute chimique	Les appareils	Etuve microbienne
	Bec bunsen		Micropipette
Les produits chimiques			
L'eau phénolée			
Solution NaOH			
Acide sulfurique			
Lactose en poudre			
Phénolphtaléine			



D'après l'arrêté interministériel du **25 Ramadhan 1419** correspondant au **24 janvier 1998** modifiant et complétant l'arrêté du **14 Safar 1415** correspondant au **23 juillet 1994** relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. (J.O.R.A N° 35 du 27-05-1998).

Fromage Frais

Tableau 01 A: Spécification microbiologique du Fromage Frais.

Fromage Frais	n	c	m
Coliformes	5	2	10
<i>Coliformes fécaux</i>	5	2	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence
<i>Listeria monocytogene</i>	5	0	Absence

Lait cru

Tableau 02 A: Spécification microbiologique du lait cru.

Lait cru	n	c	m
Germes aérobies à 30°C	1	-	10 ⁵
Coliformes fécaux	1	-	10 ³
Streptocoques fécaux	1	-	Absence/0,1ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	-	Absence
Clostridium. sulfito-réducteurs	1	-	50
Antibiotiques	1	-	Absence

Lait déshydraté destiné aux industries alimentaires (Poudre de lait)

Tableau 03 A: Spécification microbiologique du Lait déshydraté destiné aux industries alimentaires.

Lait déshydraté	n	c	m
Germes aérobies à 30°C	1	-	2×10 ⁵
Coliformes	1	-	1
Clostridium. sulfito-réducteurs	5	2	Absence
Antibiotiques	1	0	Absence

On a cité les microorganismes de lait déshydraté et les microorganismes du lait cru puisque ces derniers entraînent dans la fabrication de fromages frais.



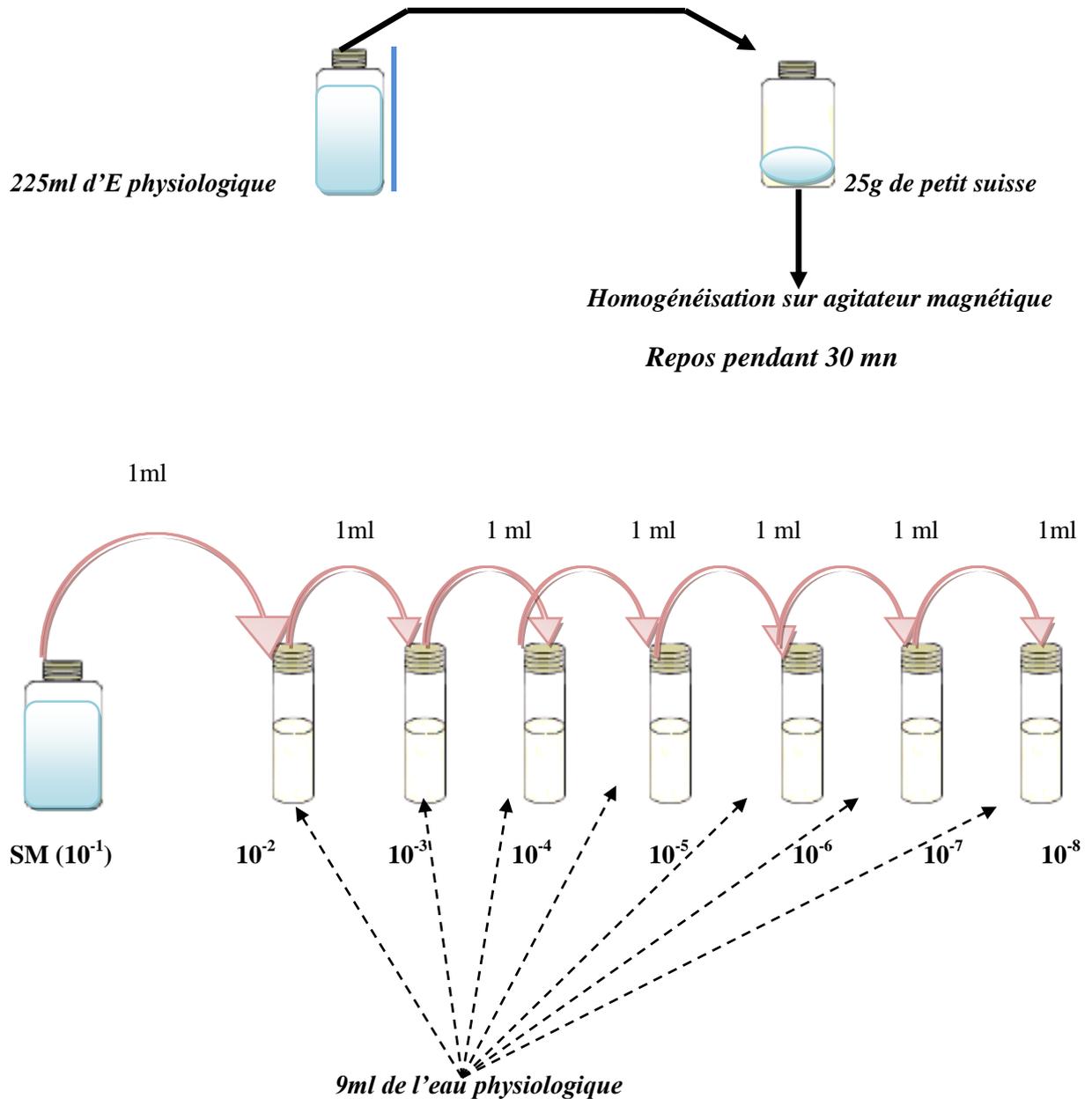
Figure N°1 A : protocole de préparation des milieux de culture (photo originale).



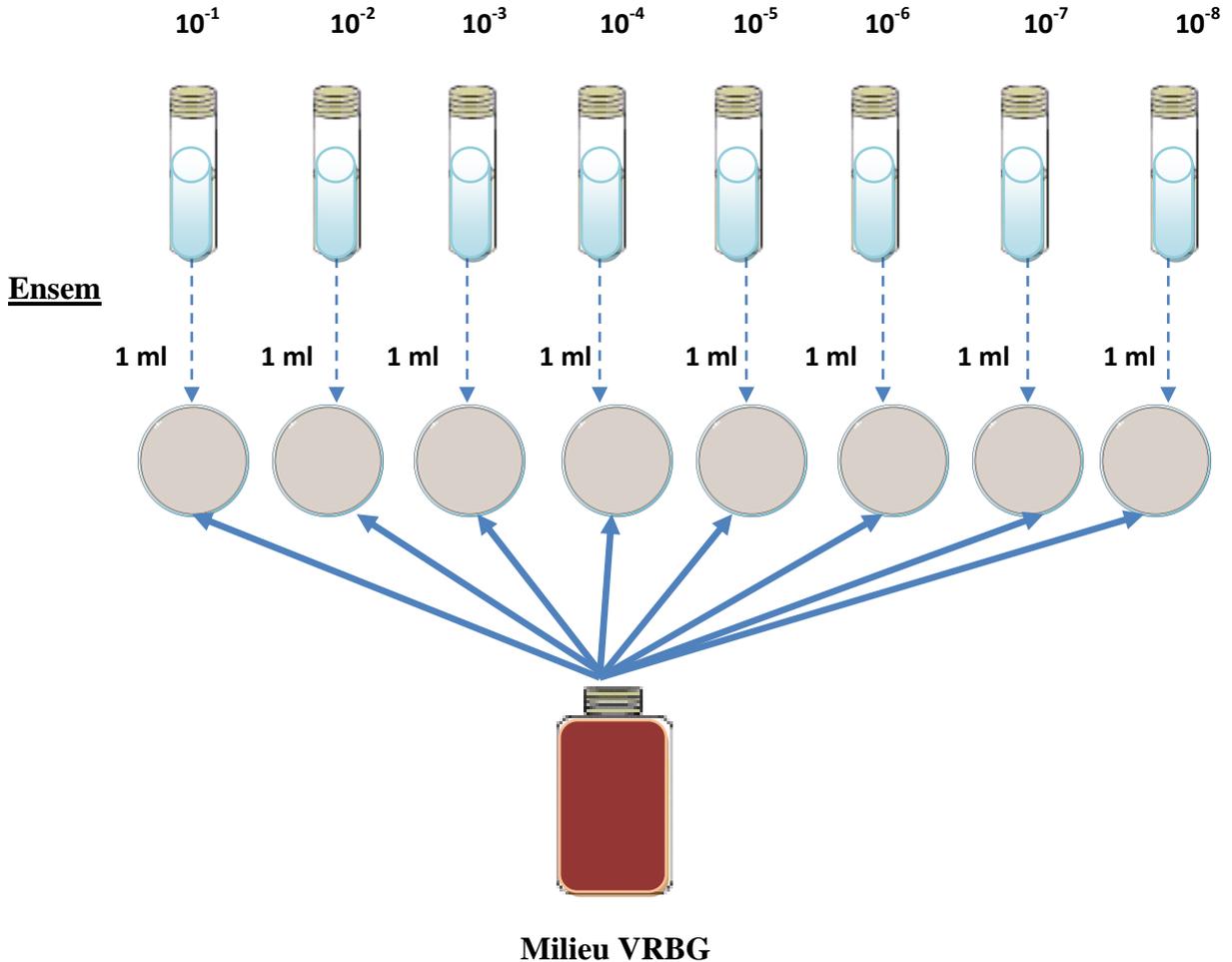
Tableau 04 A : Composition des milieux de culture.

Milieux de culture	composition	quantité	Milieux de culture	composition	quantité
VRBG	Peptone	7g	EPT	Peptone	20g
	Extrait de levure	3g		Chlorure de Sodium	5g
	Glucose	10g		Phosphate disodique	9g
	Chlorure de sodium	5g		Phosphate monopotassique	1,5g
	Sels biliaries	1,2g		Eau distillée	1000ml
	Rouge neutre	0,03g	PCA	Hydrolysate pancréatique decaésine	5g
	Cristal violet	0,002g		Extrait de levure	2,5g
	Agar	12g		Glucose	1g
pH final	7,2±0,2	Gélose		15g	
OGA	Extrait de levure	5 g		Eau distillée	1000 ml
	Glucose	20 g		pH final	7
	Biotine	0.0001g	BAIRD-PARKER	Tryptone	10g
	Agar	12g		Extrait de viande	5g
	Eau distillée	1000ml		Extrait autolytique de levure	1g
pH final	7	Pyruvate de sodium		10g	
		Glycine		12g	
HEKTOEN	Peptone pepsique de viande	12g		Chlorure de lithium	5g
	Extrait autolytique de levure	3g		Agar agar	15g
	Lactose	12g		Emulsion de jaune d'oeuf	47g
	Saccharose	12g		Tellurite de K à 3,5%	3g
	Salicine	2g		pH final	7,2±0,2
	Sels biliaries	9g	Litesky	Eau distillée	1000ml
	Chlorure de sodium	5g		Peptone	20g
	Thiosulfate de sodium	5g		Dextrose	5g
	Citrate ferrique ammoniacal	1,5g		Chlorure sodique	5g
	Bleu debromothymol	65g		Phosphate dipotassique	2,7g
	Fuchsine acide	40g		Phosphate monopotassique	2,7g
	Agar agar	13,5g		Violet d'éthyle	0,0008g
	pH final	7,6±0,2			Azide de sodium
ROTHE	Eau distillée	1000ml		pH final	7,0±0,2
	Peptone	15g	ROTHE	Extrait d'azide de sodium	0,2g
	Glucose	7,5g			pH final
	Chlorure de sodium	7,5g			

Source : Biokar Diagnostics



Dilution



Incubation

- **Série 1** : à 37 °C pendant 24 à 48 h pour les coliformes totaux ;
- **Série 2** : à 44°C pendant 24 à 48 h pour les coliformes fécaux.

Les premières lectures se feront au bout de 24 h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilutions, de plus :

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions ;

- il est impossible de trouver plus de coliformes fécaux que de coliformes totaux.

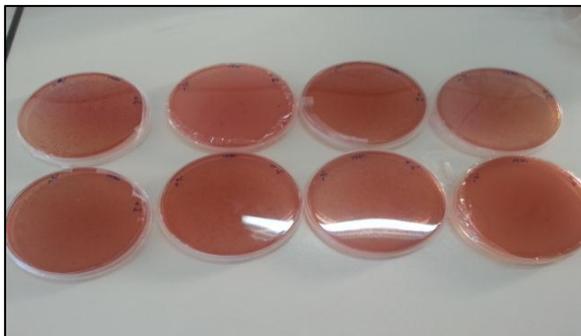


Figure N°2 A: coli totaux avant l'incubation
(photo originale)

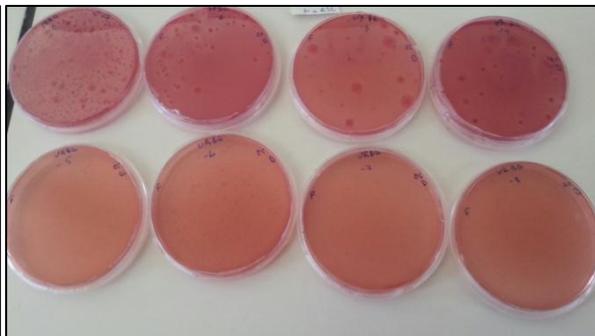


Figure N°3 A: coli totaux après l'incubation
(photo originale)

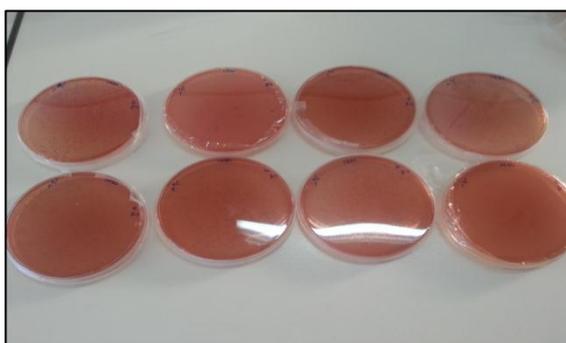


Figure N°4 A: coli fécaux après l'incubation
(photo originale)

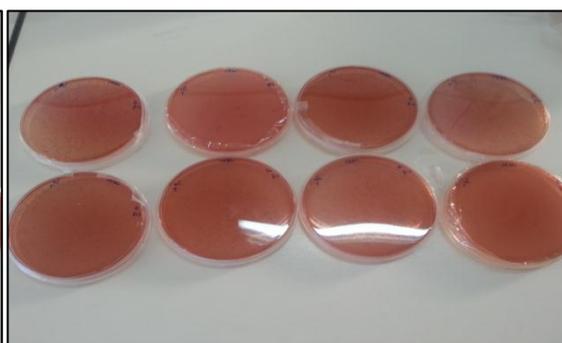
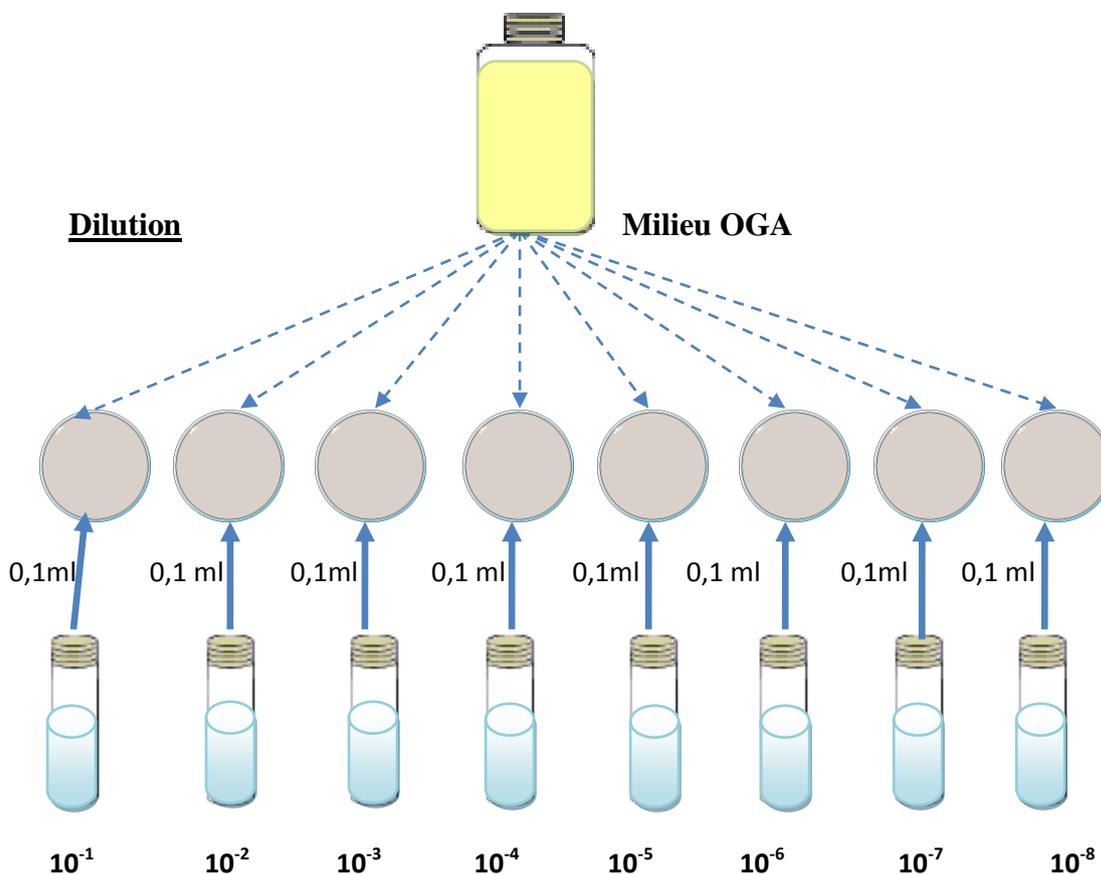


Figure N°5 A: coli fécaux avant l'incubation
(photo originale)

Source : AFNOR (NF V08-060,1996)



Incubation

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 28°C pendant 5 jours.

Lecture

Tous les jours.

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivant.

– ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;

- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

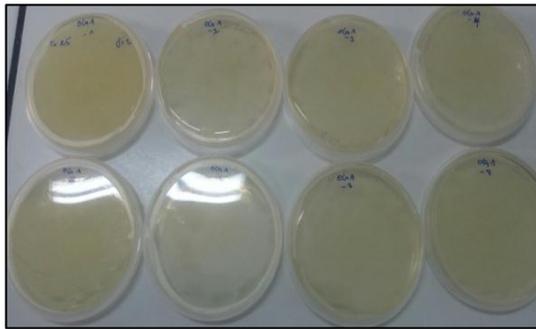


Figure N°6 A:levures et moisissures avant l'incubation (Photo originale)

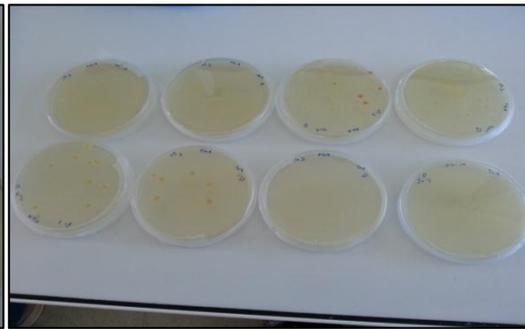
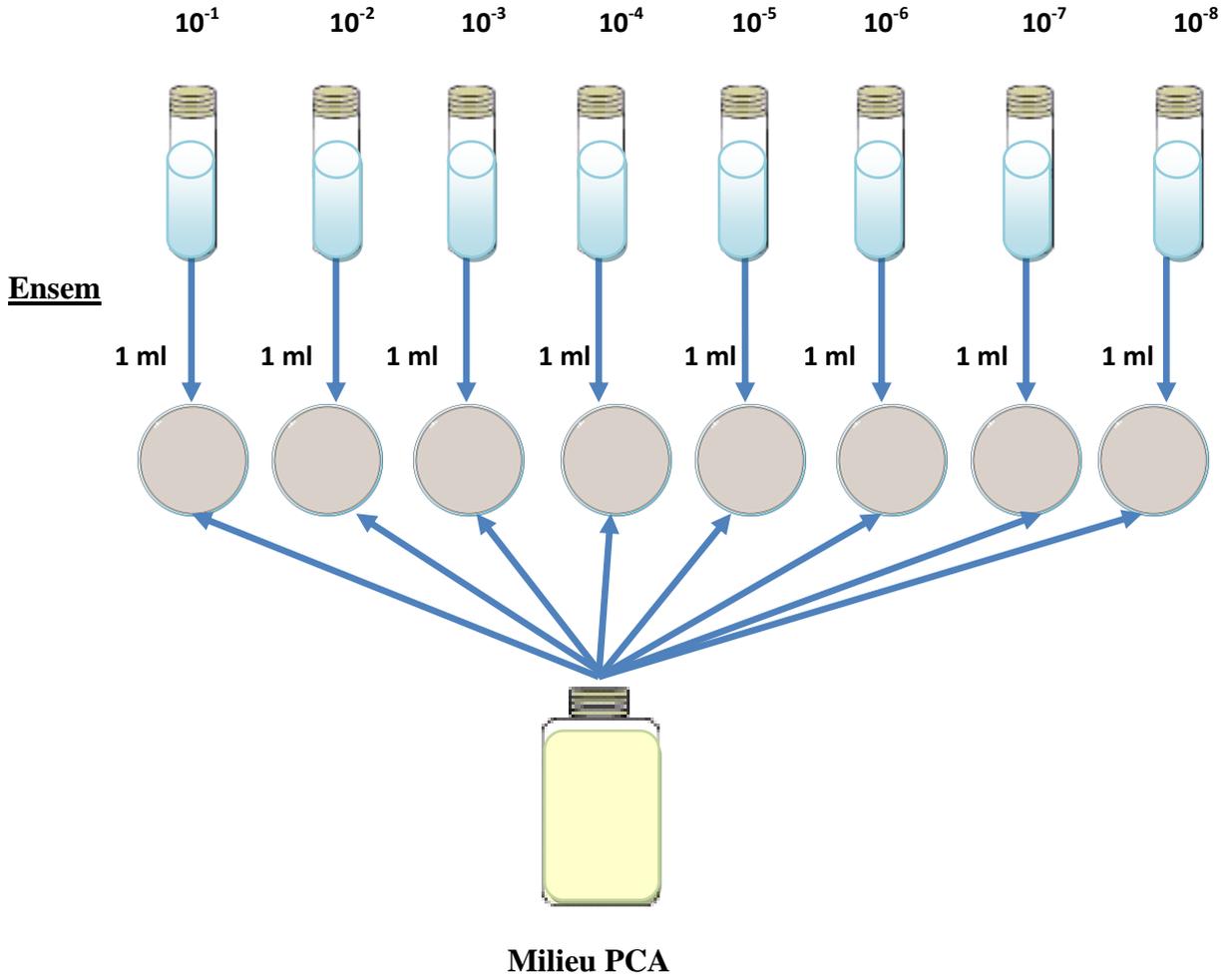


Figure N°7 A:levures et moisissures après l'incubation (Photo originale)

Source : AFNOR (XP V 059,1996).

Dilution



Incubation

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

- Première lecture à 24 h ;
- Deuxième lecture à 48h ;
- Troisième lecture à 72 h.

Lecture

Les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivant.

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;

Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM)



- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

Illustration

Inoculum	Nbre de colonies	Pour revenir à 01	Nbre réel	Moyenne arithmétique
10^{-1}	160	X 10	1600	27600/3= 9200GAMT/g
10^{-2}	70	X100	7000	
10^{-3}	19	X1000	19000	



Figure N°8 A:GAMT après l'incubation
(Photo originale)

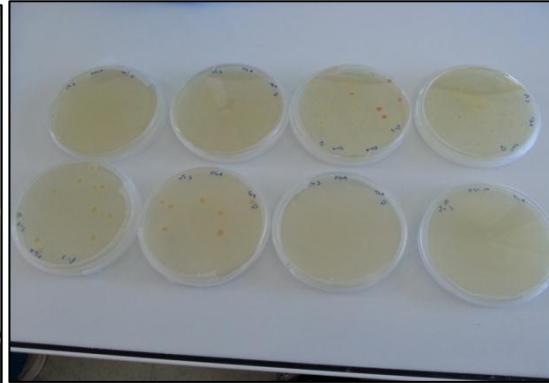
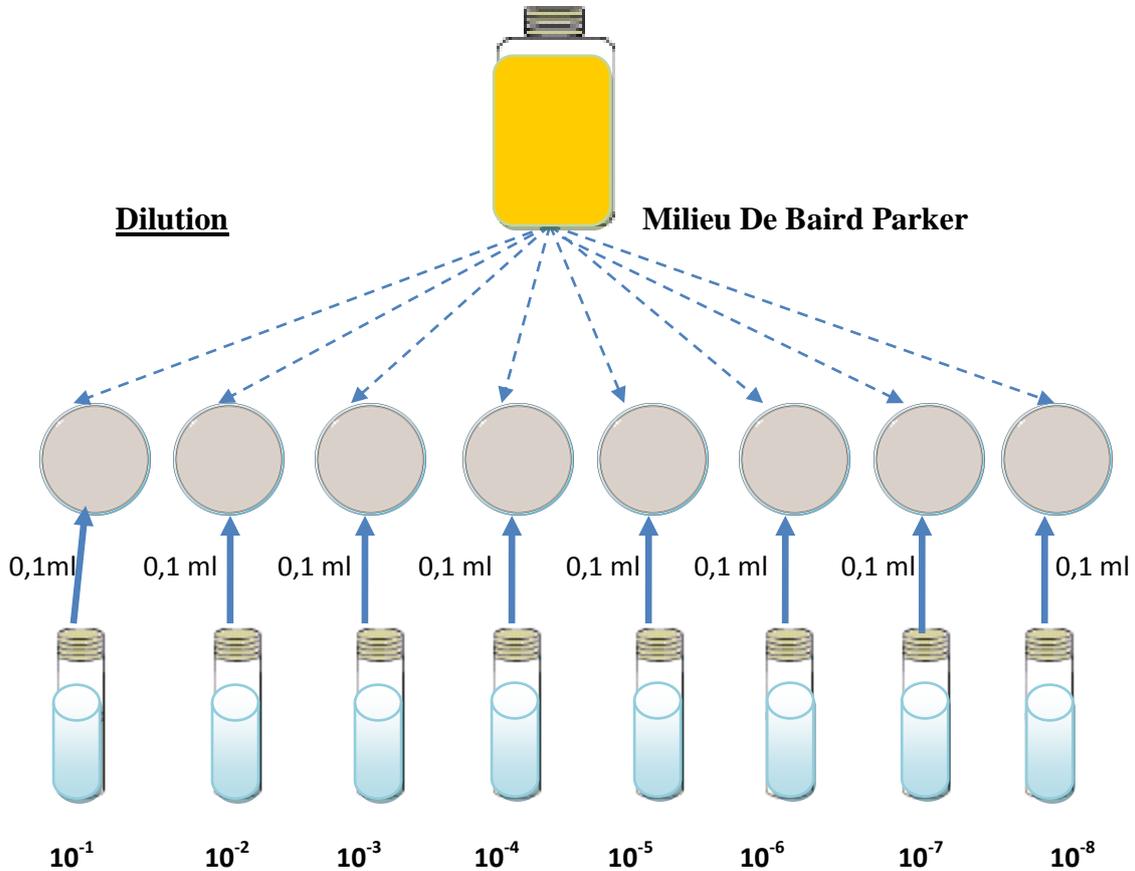


Figure N°9 A:GAMT avant l'incubation
(Photo originale)

Source : (Guiraud, 2003).



Ensemencement

A partir des dilutions décimales 10^{-8} , porter aseptiquement 0,1ml de chaque dilution réparti en surface puis étaler à l'aide d'un même étaleur en commençant par les boîtes de plus forte dilution

Incubation

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

Lecture

Seront considérées comme positives, les boîtes contenant des colonies caractéristiques à savoir des colonies brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui peut être translucide.

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivant.

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;

Recherche et dénombrement des
staphylococcus aureus



- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

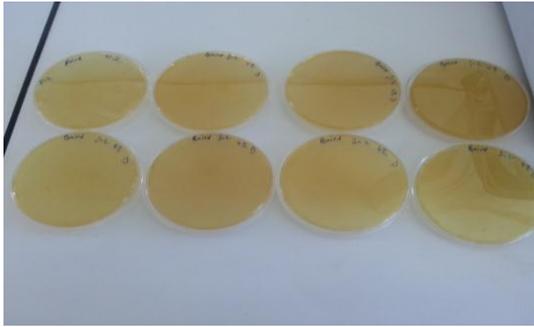


Figure N°10 A: *Staphylococcus aureus* avant l'incubation (Photo originale)

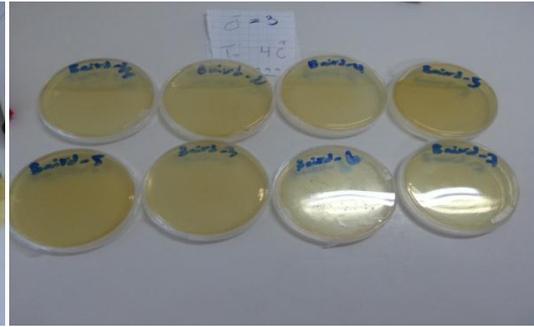


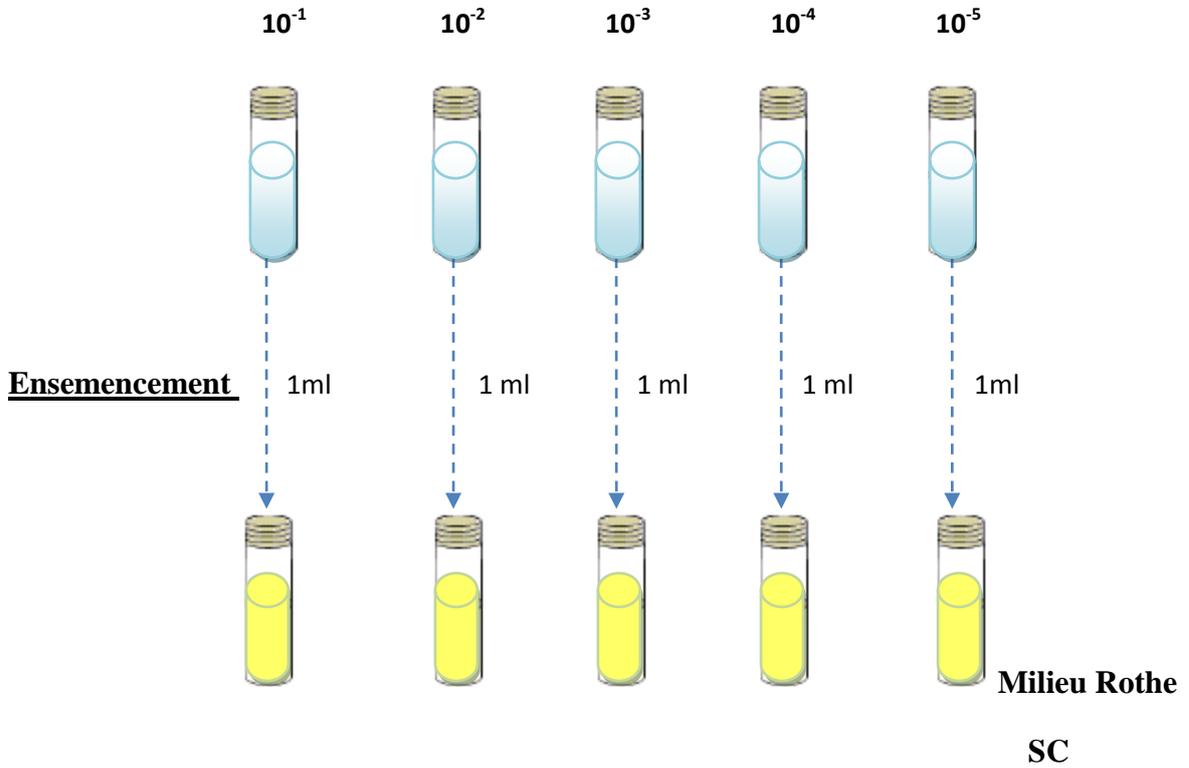
Figure N°11 A : *Staphylococcus aureus* après l'incubation (Photo originale)

Source : AFNOR (NF V08-057-1 et -2,1996).

Test de présomption

Dilution

direction de manipulation ←



Incubation

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

Lecture

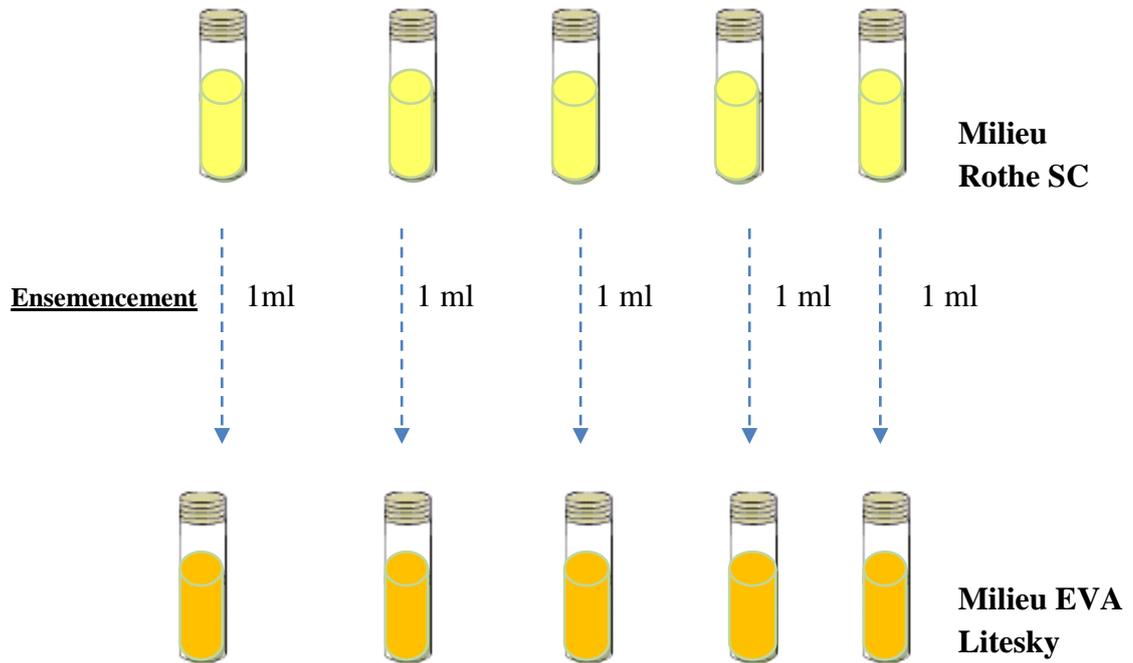
Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

Mais attention il n'y a aucun dénombrement à faire à ce niveau.

Test de conformation ou test de Mac Kenzie

Chaque tube de Rothe trouvé positif lors du test de présomption fera l'objet d'un repiquage dans un tube de milieu EVA Lytski

Bien mélanger le milieu et l'inoculum à l'aide d'un agitateur vortex.



Incubation

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

Lecture

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois

- Un trouble microbien ;
- Une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

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

Illustration

Si, sur milieu de Rothe :

- à la dilution 10^{-1} : 2 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer ;
- à la dilution 10^{-2} : 2 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer ;
- à la dilution 10^{-3} : 1 tube sur 3 est positifs, donc à repiquer.

Cela signifie, qu'on a 5 tubes à repiquer sur milieu EVA

Après repiquage et incubation, si

Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux



- à la dilution 10^{-1} : 1 tube sur 2 est positif ;
- à la dilution 10^{-2} : les 2 tubes sont négatifs ;
- à la dilution 10^{-3} : le tube repiqué est positif.

Le nombre caractéristique sera de « 101 », ce qui correspond à 0,7 sur la table de Mac Grady.

On considère donc qu'il ya 0,7 Streptocoque fécaux à la dilution 10^{-1} . Mais tenant compte du facteur de dilution et pour revenir à 1, il faut multiplier ce nombre par l'inverse de la première dilution soit : $0,7 \times 10 = 7$

Le résultat final sera donc de 7 streptocoques fécaux par gramme ou millilitre

Dilutions	Test de présomption	Test de confirmation
10^{-1}	+	+
	+	-
	-	
10^{-2}	+	-
	+	-
	-	
10^{-3}	+	+
	-	
	-	
Nombre caractéristique	/	101



Figure N°12 A : streptocoque fécaux avant L'incubation (photo originale)



Figure N°13 A : streptocoque fécaux après l'incubation (photo originale)



Tables de Mac Grady

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

Source :Bonnyfoy et *al.*,(2002)

Jour 1 : Pré-enrichissement

Prélever 25 ml ou 25 g de produit à analyser dans 1 sachet stérile de type Stomatcher contenant 225 ml d'eau péptoné tamponnée. Transposer cette suspension dans un flacon stérile qu'on incube à 37°C pendant 18 heures. (Modifier)

Jour2 : Enrichissement

L'enrichissement doit s'effectuer sur un milieu sélectif différent à savoir :

- le milieu de Rappaport Vassilidis réparti à raison de 10 ml par tube ;

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

- 0,1 ml pour les tubes de rappaport Vassiliadis (modifier)

Incubation

Les tubes seront incubés à 37°C, 24 h.

Jour 3 : Isolement

Chaque tube fera l'objet d'un isolement sur un milieu gélosé Hektoen.

Incubation

Toutes les boîtes ainsiensemencées seront incubés à 37°C pendant 24 h.

Jour 4 : Lecture

Les salmonelles se présentes de la façon suivante :

Colonies le plus souvent gris bleu à centre noire.

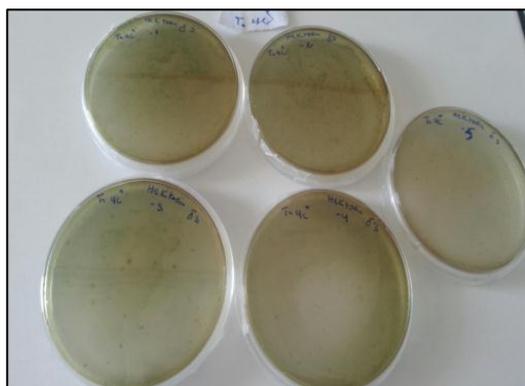


Figure N°14 A: Salmonella avant l'incubation (Photo originale)

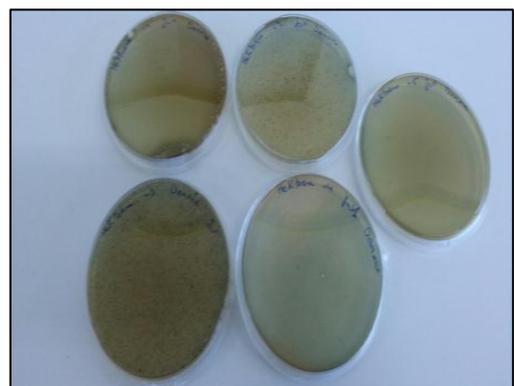
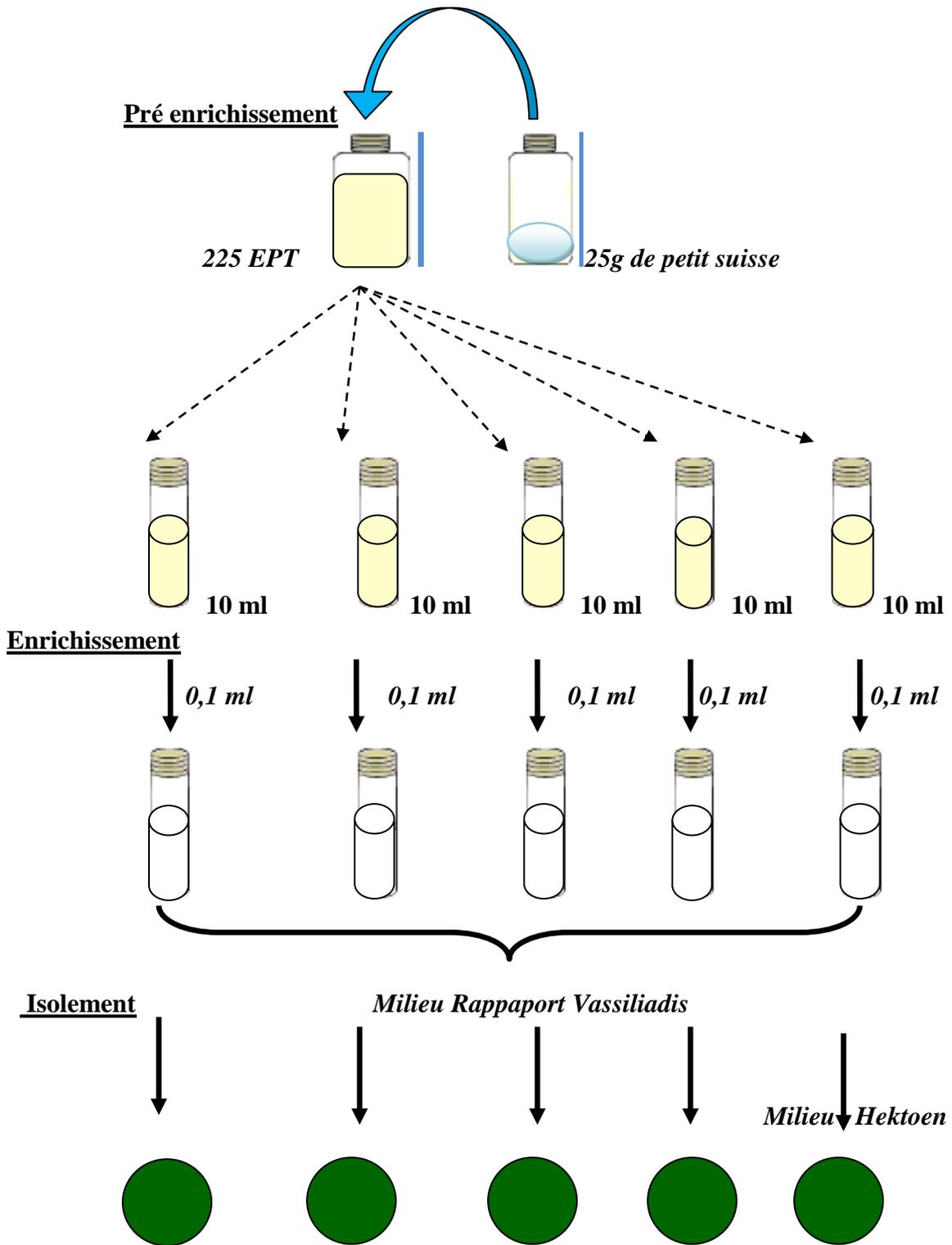


Figure N°15 A: Salmonella après l'incubation (Photo originale)

Source : (Guiraud, 2003) et (Larpent, 1997).



1-Mode opératoire

Il s'agit de potentiométrie avec un pH-mètre.

- ✓ Préparation de l'échantillon pour essai: un pot du petit-suisse du 30 gramme ;
- ✓ Etalonner le pH mètre à l'aide des solutions tampon à $\text{pH} = 7 \pm 0,1$;
- ✓ Régler la température de l'appareil à 20°C ;
- ✓ Introduire l'électrode dans le pot contenant l'échantillon à 20°C ;
- ✓ Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture.

2-Lecture

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du pH-mètre.



Figure N°16 A:pH mètre durant l'analyse de l'échantillon (photo originale)

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la densité de produit à analyser par densimètre.

- Préparation de l'échantillon pour essai: 7 pots du petit-suisse pour chaque une 30 gramme (l'ajout de même volume d'eau) ;
- Verser doucement l'échantillon dans une éprouvette (250ml) tenue inclinée, afin d'éviter la formation de mousse ;
- Remplir l'éprouvette jusqu'à ras bord de manière que l'échantillon déborde légèrement pour entraîner les traces de mousse qui pourrait gêner la lecture ;
- Plonger le **densimètre** dans l'échantillon en le retenant jusqu'au voisinage de l'équilibre ;
- Lire directement la température et la densité ;
- Si la température est inférieure ou supérieure à 20°C, il faut soustraire ou additionner respectivement le nombre de graduations qui séparent le niveau de la température correspondante à 20°C.

$$\text{Densité corrigée} = \text{densité lue} + 0,2 (\text{température du lait} - 20^{\circ}\text{C})$$



Figure N°17 A: la détermination de la densité (photo originale)

Source : Pointurier, (2003).

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la rhéologie ou la viscosité de produit donnée.

- Préparation de l'échantillon pour essai: 7 pots du petit suisse pour chaque une 30 gramme (avec le même volume d'eau)
- Verser doucement l'échantillon dans le récipient spécifique du viscosimètre, afin d'éviter la formation de mousse.
- Remplir ce dernier jusqu'à ras bord.
- Plonger le rotor (en commence toujours par 4 puis 5 et 3) dans l'échantillon en le retenant jusqu'au voisinage de l'équilibre.
- Lire directement la viscosité.



Figure N°18 A: la détermination de viscosité (photo originale)

Source : (RION visco-tester VT-03Fser.N°8481887).

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la conductivité de produit donnée, Elle est mesuré par conductimètre.

- ✓ Préparation de l'échantillon pour essai: un pote du petit-suisse du 30 gramme ;
- ✓ Régler la température de l'appareil a 20°C ;
- ✓ Introduire l'électrode dans le récipient contenant l'échantillon a 20°C ;
- ✓ Attendre la stabilisation du conductimètre pour effectuer la lecture.

2-Lecture

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du conductimètre.



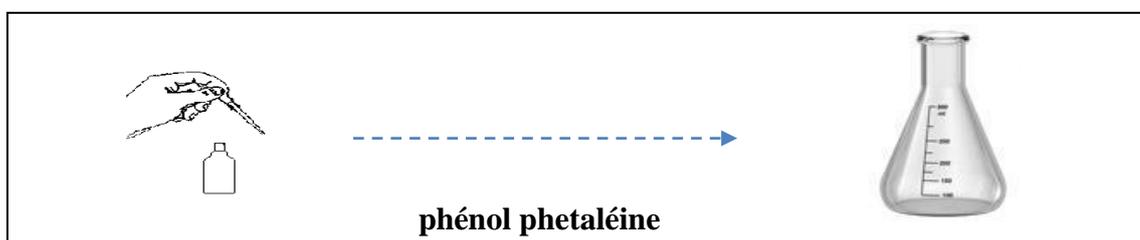
Figure N°19 A: la détermination de la conductivité (photo originale)

Source :Jacquinet,(2009).

1-Mode opératoire

Le lait présente une activité qui peut être déterminée et ceci s'effectue par le titrage de la soude (hydroxyde de sodium) en présence de la phénophtaléine.

- Préparation de l'échantillon pour essai : 10g de petit-suisse.
- Dans l'erlenmeyer on introduit 10 ml de lait et on y ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine.



- On titre par la solution de soude le contenu de l'erlenmeyer avec une agitation jusqu'à un virage rose pâle et on lit la valeur sur la burette.

3-Expression des résultats

$$\text{L acidité} = V_1 \times \quad \times \quad V_2 = V_1/V_2 \times 10$$

V₁: est le volume en ml de la prise d'essai d'hydroxyde de sodium 0.111N nécessaire

V₂: est le volume en ml de la prise d'essai.

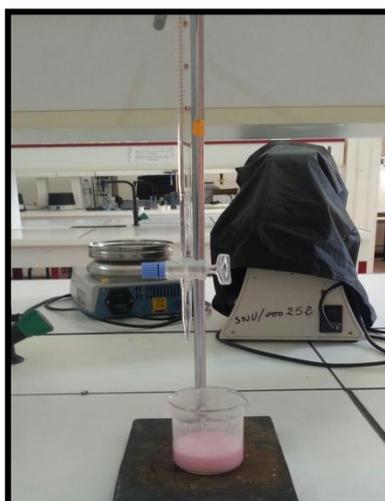


Figure N°20A : la détermination de l'acidité titrable (photo originale)

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la teneur de protéine dans un produit donné.

- verser un pot du petit-suisse dans un bécher, puis on l'ajoute le même volume d'eau distiller ;
- ajuster le pH à l'aide d'un HCL ou NaOH (0,1N) jusqu'à l'obtention de pH=4 ;
- peser les tubes à hémolyse vide ;
- après environ 4heures verser ce mélange dans les tubes à hémolyse, puis on les met dans la centrifugeuse :
- régler la centrifugeuse à 15000 (T/Min) pendant 15min ;
- Après l'arrêt de l'appareil, peser les tubes, puis éliminer la matière grasse situant en haut de tube ;
- puis peser les tubes à nouveau ; ensuite mettre ces tubes à l'étuve pour sécher le lactosérum ;
- peser les tubes à nouveau à l'aide d'un balance de précision.

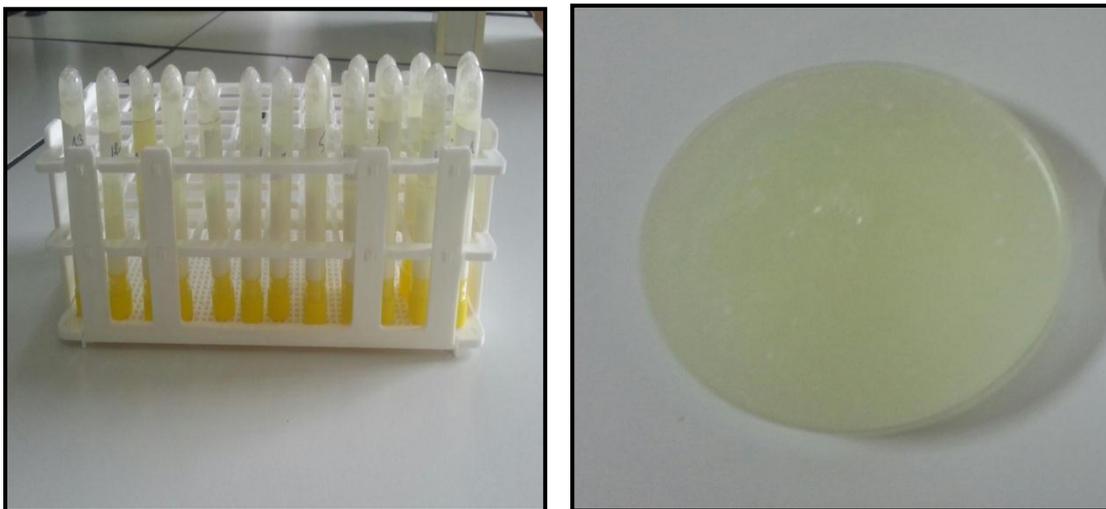


Figure N°21 A: la détermination de la protéine (photo originale)

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la teneur en matière grasse dans un produit donné.

- préparer l'échantillon pour l'analyse : un pot de petit-suisse avec le même volume d'eau distillée et le mettre à température 4°C ;
- verser l'échantillon dans les tubes à hémolyses ;
- régler la centrifugeuse à 3500T /min pendant 5min ;
- récupérer la matière grasse à l'aide dans petite spatule ;
- sécher les tubes pour éliminer le lactosérum ;
- peser la matière grasse à l'aide dans balance de précision.



Figure N°22 A:la détermination de la matière grasse (photo originale)

Source : Dubois M et., al

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la teneur en lactose dans un produit donné.

- À 1 ml de petit-suisse on ajoute 1 ml d'eau phénolée (5%) et 5 ml d'acide sulfurique ;
- L'ensemble est homogénéisé mécaniquement sur agitateur magnétique type(SELECTR) ; porté cinq minutes à ébullition ;
- L'absorbance est lue à 490 nm contre un témoin préparé avec de l'eau distillée ;

2-Lecture

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran de la spectrophotométrie.



Figure N°23 A: la détermination du lactose (photo originale).

➤ Un courbe étalon est réalisé à partir d'une solution mère contenant 1 g/l de lactose.

Par la préparation d'une solution fille du lactose 1g/l

C1 : 1g de lactose → 100 ml d'eau.

Et utilisé l'équation suivante :

$C1.V1=C2.V2$ $C1=1g /L$; $V1= ?$; $C2=0,25g/l$; $V2= 10ml$.

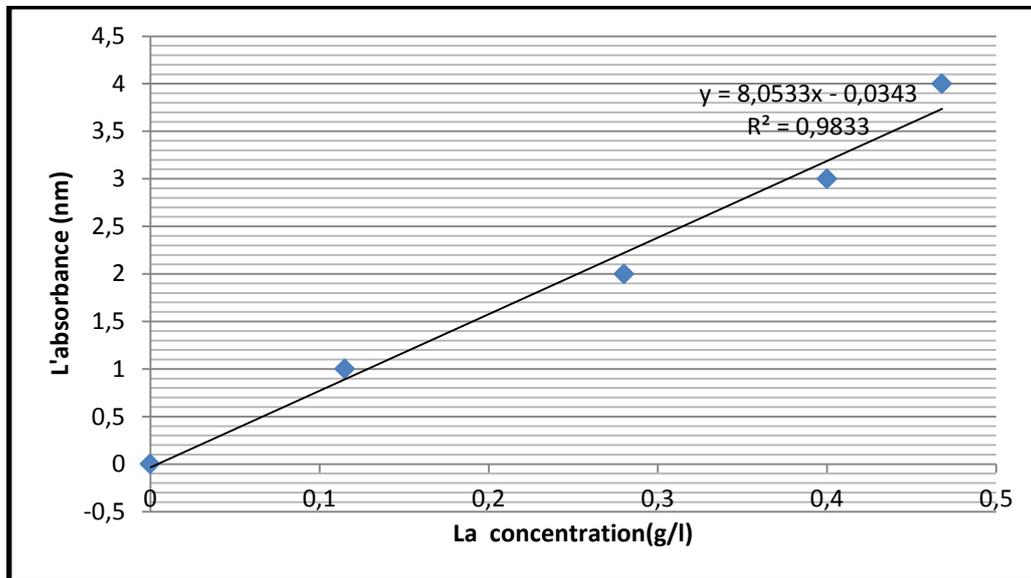


Figure N°24 A: l'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration.

Source : AFNOR, (1993)

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la synérèse dans un petit-suisse

Le mode opératoire de cette analyse :

- préparer l'échantillon pour l'analyse, un pot de petit-suisse ;
- ouvrir légèrement la couverture du pot et verser le lactosérum qui se situe à la surface dans une éprouvette graduée de 10 ml ;
- lire le volume de lactosérum en ml ou en pourcentage par l'utilisation l'équation suivante.

Exemple

$$\begin{array}{l} 30\text{g} \quad \longrightarrow \quad 100\% \\ 2\text{ml} \quad \longrightarrow \quad X \end{array}$$

$$X = \frac{2 \times 100}{30} = 6,66\% (\text{V/P})$$



Figure N°25 A: la détermination de la synérèse (photo originale)

1-Mode opératoire

Il s'agit de déterminer les granules dans un produit donné.

- préparer l'échantillon pour l'analyse, un pot de petit-suisse avec le même volume d'eau ;
- mélanger bien ce dernier manuellement ;
- prélever 5ml de l'échantillon et étaler ce volume sur une partie de bois de mesure 10/10 ;
- compter les granules selon « petite, moyen et grande ».

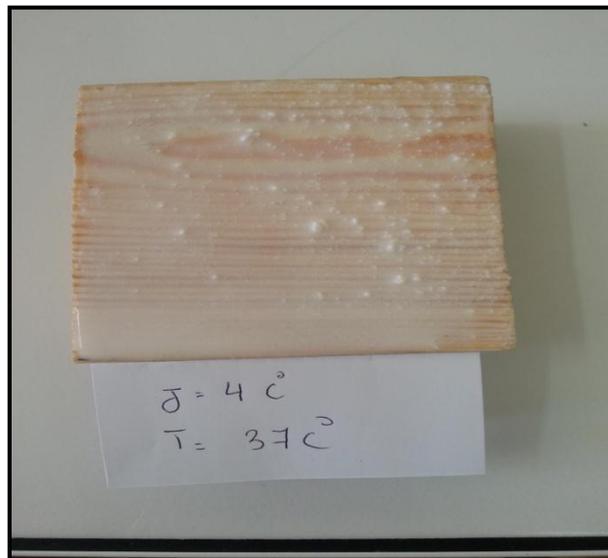


Figure N°26 A : la détermination de la synérèse (photo originale)

Source : Guillemain et al., (2006)